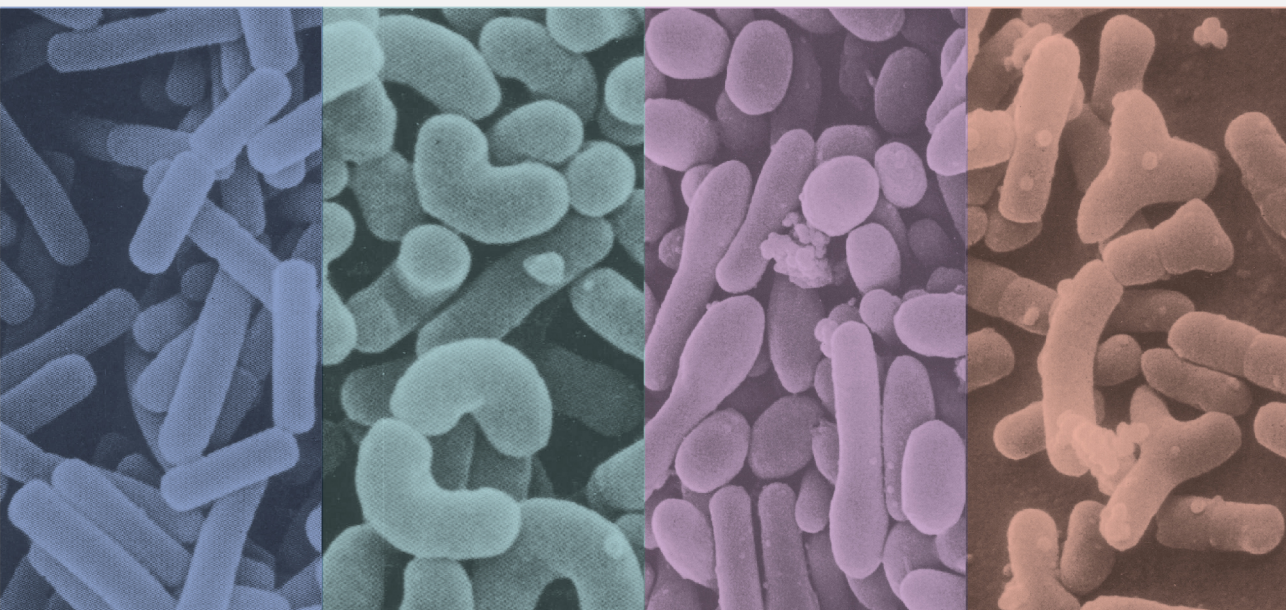


COLECCIÓN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

La microbiota humana

¿Qué es y para qué está?



Jorge Reinheimer
editor

ediciones UNL



La microbiota humana

La microbiota humana

¿Qué es y para qué está?

Jorge Reinheimer

Editor

Leonardo Albarracín

Elisa Ale

Silvia Arboleya

Ana Binetti

Patricia Burns

Ma. Carmen Collado

Juan G. Costa

Mariano Elean

Luciana Gerez

Miguel Gueimonde

Emilia Hick

Melisa Puntillo

Jorge Reinheimer

Juan M. Rodríguez Gómez

Julio Villena

Gabriel Vinderola

Ma. Florencia Zacarías

ediciones UNL

CIENCIA Y TECNOLOGÍA

**UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL LITORAL**

 **ediciones UNL**

Consejo Asesor
Colección Ciencia y Tecnología
Laura Cornaglia
Miguel Irigoyen
Luis Quevedo
Alejandro Reyna
Amorina Sánchez
Ivana Tosti
Alejandro Trombert

Dirección editorial
Ivana Tosti
Coordinación editorial
María Alejandra Sadrán
Coordinación comercial
José Díaz

Corrección
Laura Prati
Diagramación interior y tapa
Verónica Rainaudó

© Ediciones UNL, 2024.

Sugerencias y comentarios
editorial@unl.edu.ar
www.unl.edu.ar/editorial

La microbiota humana : ¿qué es y para qué
está? / Leonardo Albarracín ... [et al.] ;
Editado por Jorge Reinheimer. - 1a ed -
Santa Fe : Ediciones UNL, 2024.
Libro digital, PDF/A - (Ciencia y tecnología)

Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-749-480-8

1. Química. 2. Lácteos. 3. Biología.
I. Albarracín, Leonardo
II. Reinheimer, Jorge, ed.
CDD 547.001

© Leonardo Albarracín, Elisa Ale,
Silvia Arbolea, Ana Binetti,
Patricia Burns, Ma. Carmen Collado,
Juan G. Costa, Mariano Elean,
Luciana Gerez, Miguel Gueimonde,
Emilia Hick, Melisa Puntillo,
Jorge A. Reinheimer, Juan M. Rodríguez
Gómez, Julio Villena, Gabriel Vinderola,
Ma. Florencia Zacarías, 2024.

Revisión de textos: **María Sol Ortiz**



Índice

Prólogo. Lo invisible ¿puede no ser tan invisible? / 13

Jorge Reinheimer

Prefacio / 15

Capítulo 1. La flora intestinal, la punta del iceberg de la microbiota humana / 17

Gabriel Vinderola

Referencias bibliográficas / 22

Capítulo 2. La microbiota intestinal / 23

Miguel Gueimonde, Ma. Carmen Collado y Silvia Arboleya

La microbiota intestinal: composición y función / 23

Microbiota intestinal en la infancia / 25

 Edad gestacional / 27

 Tipo de parto / 28

 Tipo de lactancia / 29

 Destete y alimentación complementaria / 31

 Ambiente familiar / 32

 Transición a la microbiota adulta / 32

Microbiota en la edad adulta / 33

 Microbiota intestinal durante el embarazo,
 lactancia y menopausia / 34

 Microbiota intestinal en la tercera edad / 36

Referencias bibliográficas / 40

**Capítulo 3. La microbiota intestinal y su efecto
en el tracto respiratorio: el eje intestino-pulmón / 47**

Julio Villena y Mariano Elean

- El tracto respiratorio: generalidades, estructura y funciones / 47
- Las respuestas inmunológicas en el tracto respiratorio / 51
- Efecto de la microbiota intestinal sobre la inmunidad respiratoria / 54
- Probióticos con efectos beneficiosos en la salud respiratoria / 59
 - Microorganismos de la microbiota intestinal como potenciadores de las defensas respiratorias / 59
 - Microorganismos de alimentos como potenciadores de las defensas respiratorias / 61
- Conclusiones / 63
- Referencias bibliográficas / 64

**Capítulo 4. La microbiota del tracto respiratorio
y las bacterias comensales respiratorias
como probióticos de nueva generación / 69**

Julio Villena, Mariano Elean y Leonardo Albarracín

- La microbiota respiratoria en individuos sanos / 69
- Establecimiento de la microbiota respiratoria / 74
- Disbiosis de la microbiota y enfermedades respiratorias / 77
- La microbiota respiratoria en el asma / 77
- La microbiota respiratoria en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica / 80
- La microbiota respiratoria en las infecciones / 81
- Bacterias comensales respiratorias como probióticos de nueva generación / 84
- Conclusiones y perspectivas / 88
- Referencias bibliográficas / 88

Capítulo 5. La microbiota oral / 95

Ma. Florencia Zacarías y Juan G. Costa

- Origen y evolución de la microbiota oral humana / 95
- Composición de la microbiota oral / 99
 - Microbiota bucal central / 100
 - Nichos bucales / 100
- Biopelículas microbianas orales / 103

- Factores que intervienen en el equilibrio entre salud y enfermedad / 105
 - Caries / 107
 - Enfermedades gingivales y periodontales / 108
 - Halitosis / 109
 - Enfermedades de las mucosas / 109
 - Cáncer oral / 110
 - Periimplantitis / 110
 - Microbiota oral y enfermedades sistémicas / 110
- Acción metabólica de la microbiota bucal / 111
 - Metabolismo bacteriano en placa supragingival y caries dental / 112
 - Metabolismo bacteriano en placa subgingival y enfermedad periodontal / 113
 - Metabolismo bacteriano sobre la lengua / 113
 - Otras funciones de la actividad metabólica oral sobre la salud / 114
- Uso de probióticos como estrategia para corregir la disbiosis oral / 114
 - Caries / 115
 - Enfermedad periodontal / 116
 - Halitosis / 118
 - Candidiasis oral / 119
 - Úlceras, mucositis oral y cirugías / 120
- Algunos desarrollos comerciales a partir de cepas aisladas de la microbiota oral / 121
- Referencias bibliográficas / 122

Capítulo 6. La microbiota gástrica / 127

Jorge Reinheimer

- La microbiota gástrica / 127
 - Microecología gástrica / 127
 - Factores que afectan a la microbiota gástrica / 129
 - Helicobacter pylori*: el gran intruso / 130
 - Microecología gástrica e infección por *H. pylori* / 130
 - Helicobacter pylori* y cáncer gástrico / 135
 - Microbiota gástrica y cáncer gástrico / 137
 - Eradicación de *H.pylori* / 140
 - Terapia de erradicación / 140
 - Referencias bibliográficas / 143

Capítulo 7. La microbiota del ecosistema

mamario humano / 145

Juan M. Rodríguez y Ma. Florencia Zacarías

- Introducción: la leche humana no es estéril / 145
- Composición de la microbiota de la leche humana / 146
- Transferencia de microorganismos madre-hijo a través de la leche humana y posibles funciones / 149
- Origen de la microbiota de la leche humana / 151
- Disbiosis mamaria: de la fisiología a la mastitis de la lactancia y viceversa / 153
- Desarrollo de probióticos a partir de cepas aisladas de leche humana / 155
- Referencias bibliográficas / 159

Capítulo 8. La microbiota vaginal / 165

Patricia Burns y Emilia Hick

- Composición de la microbiota vaginal / 166
 - Variaciones fisiológicas y del pH a lo largo de la vida / 166
 - Predominio de lactobacilos y su rol en la salud vaginal / 168
- La microbiota vaginal como hábitat de microorganismos probióticos / 170
 - Lactobacilos vaginales: potenciales probióticos y fuente de posbióticos / 171
 - Lactobacilos como estrategia preventiva y terapéutica / 172
- Investigaciones vigentes relativas a la microbiota vaginal y sus aplicaciones / 173
- Productos comerciales con lactobacilos vaginales / 175
- Conclusiones / 176
- Referencias bibliográficas / 177

Capítulo 9. La microbiota de la piel / 181

Luciana Gerez, Melisa Puntillo, Elisa Ale,

Ana Binetti y Julio Villena

- Piel: generalidades, estructura, funciones / 182
- El sistema inmunológico de la piel / 184
- Microbiota de piel y sus modificaciones durante el desarrollo humano / 186

El papel de la microbiota de la piel
en las enfermedades infecciosas / 192
Enfermedades de la piel y microbiota / 194
 Dermatitis atópica / 194
 Psoriasis / 196
 Carcinoma / 198
La salud de la piel y la microbiota intestinal (vía intestino–piel) / 201
Proyecciones del conocimiento de la microbiota cutánea
y su implicancia en salud / 204
Conclusiones / 205
Referencias bibliográficas / 206

Capítulo 10. Probióticos: de la microbiota humana al consumidor / 215

Juan M. Rodríguez

Introducción / 215
Identificación de los microorganismos probióticos / 217
Seguridad de la cepa / 218
 Patogenicidad / 219
 Producción de metabolitos indeseables
 y alteración del metabolismo / 219
 Resistencia a antibióticos / 221
 Efectos negativos sobre el sistema inmunitario / 221
 Seguridad de los excipientes y componentes no microbianos
 de los probióticos / 222
Funcionalidad / 222
Aspectos tecnológicos / 225
Aspectos comerciales / 228
El problema del «paraguas probiótico» / 229
Referencias bibliográficas / 230

Capítulo 11. ¿Y los virus? Su interacción con la microbiota humana / 233

Jorge Reinheimer

Virus y fagos / 233
Viroma humano/viroma intestinal / 238
 Viroma intestinal y edad, en individuos sanos / 242
 Infantes / 242
 Adultos / 243

Viroma intestinal en individuos con enfermedades
gastrointestinales y otras / 245
Fago terapia / 247
COVID-19. Su influencia en la microbiota
y viroma intestinal / 249
Viroma de la piel / 251
Referencias bibliográficas / 253

Sobre el editor general / 256

Sobre las autoras y los autores / 256

Prólogo

Lo invisible ¿puede no ser tan invisible?

El término «invisible» puede tener varias acepciones que indican diferentes transcendencias.

En los últimos 10 años se produjo un cambio extraordinario en cuanto a cómo nos debemos percibir como seres vivos. Ya no somos organismos eucariotes puros (¿superiores?) sino una asociación extraordinaria con microorganismos que colonizaron nuestro cuerpo a partir del nacimiento, los cuales nos acompañarán toda la vida y ejercen una esencial influencia en nuestra salud. Visto que en nuestro cuerpo hay más células microbianas que células eucariotas (por lo menos 10 veces más), la biología destinó el término «holobionte» para caracterizarnos como seres vivos.

Estos cambios de conceptos aluden a las poblaciones microbianas enormemente diversas en cada «región geográfica» del cuerpo humano y su incidencia en la salud. Decir que esta depende de varias cosas es obvio, pero que depende fuertemente, también, de cuales microorganismos conviven con nosotros no es poca cosa. No son precisamente un adorno.

Está claro que los microorganismos son invisibles en cuanto a que sin un microscopio no podemos verlos, pero deberíamos considerarlos así puesto que nos pueblan por dentro y por fuera, constituyen lo que ahora se conoce como «órgano difuso» (ganamos un órgano) y, sobre todo, se manifiestan a través de la salud corporal y, por qué no, ¿mental? Sabiendo que solo en nuestro intestino se calcula que hay más de 10^{14} microorganismos (mayormente bacterias), es imposible pensar que están para nada, y su balance o desbalance están asociados a nuestra salud o a la falta de ella, por lo que sería irresponsable negarlos. La microbiota desbalanceada (mayoría de microorganismos perjudiciales) se puede modular incorporando bacterias benéficas para darles protagonismo, y en este sentido se está trabajando de modo intenso en el mundo para desarrollar alimentos y suplementos medicinales a partir de cier-

tos microorganismos aislados, precisamente, del cuerpo humano. Es decir, el cuerpo humano es una fuente de organismos invisibles (?) que pueden hacer-nos sentir mejor.

Este libro pretende mostrarnos cómo realmente somos y que ello es debido a que convivimos con bacterias (también virus) que tomaron nuestro cuerpo como un nicho ecológico más que adecuado para vivir. Pretende juntar el conocimiento que existe sobre cada región del cuerpo, mostrarlo de una manera clara y explicar así algo asombrosamente complicado, un desafío que vale la pena tomar. Esperamos crear el interés que merece el tema.

JORGE REINHEIMER

Prefacio

Históricamente, se consideró al hombre (*Homo sapiens sapiens*) como un ser eucariote. En la actualidad, debemos asumirnos como una asociación compleja entre células eucariotas humanas y microorganismos, cuya existencia disociada sería inviable. Somos «holobionte» (*holo*–todo, *bios*–vida), un organismo multicelular complejo.

Estamos tapizados por fuera (la piel, la superficie de los ojos) y por dentro (las mucosas) por microbios, fundamentalmente bacterias. Hay más células bacterianas en nuestro cuerpo que células eucariotas que lo constituyen.

La relación entre humanos y microbios es de «amor–odio», ya que algunos microorganismos causan infecciones y otros mejoran la salud. Los humanos brindan un hábitat (cuerpo) y la mayoría de los microorganismos devuelve el favor de diferentes maneras (proveen nutrientes a partir de lo que no se digiere, defienden contra infecciones de patógenos, estimulan el sistema inmunológico, etcétera).

El conocimiento sobre la naturaleza de los microorganismos presentes en el exterior e interior de nuestro cuerpo aumentó vertiginosamente gracias a nuevas metodologías que permiten determinarlos con precisión y al revelarse su influencia en la salud del hombre. Visto que la microbiota humana puede desequilibrarse por diversos factores, lo cual incide en nuestra salud de una u otra forma, y que la misma puede modularse para tratar de corregir esta situación, surgen desarrollos de alimentos y medicamentos que trabajan en este sentido. Estos desarrollos por lo general se diseñan a partir de microorganismos (normalmente bacterias) benéficos aislados de nuestro propio cuerpo.

Es difícil, sino imposible, encontrar una obra que describa a todos los microorganismos asociados al cuerpo. Existen antecedentes que se remiten a «regiones corporales» aisladas, pero falta un panorama global, y creemos que la presente propuesta tiende a cubrir el objetivo de mostrarlo. En nombre de los autores, se piensa que el libro será un aporte significativo para todos los investigadores, alumnos y profesionales interesados en la temática.

Capítulo 1

La flora intestinal, la punta del *iceberg* de la microbiota humana

Gabriel Vinderola

Nosotros, los humanos u *Homo sapiens sapiens* circulamos en el planeta Tierra desde hace unos 200 a 300 mil años. Las plantas empezaron a crecer hace unos 500 a 700 millones de años. Los enormes dinosaurios aparecieron hace más o menos unos 200 millones de años y se extinguieron hace unos 65 millones de años. Las bacterias fueron testigo de todo. Si alguien hubiera llegado a la tierra hace unos 3 mil millones de años, no hubiera visto ni hombres, ni animales, ni plantas ni dinosaurios, pero si hubiera tenido un microscopio y hubiera observado un poco de suelo o una gota de agua, seguramente hubiera visto bacterias. «Lo esencial es invisible a los ojos», palabras que puso Antoine de Saint-Exupéry en boca de *El Principito*. Hoy podemos decir que «Lo esencial es invisible a los ojos... pero no al microscopio». Los microorganismos de los cuales vamos a hablar a lo largo de este libro son invisibles a los ojos, visibles al microscopio y esenciales para la vida, incluso para la evolución que nos trajo hasta acá. Tan esenciales que parecería ser que fueron el origen de todo ser vivo que vino después. La Teoría de la Endosimbiosis propone que la primera célula eucariota de la tierra (nuestro cuerpo, las plantas, nuestras mascotas están compuestos por células eucariotas), aquella célula de la que provenimos todos los animales y las plantas se formó mediante la fusión de tres bacterias (Roughgarden, 2023). Una de esas bacterias aportó «los andamios», es decir, la estructura que funciona como caparazón dentro del cual todo sucede, otra bacteria aportó algunas capacidades metabólicas, es decir, el paquete de reacciones químicas para que la célula funcione. Esta célula así formada funcionó durante millones de años en un mundo sin oxígeno. La tercera bacteria se habría integrado varios millones de años más tarde a las otras dos primeras ya fusionadas, y se convirtió en las actuales mitocondrias, que son pequeños órganos de nuestras células donde se produce la energía que necesitamos para vivir, a partir de la utilización del oxígeno. Esa célula eucariota primogénita empezó a proliferar, a crecer, a multiplicarse, y una de sus descendientes sufrió aún otra experiencia traumática: se tragó a una bacteria fotosintética, una bacteria que podía utilizar la luz del sol para hacer fotosíntesis, y de ahí es que provienen los actuales cloroplastos, que son los órganos

que tienen las plantas para realizar la fotosíntesis. En síntesis, las células de nuestro cuerpo, de las plantas que tenemos en casa y de las mascotas que nos entretienen, se originaron hace millones de años como un «guiso» de bacterias que tenían diferentes especialidades.

Las bacterias esperaron pacientemente durante millones de años que algo apareciera en la tierra para poder colonizarlo, algo a quien darle forma, función, crear una simbiosis. Y esto lo siguen haciendo. Apenas nacemos hay un mar de bacterias esperando por nosotros en la vagina de mamá, en el pecho donde nos apoyan, en los besos que nos dan, y en la leche materna. Incluso el primer lengüetazo que nos da el perro que tenemos como mascota en casa, nos regala también bacterias que, aunque *a priori* parecería desagradable, hoy se sabe que criarnos con mascotas disminuye el riesgo de tener alergias y asma infantil (Jeong, 2022). Incluso la práctica de chupar el chupete y dárselo al bebé, en vez de hervirlo, lavarlo o enjuagarlo con un antiséptico, disminuye significativamente el riesgo de desarrollar alergias (Hesselmar y col., 2013).

A lo largo de la historia de la evolución las bacterias le han dado la bienvenida, y la despedida, a todo ser vivo que pasó por este planeta. Los microbios en general, y ya no hablamos solo de bacterias, sino también de levaduras, mohos, virus y arqueas, han sido, son, y serán nuestros huéspedes de lujo. Reciben al invitado, lo acompañan durante toda su vida, lo despiden e incluso se encargan de devolvernos, junto a los gusanos, al medio ambiente en forma de nutrientes para las generaciones que vendrán. No somos ni más ni menos que complejos conglomerados de pequeñas moléculas formadas por elementos químicos como el carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno, calcio y fósforo que constituyen el 99 % de nuestro cuerpo, más otros minoritarios, pero no por eso menos importantes, como el potasio, azufre, sodio, cloro y magnesio. Somos un pedazo andante de aquella Tabla Periódica de los Elementos que seguramente estudiamos en la escuela. Los microorganismos y las plantas se encargan en gran parte de ponerlos en forma de las sustancias que necesitamos para constituirnos los seres humanos que somos (Jaffe y col., 2023).

En 2009 el historiador y comunicador de la ciencia Christopher Lloyd publicó su libro *What on Earth Evolved?: 100 Species That Changed the World*, un libro que hace un ranking de las especies que más contribuyeron a la evolución del mundo. Los gusanos están en primer lugar. El por qué hay que ir a buscarlo en la función que ellos tienen en la cadena alimentaria: son a la vez el último y el primer escalón. Los gusanos se encargan de degradar a todo ser que alguna vez estuvo vivo, a descomponerlo en sus sustancias más elementales, y así devolver a la tierra los restos de plantas, de animales, de insectos,

de humanos... y así dejar a las moléculas más sencillas y a los elementos químicos para que estos vuelvan a ser parte de animales, plantas, insectos y de los humanos que vendrán. Los gusanos mantienen girando la rueda de la evolución. Particularmente los lactobacilos están en el quinto lugar de este ranking.

Al primer lactobacilo lo describió un holandés llamado Martinus Willem Beijerinck en 1901. Hacia 2015 había 265 especies de *Lactobacillus*. Nombramos solo algunos: *Lactobacillus bulgaricus*, una de las dos bacterias con las que se hace el yogur, *Lactobacillus helveticus*, responsable del sabor y aroma de los riquísimos quesos italianos tipo Parmigiano Reggiano, *Lactobacillus fermentum*, el que fermenta a la semilla del cacao para que el chocolate tenga el sabor que tiene, *Lactobacillus brevis*, el que arruina las cervezas cuando se ponen ácidas, *Lactobacillus crispatus*, característico de una vagina saludable, *Lactobacillus plantarum*, el primer lactobacilo encontrado en la leche materna en 2003 o *Lactobacillus casei*, un lactobacilo utilizado como probiótico en una leche fermentada desarrollada en Japón en el año 1935 por el Dr. Shirota y que aún se comercializa en varios lugares del mundo. En Argentina una dupla de lactobacilos formada por una cepa de *Lactobacillus casei* y una de *Lactobacillus acidophilus* le daban vida en los años 90 a la famosa leche SanCor Bio. Es importante nombrar que en 2020 el género *Lactobacillus* fue dividido en 25 nuevos géneros y algunas especies muy conocidas cambiaron de nombre, por ejemplo, *Lactobacillus casei* pasó a llamarse *Lactocaseibacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* cambió a *Lactocaseibacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* a *Lactiplantibacillus plantarum*, y *Lactobacillus reuteri* pasó a llamarse *Limosilactobacillus reuteri* (Zheng y col., 2020).

Al momento de nacer, hay millones de bacterias que nos esperan para colonizarnos, para cubrirnos por fuera y por dentro, para constituir lo que llamamos la microbiota humana. Por fuera tenemos microorganismos en toda la piel, incluso sobre los ojos, sobre todo en nuestras manos. Por dentro tenemos microorganismos en la boca, en el esófago, en el estómago, en los intestinos, en la vagina y en el pene, en el útero, en la tráquea y los pulmones. Incluso durante la lactancia, la madre tiene bacterias en la glándula mamaria y en la leche materna, o mejor llamada, leche humana (Milani y col., 2017).

Los primeros microorganismos con los que nos encontramos masivamente al nacer son los lactobacilos. Estas bacterias benéficas nos esperan en la vagina de mamá para cubrirnos mientras atravesamos el canal de parto, y de ahí pasan a nuestro intestino para empezar a trabajar y preparar el terreno para que muchos otros microorganismos lleguen y se instalen ahí. Si nacemos por

cesárea la colonización es diferente, y las consecuencias para la salud probablemente también, ya que la cesárea se asocia en el desarrollo de enfermedades crónicas como alergias, diabetes o enfermedades inflamatorias. Los microorganismos que adquirimos en los primeros años de vida son claves para la programación del sistema inmunológico y el desarrollo de la tolerancia oral (Turroni y col., 2020). Tan esenciales son para nosotros nuestros microorganismos que la vida sin ellos sería muy complicada, o muy amenazante. Recordemos el caso de David Vetter que nació en 1971 en Texas, Estados Unidos, con una rara enfermedad autoinmune llamada el Síndrome de Inmunodeficiencia Combinada Severa. Sin la defensa natural del organismo, cualquier leve enfermedad, como una gripe, podía matarlo. Los microorganismos que nos colonizan educan y mantienen andando a nuestro sistema inmunológico, pero si nuestro sistema inmunológico no funciona bien, cualquier infección puede llevarnos a la muerte. Para salvarlo, los médicos decidieron aislarlo dentro de una burbuja de plástico, donde vivió por tan solo 12 años. David debía aislarse de los microorganismos del mundo, que para nosotros son nuestros aliados pero que para David eran una amenaza.

Por mucho tiempo la «flora intestinal» fue un órgano olvidado, poco atendido, poco entendido, poco estudiado. Por mucho tiempo convivimos con una vaga idea que teníamos una flora intestinal, una comunidad de bacterias en el intestino, que sabíamos que la fibra de los alimentos les hacía bastante bien, pero no sabíamos por qué, ni mucho menos que hacían ellas ahí por nosotros. Los últimos 20 años fueron una verdadera revolución en el estudio de la flora intestinal, hoy llamada más correctamente «microbiota intestinal». Microbiota viene de la palabra «microbios». La microbiota intestinal es el conjunto, el ecosistema, de microorganismos que habitan en nuestro tracto intestinal y está compuesto no solo por bacterias, sino que también hay levaduras, mohos, arqueas (una especie de bacterias «prehistóricas») y parásitos.

La microbiota vive en simbiosis con nosotros. Si la cuidamos, nos da salud, si la desatendemos, poco a poco nos quita esa salud; poco a poco, como se desarrollan las enfermedades crónicas como la diabetes, las enfermedades cardiovasculares e incluso las enfermedades mentales. ¿Que está primero, el huevo o la gallina? ¿Qué sucede primero? ¿una microbiota que se enferma y que entonces nos produce una enfermedad o una enfermedad que adquirimos y que afecta a nuestra microbiota? Es probable que lo que sucede primero son cambios en la microbiota por factores varios como la forma en que nacemos (vaginal o cesárea), la cantidad de leche materna que hayamos consumido, la administración de antibióticos y otros medicamentos, la alimentación, la actividad física, el descanso y el estrés, entre otros factores (Chang y Kao, 2019).

¿De dónde vienen tantos microorganismos? Tantos que superan por casi diez veces la cantidad de células humanas. Estamos constituidos por cerca un 90 % de microorganismos, por eso pasamos de llamarnos «humanos» a «holobiontes» el nuevo término que se usa para referirnos al enorme ecosistema que somos de microorganismos y células humanas. Los cromosomas que nos heredan mamá y papá aportan un poco menos de 23 000 genes. Nuestros microorganismos nos aportan más de 3 millones de genes. Gran parte de nuestro metabolismo está en manos de las rutas metabólicas microbianas que hospedamos (Milani y col., 2017).

La vagina y el útero están colonizados por bacterias. Antes de fecundarlo, el espermatozoide se tuvo que abrir paso en un «mar microbiano» hasta encontrar al óvulo. Esta selección de cual espermatozoide llega al óvulo podría estar condicionada por el ambiente microbiano local. Esta nueva mirada hace que la infertilidad se la comience a tratar considerando también a la microbiota (Vitale y col., 2022).

La alimentación modula a la microbiota. La leche humana contribuye con la microbiota del bebé como ninguna fórmula infantil lo podría hacer. Los requerimientos nutricionales de la microbiota se satisfacen a partir de la leche humana, a través de los denominados oligosacáridos de leche humana. Cuando comienza la alimentación complementaria y durante toda la vida, la fibra de los alimentos es el alimento de la microbiota, y esta se encuentra en cantidades significativas y funcionales en legumbres, verduras, frutas, frutos secos, cereales integrales, pero también en los alimentos fermentados como el yogur, el kéfir, la kombucha, el chucrut o el kimchi, porque estos alimentos aportan microorganismos vivos que se van a acoplar temporalmente con los de la microbiota para el correcto funcionamiento de nuestro intestino (Leeuwendaal y col., 2022). Si el intestino funciona bien, todo nuestro organismo funciona bien, porque todos nuestros órganos están interconectados. El intestino se comunica con el cerebro, con la piel y con los músculos, entre otros sistemas. Los alimentos son procesados por la microbiota y generan señales químicas que son llevados por las neuronas del intestino al cerebro, en una vida de ida y vuelta. Las emociones, las preocupaciones, el estrés, pueden viajar como señales químicas y transformarse en el intestino en señales que desencadenan constipación o diarrea, inflamación o distensión, agravando así enfermedades intestinales (Cryan y col., 2019).

En los últimos años la microbiota se ha redescubierto como un órgano metabólico, un órgano que necesita nutrientes (oligosacáridos de leche humana, fibras, polifenoles), que genera metabolitos (ácidos grasos de cadena corta, vitaminas, neurotransmisores). Un órgano continuo a lo largo de todo

nuestro cuerpo, un órgano invisible y heredable, modulable a través de la alimentación. Un órgano que necesitamos conocer para saber cuidar y obtener y mantener salud.

Referencias bibliográficas

- Chang, C. S. & Kao, C. Y.** (2019). Current understanding of the gut microbiota shaping mechanisms. *Journal of Biomedical Science*, 26(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0554-5>
- Cryan, J. F., O’Riordan, K. J. (...) & Dinan, T. G.** (2019). The microbiota-gut-brain axis. *Physiological reviews*, 99(4), 1877–2013. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2018>
- Hesselmar, B., Sjöberg, F. (...) & Wold, A. E.** (2013). Pacifier cleaning practices and risk of allergy development. *Pediatrics*, 131(6), e1829–e1837. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-3345>
- Jaffe, A. L., Castelle, C. J. & Banfield, J. F.** (2023). Habitat transition in the evolution of bacteria and archaea. *Annual Review of Microbiology*, 10.1146/annurev-micro-041320-032304. Advance online publication. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-041320-032304>
- Jeong S.** (2022). Factors influencing development of the infant microbiota: from prenatal period to early infancy. *Clinical and Experimental Pediatrics*, 65(9), 439–447. <https://doi.org/10.3345/cep.2021.00955>
- Leeuwendaal, N.K., Stanton, C. (...) & Beresford, T.P.** (2022). Fermented foods, health and the gut microbiome. *Nutrients*, 14(7), 1527. 10.3390/nu14071527. PMID: 35406140; PMCID: PMC9003261.
- Milani, C., Duranti, S. (...) & Ventura, M.** (2017). The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81(4), e00036-17. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>
- Roughgarden J.** (2023). Holobiont evolution: population theory for the hologenome. *The American Naturalist*, 201(6), 763–778. <https://doi.org/10.1086/723782>
- Turroni, F., Milani, C. (...) & Ventura, M.** (2020). The infant gut microbiome as a microbial organ influencing host well-being. *Italian Journal of Pediatrics*, 46(1), 16. <https://doi.org/10.1186/s13052-020-0781-0>
- Vitale, S.G., Ferrari, F. (...) & Cianci, S.** (2021). The role of genital tract microbiome in fertility: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1):180. 10.3390/ijms23010180. PMID: 35008605; PMCID: PMC8745627.
- Zheng, J., Wittouck, S. (...) & Lebeer, S.** (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(4), 2782–2858. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004107>

Capítulo 2

La microbiota intestinal

Miguel Gueimonde, Ma. Carmen Collado y Silvia Arboleya

La microbiota intestinal: composición y función

La microbiota humana es el conjunto de microorganismos comensales que colonizan nuestro cuerpo, incluyendo bacterias, arqueas y eucariotas unicelulares. La población microbiana más numerosa de nuestro organismo se encuentra en el intestino, particularmente en el colon que es la zona más densamente poblada, donde alcanza un contenido de aproximadamente 10^{14} células microbianas (Hooper y Gordon, 2001). No obstante, es importante señalar que la comunidad microbiana intestinal está compuesta por cientos de especies diferentes que varían en prevalencia y abundancia a lo largo del tracto gastrointestinal, con una población más escasa en zonas de condiciones ambientales muy restrictivas, como el estómago (10^3 - 10^5 células microbianas por gramo de contenido) y mayores densidades microbianas en zonas más favorables como el colon (10^{11} - 10^{12} células microbianas/g de contenido). Estos microorganismos desempeñan papeles esenciales en la fisiología humana, incluyendo actividades metabólicas e inmunológicas (Rutayisire y col., 2016). Al conjunto de genes que porta la microbiota se le conoce como «metagenoma». Estos genes codifican múltiples funciones, algunas de las cuales influyen de manera significativa sobre la salud del hospedador. Pese a que los términos «microbiota» y «microbioma» se han utilizado indistintamente, el primero se refiere a los taxones microbianos presentes en un ecosistema mientras que el segundo incluye también el entero espectro de moléculas producido por los microorganismos, incluyendo elementos estructurales (proteínas, polisacáridos), metabolitos (toxinas, etc) y elementos genéticos móviles (fagos, virus y DNA libre).

Pese a que la mayor parte de los estudios se han centrado en el intestino, todos los potenciales nichos ecológicos presentes en nuestro organismo, como intestino, vagina, cavidad oral, vías respiratorias, piel, etc., albergan comunidades microbianas que han co-evolucionado con los seres humanos. Aunque se ha descrito con más detalle la microbiota intestinal, las poblaciones bacterianas en otras partes del cuerpo también desempeñan un papel crucial en la

preservación de la salud. Por ejemplo, la microbiota vaginal regula el pH y la producción de especies reactivas de oxígeno, y se han asociado diversos mecanismos de homeostasis de la piel con la microbiota cutánea (Gough y col., 2022; Lan y Chen, 2023). Por esta razón una correcta composición y funcionalidad de la microbiota es esencial para mantener un estado saludable a lo largo de la vida. Esto ha despertado el interés por el desarrollo de estrategias para la modulación de la microbiota, como pueden ser los probióticos, los prebióticos o los postbióticos, discutidos en otros capítulos de este libro.

Además de los efectos derivados de su propia composición, la microbiota intestinal va a encargarse de la fermentación de compuestos no digeridos y, como consecuencia, va a producir metabolitos, como algunas vitaminas o los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que son los principales productos metabólicos de la microbiota, que serán utilizados por el hospedador. De entre los AGCC, acetato, propionato y butirato, productos de la fermentación de carbohidratos y proteínas no digeribles en el colon, son los metabolitos más abundantes. Estos compuestos afectan la fisiología del colon, contribuyen a dar forma al entorno microbiano intestinal, sirven como fuente de energía para las células del hospedador influyen en el metabolismo y la fisiología de este (Rios-Covian y col., 2016; Rios-Covian y col., 2020).

Desde el punto de vista tecnológico, en las últimas dos décadas, la aparición de técnicas independientes del cultivo, particularmente el desarrollo y la accesibilidad económica a la secuenciación masiva del ADN y, en general, las tecnologías ómicas (metatranscriptómica, metaproteómica y metabolómica), han posibilitado el estudio y comprensión de la composición y capacidad funcional de la microbiota a un nivel sin precedentes. Los últimos avances científicos han demostrado que la microbiota está fuertemente influenciada por la dieta y la edad, mientras que algunos aspectos importantes de su funcionalidad aún permanecen desconocidos. Se han realizado estudios para describir la estructura y diversidad de la microbiota con el fin de comprender su influencia en la salud y la enfermedad humana. De los microbios identificados, los filos *Pseudomonadota*, *Bacillota*, *Actinomycetota* y *Bacteroidota* representan aproximadamente el 95 % de todas las especies, con un 20 % de ellos siendo estrictamente anaerobios. Curiosamente, mientras que dos de estos filos (*Bacillota* y *Bacteroidota*) son los numéricamente dominantes en la microbiota humana adulta, los otros dos (*Pseudomonadota* y *Actinomycetota*) lo son en la microbiota infantil (Salazar y col., 2014). Esto sugiere una transición microbiana importante

entre la microbiota presente al inicio de la vida y la que representará al individuo maduro. Este proceso de desarrollo de la microbiota, con gran impacto sobre el estado de salud del individuo, se ve afectado por muy diversos factores, algunos de los cuales se discuten mas adelante en este capítulo.

La colonización microbiana del intestino comienza pronto después del nacimiento e incluso, según algunos autores, en la etapa fetal (Collado y col., 2016). La diversidad, estabilidad y complejidad de la microbiota, inicialmente dominada por un número limitado de microorganismos, principalmente bifidobacterias en el caso de los niños alimentado exclusivamente con leche materna, evoluciona hasta aproximadamente los tres años de edad. A esta edad, aunque no totalmente equivalente, la microbiota ya muestra parecido con la microbiota de la edad adulta. Después la microbiota, en ausencia de agresiones externas como malos hábitos o exposición a antimicrobianos, se mantiene sin grandes variaciones en adultos sanos, volviéndose de nuevo más inestable en la senescencia. Mientras que los cambios en la microbiota intestinal que ocurren durante la infancia se asocian con la maduración inmune y metabólica asociadas al desarrollo fisiológico del individuo, los presentes en el envejecimiento son concomitantes con un declive fisiológico general, modificaciones anatómicas, deterioro cognitivo y una desregulación del sistema inmunológico. También se han observado cambios en la microbiota asociados a la presencia de diversas enfermedades. Estos estados alterados de la microbiota, conocidos como «disbiosis», se han descrito en más de 300 enfermedades, según la base de datos *Disbiome* (Janssens y col., 2018), dedicada a este fin y que puede consultarse en <https://disbiome.ugent.be/home>. Estas enfermedades incluyen tanto enfermedades intestinales, como alergias, problemas inflamatorios del intestino, diabetes, obesidad e incluso trastornos neurológicos y cognitivos. No obstante, un aspecto de gran relevancia pero que en la mayoría de los casos aun no conocemos bien es en que medida esas disbiosis tienen un papel etiológico en el desarrollo de las enfermedades o representan tan solo cambios consecuencia de las mismas o de los tratamientos administrados.

Microbiota intestinal en la infancia

El establecimiento de la microbiota intestinal es un proceso muy dinámico que se verá influenciado por numerosos factores presentes en la etapa perinatal

(Milani y col., 2017) y la infancia (figura 1). La primera exposición masiva a bacterias ocurre al nacimiento, cuando el recién nacido entra en contacto con la microbiota materna y ambiental ya a través del canal del parto. El inóculo que recibirá el niño al inicio de la vida viene ya determinado por diferentes factores, incluyendo la edad gestacional, el tipo de parto (parto vaginal o cesárea), la existencia de tratamientos antibióticos, o las condiciones ambientales de higiene, entre otros. Una vez establecida la microbiota inicial, como se discutirá posteriormente, la comunidad microbiana continúa evolucionando en función del tipo de lactancia, la presencia de hermanos y/o mascotas, el entorno de vida (rural o urbano), la introducción de la alimentación complementaria, etc. (Rodríguez y col., 2015; Rutayisire y col., 2016,). Tras el nacimiento, el neonato es rápidamente colonizado por microorganismos pioneros, principalmente *Enterobacteriaceae* y bacterias lácticas, como algunos representantes de los géneros *Lactobacillus* o *Streptococcus*. Estos colonizadores iniciales son posteriormente desplazados por bacterias anaerobias, como los géneros *Bifidobacterium* y *Bacteroides* (Milani y col., 2017). Esta microbiota intestinal neonatal temprana se va a caracterizar por una baja diversidad bacteriana y una dominancia de bacterias pertenecientes a los filos *Pseudomonadota* y *Actinomycetota*. En bebés alimentados con leche materna el género *Bifidobacterium*, especialmente la especie *Bifidobacterium longum*, será dominante (Saturio y col., 2021). Esta microbiota se desarrolla durante el primer año, con los filos *Bacillota* y *Bacteroidota* convirtiéndose paulatinamente en los dominantes tras el destete y la introducción de la alimentación sólida (Backhed y col., 2015). Hacia el final del primer año de vida, los neonatos poseen un perfil microbiano individualmente distintivo que converge hacia la microbiota característica de un adulto alrededor de los 2-5 años de edad (Milani y col., 2017).



Figura 1. Principales factores que afectan al establecimiento y desarrollo de la microbiota en el niño

Edad gestacional

La edad gestacional es uno de los factores tempranos que tiene consecuencias directas sobre la microbiota neonatal. Numerosos estudios han reportado alteraciones en el proceso de establecimiento de la microbiota en recién nacidos prematuros. Los cambios observados se caracterizan por una dominancia de bacterias de las familias *Enterobacteriaceae* y *Enterococcaceae*, con un aumento en el número de bacterias potencialmente patógenas como *Klebsiella pneumoniae* y *Clostridioides difficile*, en detrimento de los niveles de microorganismos anaerobios estrictos como *Bifidobacterium*, *Bacteroides* y *Atopobium* (Arbolea y col., 2012; Chong y col., 2018; Baldassarre y col., 2019). De hecho, la enterocolitis necrosante, una enfermedad que afecta aproximadamente al 13 % de los bebés prematuros (Stoll y col., 2012) y cuya etiología precisa aún se desconoce, se ha asociado con la disbiosis de la microbiota de los neonatos prematuros. Una colonización bacteriana inadecuada, con altos niveles de *Pseudomonadota*, especialmente *Gammaproteobacteria* como *Cronobacter sakazakii*, *Klebsiella* spp. y *Escherichia coli*, que promueve inflamación parece desempeñar un papel importante en su desarrollo (Coggins y col., 2015; Baldassarre y col., 2019; Baranowski y col., 2019).

Tipo de parto

Como se ha indicado anteriormente el modo de nacimiento es uno de los factores de mayor influencia en el proceso de colonización, ya que tiene un impacto directo en la diversidad bacteriana que ocupará los diferentes nichos en el organismo (Francavilla y col., 2018; Salas Garcia y col., 2018; Kumbhare y col., 2019). El parto vaginal natural implica el contacto directo con la microbiota vaginal e intestinal materna; los neonatos son colonizados por esta microbiota y los recién nacidos son colonizados preferentemente por *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Bacteroides*, *Escherichia/Shigella* y *Bifidobacterium* (Dominguez-Bello y col., 2016; Rutayisire y col., 2016; Kumbhare y col., 2019). Este proceso de colonización se ve alterado en los bebés nacidos por cesárea. En las últimas décadas, ha habido un aumento en los partos por cesárea, que en algunos países se acerca al 50 % de los nacimientos (Francavilla y col., 2018). Quizás debido a esto, ha habido un interés considerable en las consecuencias de este modo de nacimiento para la salud de los recién nacidos. El parto por cesárea implica la interrupción de la transferencia microbiana; la ausencia de contacto con la microbiota materna (vaginal e intestinal) lleva a la proliferación de bacterias del entorno nosocomial y de la piel de la madre (Kumbhare y col., 2019), lo que significa que las especies dominantes serán diferentes de las de los recién nacidos nacidos por parto natural. Los neonatos nacidos por cesárea son colonizados por bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Veillonella*, y muestran una presencia aumentada de bacterias proinflamatorias como las enterobacterias (Backhead y col., 2015; Dominguez-Bello y col., 2016). También se caracterizan por una colonización tardía de *Bacteroidetes* y *Bifidobacterium* (Arbolea y col., 2012). Se ha descrito en estudios epidemiológicos y metaanálisis que los niños nacidos mediante vía vaginal tienen una menor prevalencia de asma, alergias, problemas respiratorios, diabetes tipo 1 y obesidad en comparación con los niños nacidos por cesárea, quienes también muestran una mayor morbilidad asociada con este tipo de práctica (Braegger y col., 2011; Baldassarre y col., 2019), y todos estos trastornos tienen vínculos con la disbiosis de la microbiota. Por lo tanto, se han propuesto estrategias potenciales de restauración para aliviar la disbiosis en niños nacidos por cesárea. El «vaginal seeding», que consiste en la inoculación de neonatos con bacterias de la vagina materna después de una cesárea, es un ejemplo de ello (Braegger y col., 2011). Y en los últimos años también se ha discutido la opción de realizar un trasplante fecal de microbiota de la madre al neonato nacido por cesárea.

Tipo de lactancia

Tras el nacimiento la lactancia materna es el mejor alimento para los recién nacidos, proporcionándoles la energía, los nutrientes y otros compuestos bioactivos no nutritivos que necesitan, y favoreciendo su supervivencia y desarrollo. Los estudios epidemiológicos sugieren que la lactancia materna continuada durante los primeros 6 meses de vida reduce el riesgo de desarrollar enfermedades como alergias y enfermedad inflamatoria intestinal en los lactantes. Los beneficios inmunológicos de la leche materna incluyen protección contra infecciones e inflamación, promoción del correcto funcionamiento de la barrera intestinal y mantenimiento de la homeostasis, así como su contribución al proceso de colonización microbiana intestinal neonatal. Los lactantes alimentados exclusivamente con leche materna tienen una microbiota diferente de aquellos alimentados con fórmula infantil (Neuman y col., 2018). Varios estudios han informado que el consumo exclusivo de leche materna puede predecir diferencias en la composición taxonómica de la microbiota intestinal (Rendina y col., 2019). Ho y col. (2018) realizaron un metaanálisis comparando los perfiles microbianos de lactantes alimentados exclusivamente con leche materna y aquellos que no lo hacían de manera exclusiva. A nivel de orden, se observaron mayores niveles de *Bacteroidales* y *Clostridiales*, mientras que a nivel de familia, hubo una mayor dominancia de *Bacteroidaceae* y *Veillonellaceae*. Finalmente, en términos de géneros, se observaron aumentos en las poblaciones de *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Veillonella* y *Megasphaera*.

La microbiota de los lactantes alimentados con fórmula tiene una menor proporción de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Enterococcus*, lo cual se asocia con una maduración alterada del sistema inmunológico, específicamente un mayor riesgo de alteración mucosal que puede conducir a inflamación y un desarrollo deficiente del sistema inmunológico (Borewicz y col., 2020). Los oligosacáridos de la leche materna (HMO, por sus siglas en inglés) desempeñan un papel fundamental en este aspecto. Estos oligosacáridos actúan como prebióticos, es decir, proporcionan nutrientes para el crecimiento de bacterias beneficiosas en el intestino del bebé. Específicamente, promueven el crecimiento de bacterias del género *Bifidobacterium*, las cuales se asocian con una serie de beneficios para la salud intestinal y una respuesta inmunológica más efectiva. Además, la leche materna es una fuente de bacterias comensales, mutualistas y potencialmente probióticas que respaldan el proceso de colonización intestinal. A pesar de la gran variabilidad entre individuos, la leche de cada mujer tiene una composición bacteriana única, incluyendo principalmente *Streptococcus* y *Staphylococcus*, seguidos de *Enterobacteriaceae*, *Bifidobac-*

terium, *Enterococcus*, *Lactococcus* y *Lactobacillus*, que son algunos de los primeros colonizadores del intestino del bebé (Thompson y col., 2015; Salas García y col., 2018), aunque se ha descrito la presencia de alrededor de 700 especies de bacterias en la leche (Borewicz y col., 2020), incluyendo la presencia de bacterias estrictamente anaeróbicas presentes en el intestino como ciertas especies de *Clostridium*, *Faecalibacterium* y *Akkermansia*. Se estima que un bebé que ingiere aproximadamente 500-800 mL de leche al día recibe entre 10^5 y 10^7 bacterias/mL. Estos microorganismos desempeñan un papel directo en la salud, previniendo el crecimiento y la proliferación de patógenos y participando en la regulación de procesos inmunológicos, metabólicos y neurodesarrollo. Es importante destacar que la microbiota de la leche materna cambia a lo largo del día, del tiempo de lactancia y entre individuos, dependiendo de su ubicación geográfica y puede verse afectada por diversos factores (Rendina y col., 2019). También se ha observado que el uso de antibióticos durante el período perinatal tiene un impacto en la composición microbiana de la leche materna (Ho y col., 2018). Por último, aunque se necesitan más estudios a gran escala de muestras de leche materna de diferentes ubicaciones geográficas, la abundancia relativa de especies bacterianas encontradas en la leche materna puede depender del lugar de origen materno (Rendina y col., 2019).

En resumen, la lactancia materna favorece el desarrollo de una microbiota intestinal más equilibrada y estable en los bebés (Thompson y col., 2015), lo que a su vez contribuye a una mejor tolerancia intestinal y una respuesta inmunológica más efectiva. Estos beneficios son importantes para promover la salud y el bienestar del bebé a corto y largo plazo y supone que los niños alimentados con leche materna tienen menos probabilidades de sufrir problemas digestivos, como cólicos o diarrea. La lactancia materna también contribuye al desarrollo de una respuesta inmunológica más efectiva. La leche materna contiene inmunoglobulinas, como la inmunoglobulina A secretora (IgA), que proporcionan inmunidad pasiva al lactante y lo protegen contra infecciones en el tracto gastrointestinal. La leche materna también contiene otros factores inmunológicos, como la lactoferrina, la lisozima y las citoquinas, que tienen propiedades antimicrobianas y contribuyen a la defensa inmunológica del lactante.

Destete y alimentación complementaria

Pasados los primeros meses de vida las recomendaciones nutricionales actuales sugieren la introducción de la alimentación complementaria, entre los 4 y 6 meses de edad (Fewtrell y col., 2017). Varios estudios argumentan que la dieta es uno de los principales factores que influyen en la proliferación de bacterias comensales, cuyos cambios van acompañados de cambios en la composición de la microbiota intestinal, principalmente después de la introducción de alimentos sólidos (Thompson y col., 2015; Videhult y col., 2016) que parecen acelerarse a partir de los 9 meses de edad (Bergstrom y col., 2014). Se entiende que la introducción de la alimentación complementaria puede convertirse en una gran oportunidad para afectar positivamente el desarrollo de la microbiota del niño. En esta etapa, la leche materna sigue siendo la principal fuente de alimento, pero comienza a complementarse para satisfacer las necesidades nutricionales del lactante (Moreno Villares, 2019). No obstante, prolongar la lactancia en paralelo a la introducción de la alimentación complementaria puede resultar ventajoso ya que se ha observado que la lactancia materna más allá de los 9 meses se asocia con un aumento en el número de *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp., especialmente *Bifidobacterium longum* (Bergstrom y col., 2014).

Más en detalle, el destete y la introducción de la alimentación complementaria aumentan la diversidad estructural y funcional de la microbiota intestinal hacia una microbiota similar a la del adulto (Laursen y col., 2017). La microbiota intestinal en esta etapa está dominada por especies capaces de degradar glicanos, mucina y carbohidratos complejos, y de producir AGCC. Por ejemplo, la microbiota intestinal durante el destete se asocia con un aumento en la abundancia de *Bacteroides* spp. y miembros de los grupos IV y XIV de *Clostridium* (Falani y col., 2013). En esta etapa se produce un aumento en la prevalencia de bacterias productoras de butirato como el grupo *Blautia coccooides* y el género *Atopobium*, así como con aumentos en *Eggerthella*, *Blautia*, *Neisseria*, *Peptostreptococcaceae* y *Bacteroidetes*, y una mayor abundancia relativa de *Lactobacillus* y *Ruminococcaceae* (Thomson y col., 2015). Algunos estudios sugieren que la alimentación complementaria tiene un impacto más profundo en la microbiota intestinal de los lactantes no amamantados (Davis y col., 2017).

Ambiente familiar

Desde luego el entorno familiar así como la presencia de animales, son otros de los factores relevantes en el proceso de colonización microbiana. Los niños con hermanos tienen mayores proporciones de bifidobacterias en comparación con los hijos únicos (Milani y col., 2017). Se ha demostrado que la riqueza microbiana es mayor en bebés con mascotas en casa (Chong y col., 2018). Este aumento en la riqueza bacteriana se asocia con una mayor población de bacterias pertenecientes al filo *Bacillota*, principalmente de los géneros *Ruminococcus* y *Oscillospira*, lo cual está relacionado con un menor riesgo de desarrollar alergias.

También existen otros factores relacionados con el entorno que se han asociado con la microbiota. Por ejemplo, se ha demostrado la existencia de diferencias en la composición de la microbiota en niños europeos dependiendo de la ubicación geográfica. La microbiota de los niños del norte de Europa presenta niveles más altos de *Bifidobacterium* spp., *Clostridium* spp. y *Atopobium* spp., mientras que los del sur de Europa muestran mayor abundancia de *Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp. y *Bacteroides* spp. (Fallani y col., 2010). Se ha observado una correlación entre la alta latitud y la alta presencia de bacterias del filo *Bacillota* y una menor presencia del filo *Bacteroidota* (Coggins y col., 2015), lo cual podría explicarse en parte por cambios en el clima, la dieta y el estilo de vida. El ambiente, rural o urbano, en el que se desarrolla el niño también es de relevancia. En individuos que viven en áreas rurales de países en desarrollo, se ha observado que la composición y diversidad microbiana difieren de las de individuos de áreas urbanas en países industrializados. Un estudio reciente mostró niveles más altos de *Bifidobacterium*, *Bacteroides-Prevotella* y *Clostridium histolyticum* en niños de Malawi que en niños finlandeses (Grzeskowiak y col., 2012), y la microbiota intestinal de los niños de un entorno rural en Burkina Faso se caracterizó por la presencia de *Bacteroides* (De Filippo y col., 2010).

Transición a la microbiota adulta

Entre los tres y cinco años de edad, la microbiota intestinal infantil alcanza una composición similar a la microbiota adulta, que está dominada por tres filos bacterianos: *Bacillota* (principalmente *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*), *Bacteroidota* (*Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae* y *Rikenellaceae*) y *Actinomycetota* (*Bifidobacteriaceae* y *Coriobacteriaceae*). Se ha sugerido que la microbiota

intestinal pasa por tres fases: una fase de desarrollo (meses 3-14) caracterizada por cambios en la diversidad alfa y en los grupos bacterianos más abundantes; una fase de transición (meses 15-30) en la que aumenta la abundancia de *Bacteroidota* y *Pseudomonadota*; y una fase estable (meses 31-46) en la que los filos y la diversidad alfa permanecen inalterados (Stewart y col., 2018). Durante esta fase, un mayor consumo de proteína animal y polisacáridos vegetales conduce a una disminución de *Bifidobacterium* y un aumento de *Bacteroidota* y *Bacillota* (Álvarez-Calatayud y col., 2018). No obstante, incluso en este momento la composición de la microbiota del niño no es aun totalmente similar a la que tendrá de adulto. Algunos estudios indican la existencia de tres etapas de maduración hasta alcanzar la composición microbiana final: composición microbiana de niños en edad preescolar (3 a 6 años), escuela primaria (6 a 12 años) y adolescencia (12 a 18 años) (Ringel-Kulka y col., 2013; Derrien y col., 2019). Como es reflejo lógico de los cambios en la microbiota también se han encontrado diferencias significativas entre niños y adultos en genes involucrados en diferentes rutas bioquímicas como la síntesis de algunas vitaminas, la degradación de aminoácidos, la fosforilación oxidativa o los factores que inducen inflamación de la mucosa (Hollister y col., 2015)

Microbiota en la edad adulta

Durante la edad adulta, la microbiota es estable, aunque nuestra dieta determina su composición y diversidad. Cada persona tiene una huella bacteriana única que se ha desarrollado desde la infancia y la adolescencia y se ha adaptado a las condiciones genéticas, fisiológicas, metabólicas e inmunológicas del huésped. Sin embargo, la composición y diversidad de la comunidad bacteriana pueden verse influenciadas por factores como la dieta, el estilo de vida, la exposición a antimicrobianos y otros factores ambientales. Además, diversos estudios han demostrado que la microbiota intestinal de adultos puede verse afectada por enfermedades, como la obesidad, la diabetes tipo 2 y las enfermedades inflamatorias del intestino, lo que destaca la importancia de mantener un equilibrio saludable en la microbiota intestinal a lo largo de la vida (Dam y col., 2019).

La dieta se considera uno de los moduladores más importantes de la composición de la microbiota intestinal (De Filipo y col., 2010). Se ha evidenciado que las dietas industrializadas llevan a un predominio de *Bacteroidota*, mientras que el consumo de fibra, frutas y verduras tiende a aumentar los niveles de especies fermentativas como las del género *Prevotella*

(Álvarez-Calatayud y col., 2018) y aumentar los niveles de AGCC (Cuervo y col., 2013). El papel beneficioso de la dieta mediterránea en la microbiota y la salud humana es bien conocido (Jin y col., 2019) y varios estudios han mostrado un aumento de bacterias beneficiosas y promoción de la producción de AGCC (De Filippis y col., 2016). Una alta adherencia a la dieta mediterránea se asoció con niveles más bajos de *Escherichia coli* y niveles más altos de bifidobacterias y acetato (Mitsou y col., 2017). Otros estudios han mostrado que los géneros *Butyricimonas*, *Desulfovibrio* y *Oscillospira* se asocian con adultos con peso normal (IMC <25), y el género *Catenibacterium* prolifera con un mayor cumplimiento de la dieta mediterránea (García-Mantrana y col., 2018).

Al igual que sucede en el caso de los niños, variaciones en la ubicación geográfica, etnia o estilo de vida también han demostrado modular la microbiota de adultos (Yatsunencko y col., 2012; Clemente y col., 2015; Gupta y col., 2017). No podemos olvidar que existen otros factores en la edad adulta que pueden modificar la microbiota intestinal, como el uso de antibióticos y otros medicamentos (Vich Vila y col., 2020), problemas metabólicos (Aron-Wisnewsky y col., 2020), y también el estado de embarazo, o los cambios hormonales (Fuhler, 2020). Además, dentro de la edad adulta y más allá de la presencia de enfermedades y trastornos que exceden el alcance de este capítulo, se dan situaciones que desde el punto de vista fisiológico, pese a producirse en individuos sanos, resultan un tanto especiales y en las que la microbiota intestinal se ve afectada. Estas incluyen los cambios durante la vida fértil de la mujer y el envejecimiento, y se discuten a continuación.

Microbiota intestinal durante el embarazo, lactancia y menopausia

Durante la edad adulta de las mujeres el embarazo, la lactancia y menopausia son estados fisiológicos en los que se producen importantes cambios biológicos, hormonales y metabólicos que pueden repercutir en la microbiota. Así por ejemplo, estudios recientes han demostrado que durante el embarazo se producen cambios en la composición y diversidad de la microbiota materna, tanto en la intestinal como en vaginal y oral (Koren y col., 2012; Fuhler, 2020). En el tercer trimestre de embarazo se observa un aumento en los filos *Pseudomonadota* y *Actinomycetota*, fundamentalmente enterobacterias y bifidobacterias (Koren y col., 2012), que de hecho, como se ha visto en la sección sobre la microbiota intestinal infantil, son los filos predominantes en la microbiota del niño. La progesterona, la principal hormona del embarazo, afecta a la

microbiota intestinal materna y favorece el crecimiento de varias especies del género *Bifidobacterium* (Nuriel-Ohayon y col., 2019). El peso de la madre antes del embarazo, así como la ganancia de peso durante el mismo, también se han relacionado con alteraciones en la microbiota intestinal materna (Collado y col., 2008; Collado y col., 2012; Calatayud y col., 2019). Las mujeres embarazadas obesas y con sobrepeso presentaban menores niveles de *Bifidobacterium* spp. y *Bacteroides* spp., así como mayor abundancia de enterobacterias (principalmente *Escherichia coli*) en comparación con las mujeres de peso normal. Estos cambios en la microbiota intestinal materna también se han asociado a alteraciones en parámetros bioquímicos como los niveles de ácido fólico, ferritina, transferrina y colesterol plasmático, y son de especial importancia durante el embarazo para mantener el estado de salud materno e infantil (Santacruz y col., 2010).

No existe mucha evidencia científica sobre los cambios en la microbiota en la mujer durante la menopausia. La evidencia se centra, principalmente, en los cambios en la microbiota vaginal (Oliveira y col., 2022). Los cambios hormonales, principalmente la disminución de los estrógenos, modifica la mucosa vaginal reflejándose en cambios en su microbiota, principalmente disminución de lactobacilos y aumento de la diversidad bacteriana que representan un mayor riesgo en sufrir infecciones vaginales y cistitis (Stapleton, 2016). En cuanto a la microbiota intestinal, algunos estudios han mostrado cambios asociados a los cambios hormonales (estradiol y progesterona) (Peters y col., 2022). Se ha mostrado un mayor número de *Bacillota* y un menor número de *Bacteroidota* en asociación con un menor nivel de estrógenos circulantes en mujeres menopáusicas, y también un ratio *Bacillota-Bacteroidota* asociada al aumento de peso. Además, esta disbiosis se ha relacionado con mayor inflamación sistémica a través de deficiencias en la señalización de los receptores tipo Toll-Like y la sobreexpresión de citoquinas proinflamatorias (Schreurs y col., 2021). Se han descrito cambios en la microbiota y el microbioma en mujeres menopáusicas con osteoporosis, observándose cambios en alfa-diversidad y beta-diversidad (Wang y col., 2023). En la actualidad, la investigación sobre la menopausia y el microbioma intestinal se encuentra todavía en una fase muy inicial y se necesitan muchos más estudios incluyendo aquellos que investiguen de forma longitudinal la microbiota de la mujer incluyendo su transición menopáusica. En esta área, se han investigado de forma intensa el empleo de suplementos dietéticos principalmente fitoestrógenos, incluyendo las isoflavonas, los cumestranos, los lignanos y los estilbenos, procedentes de frutas, verduras, legumbres (soja) etc. y que presentan una gran similitud con los estrógenos naturales. Además, modulan la micro-

biota intestinal (Leonardy col., 2022; Soukup y col., 2023), beneficio potencial para la salud de la mujer en este momento de la vida.

Microbiota intestinal en la tercera edad

En las personas de edad avanzada, la microbiota intestinal experimenta de nuevo cambios, convirtiéndose la tercera edad en una etapa de la vida en la que la microbiota vuelve a ser inestable y altamente influenciada por factores ambientales, de una manera similar a la primera infancia (Salazar y col., 2014). Además, el proceso de envejecimiento lleva inherente un declive en las funciones fisiológicas, conocido como «senescencia», que comprende desregulación metabólica, daños macromoleculares, problemas en la masticación y deglución, cambios en la función inmune («inmunoscencia»), entre otros, que conllevan a un estado de pro-inflamación denominado «inflammaging». Todas estas alteraciones son las bases para el elevado riesgo de infecciones, enfermedades digestivas y óseas, neurodegeneración o declive cognitivo en las personas ancianas (Salazar y col., 2020; Alvarado-Jasso y col., 2022).

Diferentes estudios poblacionales (Claesson y col., 2012; Salazar y col., 2013; Salazar y col., 2019; Tuikhar y col., 2019) y numerosas revisiones recientes (Badal y col., 2020; Salazar y col., 2020; Alvarado-Jasso y col., 2022; Gosh y col., 2022) han descrito la composición y características funcionales de la microbiota intestinal en las personas de edad avanzada. A pesar de la elevada variabilidad inter-individual, propia de este tipo de estudios, y de las diferentes metodologías utilizadas, los principales cambios en la microbiota intestinal asociados al envejecimiento se pueden resumir en: una menor diversidad bacteriana, una disminución de microorganismos beneficiosos y un aumento de bacterias anaeróbicas facultativas como las enterobacterias y ciertos patógenos oportunistas como *Clostridioides difficile* (Alvarado-Jasso y col., 2022). También se ha mostrado, de una manera consistente, una disminución en grupos bacterianos como las bifidobacterias, productores de butirato miembros del grupo *Clostridium* x1va o microorganismos intestinales importantes, como *Faecalibacterium prausnitzii* (Biagi y col., 2010; Jackson y col., 2016; Salazar y col., 2019; Gosh y col., 2022). Por el contrario, un aumento en los niveles de *Escherichia*, *Eggerthella* o *Desulfovibrio* fueron observados en la microbiota anciana, al igual que un aumento consistente de los grupos, potencialmente beneficiosos, *Akkermansia* o *Christensenellaceae* (Salazar y col., 2019; Badal y col., 2020; Gosh y col., 2022). Sin embargo, los hallazgos con respecto al grupo *Bacteroides-Prevotella* y los lactobacilos son inconsistentes (Salazar y col., 2017;

Badal y col., 2020). Estas observaciones repetidas han permitido identificar tres tipos de grupos taxonómicos asociados al envejecimiento (Gosh y col., 2022). El grupo 1 engloba microorganismos que ven reducidas sus concentraciones, como son *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Coprococcus*, *Eubacterium rectale*, *Bifidobacterium* y *Prevotella*; el grupo 2 lo forman patógenos oportunistas/patobiontes que se incrementan con la edad, como *Eggerthella*, *Bilophila*, *Desulfovibrio*, *Fusobacterium*, *Anaerotruncus*, *Streptococcus* o *Escherichia*; y el grupo 3, son microorganismos potencialmente beneficiosos para la salud, que se han observado estar en mayores proporciones en las personas más ancianas (*Akkermansia*, *Christensenellaceae*, *Odoribacter*, *Butyricimonas*, *Butyrivibrio*, *Oscillospira*), en comparación con la población adulta mas joven (Gosh y col., 2022). Estos cambios en la composición bacteriana conllevan cambios en la producción de los principales metabolitos, como son los AGCC. Un diferente patrón en la producción se ha visto entre ancianos y adultos. Las personas de edad avanzada presentan una menor concentración de AGCC y una mayor concentración de ácidos grasos de cadena ramificada (Rios-Covian y col., 2020). Además, se ha observado una reducción en el metabolismo sacarolítico y un aumento del proteolítico en esta microbiota de edad avanzada, lo que puede favorecer el crecimiento de patógenos y el estado inflamatorio (Rampelli y col., 2013).

Una subpoblación de ancianos que ha sido objeto de diversos estudios en los últimos años son los centenarios, que son considerados un modelo de longevidad o envejecimiento saludable ya que estos individuos han llegado a edades extremas de la vida retrasando enfermedades o afecciones propias del envejecimiento. Estudios en poblaciones centenarias de diversos países, a pesar de la variabilidad interindividual, han observado unas tendencias de nuevo bastante consistentes en la composición de la microbiota intestinal. Se ha observado un aumento de la diversidad, tanto bacteriana como del viroma intestinal, respecto a los ancianos más jóvenes (Wu y col., 2019; Sato y col., 2021; Sepp y col., 2022; Johansen y col., 2023) y un aumento de *Akkermansia*, *Bifidobacterium*, *Christensenellaceae*, *Methanobrevibacter smithii*, *Desulfovibrio* o *Escherichia coli* (Biagi y col., 2016; Odamaki y col., 2016; Tuikhar y col., 2019; Wu y col., 2019). Por el contrario, diversos estudios han indicado una menor concentración de *Faecalibacterium* y *Eubacterium rectale*. Además, los centenarios presentan una mayor capacidad metabólica para la glicólisis y la fermentación de AGCC y una menor capacidad para la degradación de fibras y galactosa (Kim y col., 2017, Wu y col., 2019). Asimismo, se ha observado mayor metabolismo de xenobióticos (Rampelli y col., 2020), producción de ácidos biliares con capacidad anti-inflamatoria (Sato y col., 2021) y un mayor

enriquecimiento en genes del metabolismo del sulfato (Johansen y col., 2023), lo que puede dar, en conjunto, integridad a la mucosa intestinal y resistencia a los patógenos.

Estas observaciones indican que los cambios en el microbioma intestinal de las personas muy ancianas son diferentes a los de las personas mayores más jóvenes, lo que sugiere la presencia de un perfil específico de microbiota en estos individuos que puede tener un efecto protector al retrasar los cambios fisiológicos relacionados con la edad. Sin embargo, sin estudios longitudinales, es difícil determinar si estas características de las personas de edad extremadamente avanzada están relacionadas únicamente con la edad o si ya estaban presentes en los mismos individuos en edades más jóvenes, potencialmente asociadas a su estilo de vida por lo que es necesario llevar a cabo estudios longitudinales que monitoreen la microbiota de las personas a lo largo de la transición de la adultez a la vejez, así como estudios transversales que comparen a personas muy ancianas, como centenarios, con personas mayores más jóvenes.

Por otra parte, es importante señalar que las modificaciones microbianas asociadas al envejecimiento pueden tener consecuencias tanto beneficiosas como perjudiciales. Los cambios no deseados incluyen una reducción en la diversidad microbiana, un cambio en las especies dominantes y una disminución en los niveles de microorganismos beneficiosos, así como un aumento de microorganismos potencialmente patógenos. Esta alteración en la microbiota, junto con la disminución concomitante en la función cognitiva e inmunológica de los ancianos, ha sido relacionada reiteradas veces con un aumento en la fragilidad (Claesson y col., 2011; Jackson y col., 2016).

Además de los cambios naturales en la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal que ocurren con el envejecimiento, diferentes factores como infecciones, tratamientos farmacológicos, actividad física, cambios en la dieta e incluso, la institucionalización de los ancianos puede introducir alteraciones significativas en la microbiota intestinal. El ejercicio físico mantiene la salud y el bienestar del individuo, y es un factor prometedor para modular la microbiota intestinal (Strasser y col., 2021). En la población de la tercera edad pocos estudios se han centrado en el impacto de la actividad física sobre la microbiota intestinal pero los existentes han observado cambios significativos en la composición de la misma en aquellos ancianos que habían llevado a cabo programas de ejercicio durante 5 o más semanas (Aya y col., 2023). Algunos cambios reseñables fueron la reducción significativa de *C. difficile* o el incremento de *Bacteroides* en poblaciones de más de 65 años (Taniguchi y col., 2018; Morita y col., 2019). En otro estudio se relacionó la

disbiosis intestinal con la reducción de la actividad física en pacientes ancianos con hipertensión (Aya y col., 2023).

La importancia tanto de la dieta como del lugar de residencia en la composición de la microbiota intestinal de los ancianos fue puesta de manifiesto por Claesson y col. (2012), observando claras diferencias entre los ancianos que residían en sus casas y los que vivían en residencias de larga estancia. La dieta sigue siendo un factor crucial para determinar la composición de la microbiota intestinal en las personas mayores. Al igual que en los adultos, seguir un patrón de dieta mediterránea en las personas mayores se ha asociado con niveles elevados de AGCC, niveles reducidos de marcadores inflamatorios (como IL-8) y una correlación positiva con microorganismos potencialmente beneficiosos como *F. prausnitzii* (Gutierrez-Díaz y col., 2017). Por lo tanto, incluso en la edad avanzada, la dieta sigue siendo un factor modificable importante que puede afectar la microbiota intestinal. Esto hace posible fijarla como un objetivo a modular con el fin de promover un envejecimiento saludable. Se han llevado a cabo diferentes estudios de intervención, siendo importante en esta población entender que dichas intervenciones tienen que ser abordadas desde una perspectiva global considerando tanto la microbiota intestinal como el sistema inmune, las funciones fisiológicas y cognitivas y las deficiencias nutricionales que son frecuentes en este estadio de la vida (Alvarado-Jasso y col., 2022). Revisiones publicadas recientemente han mostrado el efecto de más de 50 intervenciones dietéticas en personas ancianas, tanto con probióticos, prebióticos o modificaciones de la dieta (Alvarado-Jasso y col., 2022; Gosh y col., 2022). La gran mayoría, además del estudio de la microbiota, fijaban sus objetivos en mejorar la inflamación asociada a esta edad y el declive cognitivo.

Por lo tanto, la microbiota intestinal en esta tercera etapa de la vida sufre cambios en su composición y funcionalidad entre los que se destacan la pérdida de microorganismos potencialmente beneficiosos, la proliferación de otros potencialmente patógenos y el incremento de un género beneficioso para la salud como es *Akkermansia*. Esto marca objetivos definidos para intervenciones dirigidas a la microbiota intestinal. Además, debido a la fragilidad existente, la disminución de la reserva fisiológica y esa tenue homeostasis característica del envejecimiento (Gosh y col., 2022), hacen que pequeñas mejoras en la microbiota intestinal puedan conllevar un gran impacto funcional y en la salud del individuo. Por ejemplo, estudios tanto en animales envejecidos de forma natural como en modelos de envejecimiento acelerado, han demostrado que la administración de *A. muciniphila* prolonga la esperanza

de vida (Bárcena y col., 2019; Cerro y col., 2022), lo que sugiere un papel protector de este microorganismo frente al envejecimiento.

Referencias bibliográficas

- Alvarado–Jasso, G. M.; Arboleya, S. (...) & Gueimonde, M.** (2022). Diet and microbiota in the elderly. In: Glibetic, M. (Ed.). *Comprehensive Gut Microbiota*, vol. 3. Elsevier, pp. 55–68.
- Álvarez–Calatayud, G.; Guarner, F.; Requena, T. & Marcos, A.** (2018). Dieta y microbiota. Impacto en la salud. *Nutrición Hospitalaria*, 35, 6.
- Arboleya, S.; Binetti, A. (...) & Gueimonde, M.** (2012). Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiology Ecology*, 79, 763–772.
- Aron–Wisnewsky, J.; Vigiotti, C. (...) & Clément, K.** (2020). Gut microbiota and human naflid: disentangling microbial signatures from metabolic disorders. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 17, 279–297.
- Aya, V.; Jimenez, P.; Muñoz, E. & Ramírez, J. D.** (2023). Effects of exercise and physical activity on gut microbiota composition and function in older adults: a systematic review. *BMC Geriatrics*, 23, 364.
- Bäckhed, F.; Roswall, J. (...) & Wang J.** (2015). Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host and Microbe*, 17, 690–703.
- Badal, V. D.; Vaccariello, E. D. (...) & Nguyen, T. T.** (2020). The gut microbiome, aging, and longevity: A systematic review. *Nutrients*, 12, 3759.
- Baldassarre, M. E., Di Mauro, A. (...) & Laforgia N.** (2019). Dysbiosis and prematurity: is there a role for probiotics? *Nutrients*, 11, 1273.
- Baranowski, J.R. & Claud, E. C.** (2019). Necrotizing enterocolitis and the preterm infant microbiome. In: Guandalini S, Indrio F, eds. *Probiotics and Child Gastrointestinal Health*. Vol 1125. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer International Publishing, pp. 25-36.
- Bárcena, C.; Valdés-Mas, R. (...) & López-Otín, C.** (2019). Healthspan and lifespan extension by fecal microbiota transplantation into progeroid mice. *Nature Medicine*, 25, 1234-1242.
- Bergstrom, A.; Skov, T. H. (...) & Licht T. R.** (2014). Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of danish infants. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 2889-2900.
- Biagi, E.; Franceschi, C. (...) & Candela, M.** (2016). Gut microbiota and extreme longevity. *Current Biology*, 26, 1480-1485.
- Biagi, E.; Nylund, L. (...) & De Vos, W.** (2010). Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One*, 5, e10667.
- Borewicz, K.; Gu, F. (...) & Smidt, H.** (2020). The association between breastmilk oligosaccharides and faecal microbiota in healthy breastfed infants at two, six, and twelve weeks of age. *Scientific Reports*, 10, 1–12.
- Braegger, C.; Chmielewska, A. (...) & van Goudoever, J.** (2011). Supplementation of infant formula with probiotics and/or prebiotics: a systematic review and comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 52, 238–250.

Calatayud, M.; Koren, O. & Collado, M. C. (2019). Maternal microbiome and metabolic health program microbiome development and health of the offspring. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 30, 735–744.

Cerro, E. D.; Lambea, M. (...) & De la Fuente, M. (2022). Daily ingestion of *Akkermansia muciniphila* for one month promotes healthy aging and increases lifespan in old female mice. *Biogerontology*, 23, 35–52.

Chong, C. Y. L.; Bloomfield, F. H. & O'Sullivan, J. M. (2018). Factors affecting gastrointestinal microbiome development in neonates. *Nutrients*, 10, 274.

Claesson, M. J., Cusack, S. (...) & O'Toole, P. W. (2011). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 108 Suppl 1, 4586–4591.

Claesson, M. J., Jeffery, I. B., (...) & O'Toole, P. W. (2012). Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*, 488, 178–184

Clemente, J. C.; Pehrsson, E. C. (...) & Dominguez-Bello, M. G. (2015). The microbiome of uncontacted amerindians. *Science Advances*, 1, e1500183.

Coggins, S. A.; Wynn, J. L. & Weitkamp, J-H. (2015). Infectious causes of necrotizing enterocolitis. *Clinical Perinatology*, 42, 133–154.

Collado, M. C.; Rautava, S.; Aakko, J.; Isolauri, E. & Salminen, S. (2016). Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. *Scientific Reports*, 6, 23129.

Collado, M. C.; Isolauri, E.; Laitinen, K. & Salminen, S. (2008). Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88, 894–899.

Collado, M. C.; Laitinen, K.; Salminen, S. & Isolauri, E. (2012). Maternal weight and excessive weight gain during pregnancy modify the immunomodulatory potential of breast milk. *Pediatric Research*, 72, 77–85.

Cuervo, A.; Salazar, N.; Ruas-Madiedo, P.; Gueimonde, M. & González S. (2013). Fiber from a regular diet is directly associated with fecal short-chain fatty acid concentrations in the elderly. *Nutrition Research*, 33, 811–816.

Dam, S. A.; Mostert, J. C. (...) & Arias–Vasquez, A. (2019). The role of the gut-brain axis in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Gastroenterology Clinics*, 48, 407–431.

Davis, E. C.; Wang, M. & Donovan, S. M. (2017). The role of early life nutrition in the establishment of gastrointestinal microbial composition and function. *Gut Microbes*, 8, 143–171.

De Filippis, F.; Pellegrini, N. (...) & Ercolini, D. (2016). High-level adherence to a mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut*, 65, 1812–1821.

De Filippo, C., Cavalieri, D. (...) & Lionetti, P. (2010). Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from europe and rural africa. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 107, 14691–14696.

Derrien, M.; Álvarez, A-S. & de Vos, W. M. (2019). The gut microbiota in the first decade of life. *Trends in Microbiology*, 27, 997–1010.

Dominguez–Bello, M. G.; De Jesus–Laboy, K. M. (...) & Clemente, J. C. (2016). Partial restoration of the microbiota of cesarean-born infants via vaginal microbial transfer. *Nature Medicine*, 22, 250.

- Fallani, M.; Amarri, S. (...) & Edwards, C. A.** (2011). Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology*, 157, 1385–1392.
- Fallani, M.; Young, D. (...) & Doré, J.** (2010). Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 51, 77–84.
- Fewtrell, M.; Bronsky, J. (...) & Molgaard, C.** (2017). Complementary feeding: a position paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) Committee on Nutrition. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 64, 119–132.
- Francavilla, R.; Cristofori, F.; Tripaldi, M. E. & Indrio, F.** (2018). Intervention for dysbiosis in children born by C-section. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73, 33-39.
- Fuhler, G. M.** (2020). The immune system and microbiome in pregnancy. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, Pregnancy in GI-disorders*, 44–45, 101671.
- Garcia-Mantrana, I.; Selma-Royo, M.; Alcantara, C. & Collado, M. C.** (2018). Shifts on gut microbiota associated to mediterranean diet adherence and specific dietary intakes on general adult population. *Frontiers in Microbiology*, 9, 890.
- Ghosh, T.S.; Shanahan, F. & O'Toole, P.W.** (2022). The gut microbiome as a modulator of healthy ageing. *Nature Reviews in Gastroenterology and Hepatology*, 19, 565–584.
- Gough, P.; Khalid, M. B.; Hartono, S. & Myles, I. A.** (2022). Microbial manipulation in atopic dermatitis. *Clinical and Translational Medicine*, 12, e828.
- Grześkowiak, Ł.; Collado, M. C., (...) & Salminen, S.** (2012). Distinct gut microbiota in southeastern African and northern European infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 54, 812–816.
- Gutiérrez-Díaz, I.; Fernández-Navarro, T. (...) & González, S.** (2017). Adherence to a mediterranean diet influences the fecal metabolic profile of microbial-derived phenolics in a spanish cohort of middle-age and older people. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65, 586–595.
- Gupta, V. K.; Paul, S. & Dutta C.** (2017). Geography, ethnicity or subsistence-specific variations in human microbiome composition and diversity. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1162.
- Ho, N. T.; Li, F. (...) & Kuhn, L.** (2018). Meta-analysis of effects of exclusive breastfeeding on infant gut microbiota across populations. *Nature Communications*, 9, 4169.
- Hollister, E. B.; Riehle, K. (...) & Versalovic, J.** (2015). Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome. *Microbiome*, 3, 36.
- Hooper, L. V.; Wong, M. H. (...) & Gordon, J. I.** (2001). Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, 291, 881–884.
- Jackson, M. A.; Jeffery, I. B. (...) & Steves, C. J.** (2016). Signatures of early frailty in the gut microbiota. *Genome Medicine*, 8, 8.
- Janssens, Y.; Nielandt, J. (...) & De Spiegeleer, B.** (2028). Disbiome database: linking the microbiome to disease. *BMC Microbiology*, 18, 50.
- Jin, Q.; Black, A. (...) & Sotos-Prieto, M.** (2019). Metabolomics and microbiomes as potential tools to evaluate the effects of the mediterranean diet. *Nutrients*, 11, 11.

Johansen, J.; Atarashi, K. (...) & Plichta, D. R. (2023). Centenarians have a diverse gut virome with the potential to modulate metabolism and promote healthy lifespan. *Nature Microbiology*, 8, 1064–1078.

Kim, B.-S.; Choi, C.W. (...) & Chung, J.H. (2019). Comparison of the gut microbiota of centenarians in longevity villages of South Korea with those of other age groups. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29, 429–440.

Koren, O.; Goodrich, J. K. (...) & Ley, R. E. (2012). Host remodeling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell*, 150, 470–480.

Kumbhare, S. V.; Patangia, D. V.; Patil, R. H.; Shouche, Y. S. & Patil, N. P. (2019). Factors influencing the gut microbiome in children: from infancy to childhood. *Journal of Biosciences*, 44, 49.

Lan, J. & Chen, C. (2023). The role of lactic acid bacteria in maintaining vaginal internal environment homeostasis in patients with infertility. *Microbial Pathogenesis*, 176, 106004.

Laursen, M.F.; Bahl, M. I.; Michaelsen, K. F. & Licht T. R. (2017). First foods and gut microbes. *Frontiers in Microbiology*, 8, 356.

Milani, C.; Duranti, S. (...) & Ventura, M. (2017). The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 81, e00036-17

Mitsou, E. K.; Aimilia K., (...) & Adamantini, K. (2017). Adherence to the mediterranean diet is associated with the gut microbiota pattern and gastrointestinal characteristics in an adult population. *The British Journal of Nutrition*, 117, 1645–55.

Moreno Villares, J. M. (2019). Los primeros 1000 días: una oportunidad para reducir la carga de las enfermedades no transmisibles. *Nutrición Hospitalaria*, 36, 218–232.

Morita, E.; Yokoyama, H. (...) & Okazaki, K. (2019). Aerobic exercise training with brisk walking increases intestinal bacteroides in healthy elderly women. *Nutrients*, 11, 868.

Neuman, H.; Forsythe, P.; Uzan, A.; Avni, O. & Koren, O. (2018). Antibiotics in early life: dysbiosis and the damage done. *FEMS Microbiology Reviews*, 42, 489–499.

Nuriel-Ohayon, M.; Neuman, H. (...) & Koren, O. (2019). Progesterone increases *bifidobacterium* relative abundance during late pregnancy. *Cell Reports*, 27, 730-736.

Odamaki, T.; Kato, K. (...) & Osawa, R. (2016). Age-related changes in gut microbiota composition from newborn to centenarian: a cross-sectional study. *BMC Microbiology*, 16, 90.

Oliveira, N. S.; Feijao de Lima, A. B. (...) & Eleutério, J. (2022). Postmenopausal vaginal microbiome and microbiota. *Frontiers in Reproductive Health*, 3, 780931.

Peters, B. A.; Santoro, N.; Kaplan, R. C. & Qi, Q. (2022). Spotlight on the gut microbiome in menopause: Current Insights. *International Journal of Women's Health*, 14, 1059–1072.

Rampelli, S.; Candela, M. (...) & Brigidi, P. (2013). Functional metagenomic profiling of intestinal microbiome in extreme ageing. *Ageing*, 5, 902–912.

Rampelli, S.; Soverini, M. (...) & Candela, M. (2020). Shotgun metagenomics of gut microbiota in humans with up to extreme longevity and the increasing role of xenobiotic degradation. *mSystems*, 5, e00124.

Rendina, D. N.; Lubach, G. R.; Phillips, G. J.; Lyte, M. & Coe, C. L. (2019). Maternal and breast milk influences on the infant gut microbiome, enteric health and growth outcomes of Rhesus Monkeys. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 69, 363–369.

- Ringel–Kulka, T.; Cheng, J. (...) & Satokari, R.** (2013). Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults--a high throughput microarray analysis. *PLoS ONE*, 8, e64315.
- Ríos–Covian, D.; González, S. (...) & de Los Reyes-Gavilán, C. G.** (2020). An overview on fecal branched short-chain fatty acids along human life and as related with body mass index: Associated Dietary and Anthropometric Factors. *Frontiers in Microbiology*, 11, 973.
- Ríos–Covian, D.; Ruas-Madiedo, P. (...) & Salazar, N.** (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Frontiers in microbiology*, 7, 185.
- Rodríguez, J. M.; Murphy, K. (...) & Collado, M. C.** (2015). The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 26, 26050.
- Rutayisire, E.; Huang, K.; Liu, Y. & Tao, F.** (2016). The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterology*, 16, 86.
- Salas Garcia, M. C.; Yee, A. L.; Gilbert, J. A. & Dsouza, M.** (2018). Dysbiosis in children born by caesarean section. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 73, 24–32.
- Salazar, N.; Arboleya, S. (...) & Gueimonde M.** (2019). Age-associated changes in gut microbiota and dietary components related with the immune system in adulthood and old age: a cross-sectional study. *Nutrients*, 11, 1765.
- Salazar, N.; González, S. (...) & Reyes-Gavilán, C. G.** (2020). Microbiome: effects of ageing and diet. *Current Issues in Molecular Biology*, 36, 33–62.
- Salazar, N.; López, P. (...) & Gueimonde M.** (2013). Microbial targets for the development of functional foods accordingly with nutritional and immune parameters altered in the elderly. *Journal of the American College of Nutrition*, 32, 399–406.
- Salazar, N.; Valdés–Varela, L.; González, S.; Gueimonde, M. & de Los Reyes–Gavilán, C. G.** (2017). Nutrition and the gut microbiome in the elderly. *Gut Microbes*, 8, 82–97.
- Salazar, N.; Arboleya, S. (...) & de Los Reyes–Gavilán, C. G.** (2014). The human intestinal microbiome at extreme ages of life. Dietary intervention as a way to counteract alterations. *Frontiers in Genetics*, 5, 406.
- Santacruz, A.; Collado, M. C. (...) & Sanz, Y.** (2010). Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *British Journal of Nutrition*, 104, 83–92.
- Sato, Y.; Atarashi, K. (...) & Honda, K.** (2021). Novel bile acid biosynthetic pathways are enriched in the microbiome of centenarians. *Nature*, 599, 458–464.
- Saturio, S.; Nogacka, A. M., (...) & Gueimonde, M.** (2021). Early-life development of the bifidobacterial community in the infant gut. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 3382.
- Schreurs, M. P. H.; De Vos P. J. (...) & Werner. H. M. J.** (2021). How the gut microbiome links to menopause and obesity, with possible implications for endometrial cancer development. *Journal of Clinical Medicine*, 10, 2916.
- Sepp, E.; Smidt, I. (...) & Mandar, R.** (2022). Comparative analysis of gut microbiota in centenarians and young people: impact of eating habits and childhood living environment. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 228.

Soukup, S. T.; Engelbert, A. K.; Watzl, B.; Bub, A. & Kulling, S. E. (2023). Microbial metabolism of the soy isoflavones daidzein and genistein in postmenopausal women: human intervention study reveals new metabolotypes. *Nutrients*, 15, 2352.

Stapleton, A. E. (2016). The vaginal microbiota and urinary tract infection. *Microbiology Spectrum*, 4, 6.

Stewart, C. J.; Ajami, N. J. (...) & Petrosino, J. (2018). Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature*, 562, 583–588.

Stoll, B. J.; Hansen, N. I. (...) & Higgins, R. D. (2015). Trends in care practices, morbidity, and mortality of extremely preterm neonates, 1993–2012. *JAMA*, 314, 1039–1051.

Strasser, B.; Wolters, M.; Weyh, C.; Krüger, K. & Ticinesi, A. (2021). The effects of lifestyle and diet on gut microbiota composition, inflammation and muscle performance in our aging society. *Nutrients*, 13, 2045.

Taniguchi, H.; Tanisawa, K.; (...) & Higuchi, M. (2018). Effects of short-term endurance exercise on gut microbiota in elderly men. *Physiology Reports*, 6, e13935.

Thompson, A. L.; Monteagudo–Mera, A.; Cadenas, M. B.; Lampl, M. L. & Azcarate–Peril, M. A. (2015). Milk- and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 5, 3.

Tuikhar, N.; Keisam, S. (...) & Jeyaram, K. (2019). Comparative analysis of the gut microbiota in centenarians and young adults shows a common signature across genotypically non-related populations. *Mechanisms of Ageing and Development*, 179, 23–35.

Vich Vila, A.; Collij, V. (...) & Veersma, R. K. (2020). Impact of commonly used drugs on the composition and metabolic function of the gut microbiota. *Nature Communications*, 11, 362.

Videhult, F. K. & West, C. E. (2016) Nutrition, gut microbiota and child health outcomes. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 19, 208–213

Wang, H.; Liu, J. (...) & Xu, R. (2023). Gut microbiota signatures and fecal metabolites in postmenopausal women with osteoporosis. *Gut Pathogens*, 15, 33.

Wu, L.; Zeng, T. (...) & Carru, C. (2019). A cross-sectional study of compositional and functional profiles of gut microbiota in Sardinian centenarians. *mSystems*, 4, e00325–19.

Yatsunencko, T., Rey, F.E. (...) & Gordon, J. I. (2012). Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*, 486, 222–227.

Capítulo 3

La microbiota intestinal y su efecto en el tracto respiratorio: el eje intestino–pulmón

Julio Villena y Mariano Elean

En la actualidad existen numerosos trabajos científicos que han evidenciado el importante papel que cumple la microbiota intestinal en la salud del hospedador, influenciando los sistemas digestivo, metabólico, endocrino e inmunológico. Evidencia más reciente ha demostrado también que la microbiota alojada en el tracto gastrointestinal puede influir en la fisiología de sitios mucosos distantes como la del tracto respiratorio. La microbiota intestinal y sus alteraciones pueden contribuir a mediano y largo plazo en el mantenimiento de la salud respiratoria, así como en el desarrollo y progresión de enfermedades pulmonares.

El tracto respiratorio: generalidades, estructura y funciones

El tracto respiratorio es un sistema complejo diseñado para facilitar el intercambio de gases y la oxigenación de la sangre, mientras forma una barrera física e inmunológica entre el ambiente externo y el interior del organismo (Mettelman y col., 2022). Anatómica y fisiológicamente se divide en: a) el tracto respiratorio superior, que incluye la cavidad nasal, la nasofaringe, la faringe y la laringe, y b) el tracto respiratorio inferior constituido por las vías conductoras (tráquea, bronquios, bronquiolos) y el parénquima pulmonar (bronquiolos respiratorios y alveolos) (figura 1). Dentro del parénquima pulmonar y extendiéndose desde los extremos de los bronquiolos se encuentran los alvéolos, los cuales están conectados al lecho vascular más grande del cuerpo (Hewitt y Lloyd, 2021). Este tejido especializado es el sitio principal de intercambio de oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2) entre el pulmón y la sangre.

Cada área del tracto respiratorio tiene una función específica y esto está reflejado en la composición celular de cada región. El epitelio de las vías respiratorias y los pulmones es un continuo físico que forma una barrera y es la interfase entre el lumen del espacio aéreo y el tejido respiratorio subepitelial. En las vías aéreas, el epitelio es pseudoestratificado, cilíndrico, ciliado y está

constituido por múltiples tipos de células (figura 1) que incluyen células madre precursoras, células secretoras, células caliciformes y células ciliadas. Estudios recientes del epitelio respiratorio empleando la tecnología de «*scrNA-seq*» han permitido describir además otros tipos celulares menos abundantes que incluyen ionocitos, células en penacho o células tuft y células neuroendocrinas (Mettelman y col., 2022). Una característica importante del epitelio que reviste la mucosa respiratoria es la capa delgada de moco que cubre su superficie luminal. El moco, producido por las células secretoras y células caliciformes, está formado por un complejo de proteínas denominadas mucinas y agua, el cual además contiene factores del complemento, péptidos antimicrobianos y anticuerpos secretores. Las células multiciliadas transportan las partículas inhaladas que se depositan en la superficie mucosa y son atrapadas por el moco, fuera de las vías respiratorias de manera retrógrada (Zepp y Morrissey, 2019). Este movimiento mucociliar, junto con los factores antimicrobianos producidos por las células epiteliales constituyen la principal barrera para la colonización de microorganismos en la superficie de la mucosa respiratoria.

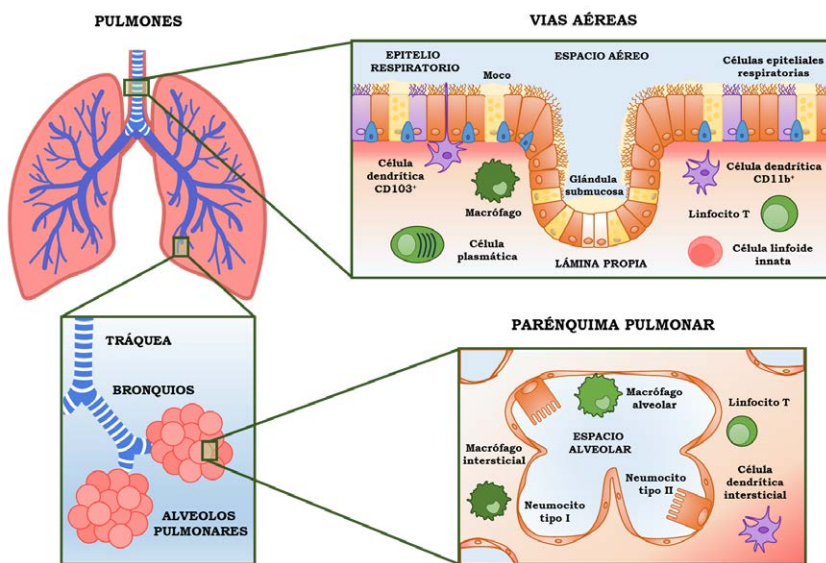


Figura 1. Estructura del tracto respiratorio

Además del epitelio pseudoestratificado, las vías respiratorias presentan estructuras conocidas como glándulas submucosas, que son invaginaciones túbulo-acinares situadas a lo largo de las vías respiratorias cartilagosas en el sistema respiratorio humano (Zepp y Morrisey, 2019). Dichas glándulas están constituidas por conductos colectores, conductos ciliados, células mioepiteliales y acinos glandulares con células serosas y células productoras de moco (figura 1). De este modo, las glándulas submucosas del tracto respiratorio refuerzan la producción de moco protector.

Por otro lado, los alvéolos son distintos a las vías aéreas en estructura y desarrollo. Los dos principales tipos epiteliales dentro de los alvéolos son las células epiteliales alveolares de tipo I y II, también conocidas como neumocitos tipo I y II (figura 1). Los neumocitos de tipo I son células aplanadas, comprenden más del 95 % de la superficie de los alveolos y están íntimamente asociadas con el endotelio subyacente. En los alvéolos pulmonares, el intercambio de gases está mediado por equilibrios de presión a través de los neumocitos tipo I y las células endoteliales que constituyen la barrera alveolo-capilar, de aproximadamente 3 micrómetros de espesor (figura 2). Los neumocitos tipo II son cuboidales y producen el surfactante que reduce la tensión superficial para evitar el colapso alveolar durante la respiración (Zepp y Morrisey, 2019).

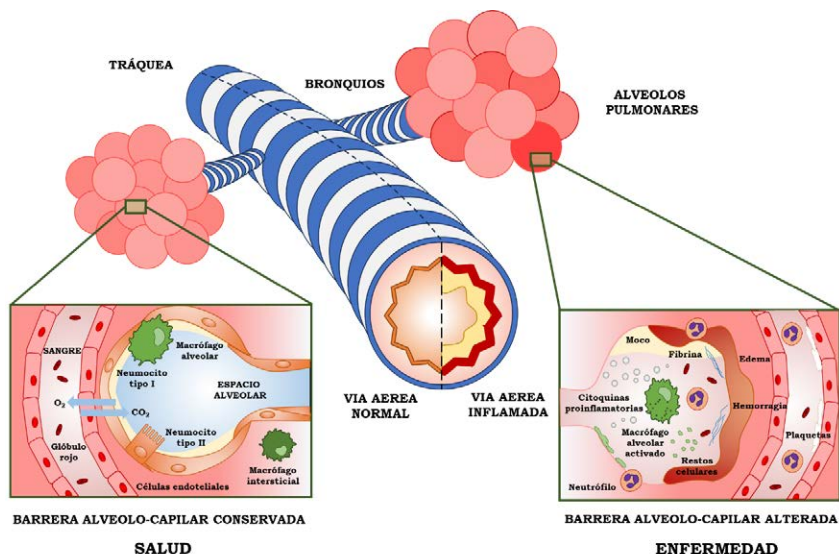


Figura 2. Barrera alveolo-capilar en la salud y en enfermedades inflamatorias

El tracto respiratorio posee asociada una compleja red de células inmuno-lógicas que en su conjunto constituyen el sistema inmune respiratorio. En el tejido respiratorio se pueden encontrar células presentadoras de antígeno como macrófagos y células dendríticas (DCs). Se ha descrito en ratones que las DCs pulmonares se pueden agrupar en dos poblaciones principales: DCs convencionales que son $CD11c^{hi}MHC-II^{hi}$ y DCs plasmocitoides que son $CD11c^{int}B220^{+}$. Además, las DCs convencionales se pueden dividir en DCs $CD11b^{+}CD103^{-}$ y $CD11b^{-}CD103^{+}$. Ambas poblaciones de DCs tienen ubicaciones diferentes dentro del tejido respiratorio (figura 1). Las DCs $CD11b^{+}$ se localizan en el tejido submucoso mientras que las DCs $CD103^{+}$ están ubicadas en la lámina basal y son capaces de extender las dendritas en la luz de las vías respiratorias, lo que les permite tomar muestras de microorganismos del espacio aéreo (Holt y col., 2008). El tejido respiratorio también cuenta con macrófagos localizados en la submucosa de las vías conductoras, así como en el tejido intersticial pulmonar. Además, posee una población única de macrófagos localizados en el espacio aéreo de los alveolos los cuales se denominan macrófagos alveolares (figura 1) (Aegerter y col., 2022). A lo largo de las vías aéreas se pueden encontrar también linfocitos B y células plasmáticas, las cuales cumplen con la función de producir inmunoglobulina A (IgA) secretora, la cual es transportada desde la zona subepitelial hacia la superficie apical de las células epiteliales de las vías respiratorias a través del receptor polimérico de inmunoglobulina (pIgR). La IgA secretora previene la adherencia de microorganismos aerotransportados en un proceso llamado «exclusión inmune» (Holt y col., 2008). La mucosa respiratoria además posee células linfoides innatas (CLIs) (figura 1), las cuales se clasifican en $CL1S1$, $CL1S2$ y $CL1S3$, que se consideran las contrapartes innatas de las células T colaboradoras de tipo 1 ($Th1$), 2 ($Th2$) y 17 ($Th17$), respectivamente (Weinstock y col., 2021). Se ha demostrado que en la mucosa intestinal las $CL1S3$ están involucradas no solo en la defensa contra patógenos bacterianos, sino también en la interacción con la microbiota comensal. Las bacterias comensales penetran periódicamente en la barrera mucosa, y la producción de interleuquina (IL)-22 por parte de las $CL1S3$ es crucial para contener la diseminación bacteriana comensal a través de la inducción de péptidos antimicrobianos como RegIII β , RegIII γ y péptidos de la familia s100 en las células epiteliales intestinales (Beck y col., 2020). Se ha postulado que mecanismos similares existirían en la mucosa respiratoria. La actividad fagocítica, la exclusión mediada por IgA y las funciones de las CLIs refuerzan al movimiento mucociliar y a los factores antimicrobianos y le permiten al tejido respiratorio controlar la colonización y crecimiento de microorganismos sin generar respuestas inflamatorias que podrían dañarlo (Weinstock y col., 2021).

Las funciones inmunológicas apropiadas de las vías respiratorias y del parénquima pulmonar están estrictamente asociadas con la salud humana, ya que el intercambio de O_2 y CO_2 es necesario para mantener la funcionalidad de cada una de las células del organismo. De este modo, la mucosa respiratoria ha desarrollado mecanismos para mantener un cuidadoso equilibrio entre las respuestas inmunológicas contra agentes extraños y la función pulmonar (Mettelman y col., 2022). Mantener la estructura y funcionalidad de la barrera alveolo-capilar durante los insultos externos como lesiones fisicoquímicas o infecciones es de primordial importancia para la supervivencia del huésped (Zepp y Morrisey, 2019; Aegerter y col., 2022). Los cambios en la barrera alveolo-capilar tales como su engrosamiento por acumulación de fluidos en los espacios intersticiales, la acumulación de moco en el espacio alveolar o la infiltración de células inflamatorias pueden conducir a la pérdida de oxigenación de la sangre y a la acumulación de CO_2 (Hewitt y Lloyd, 2021) (figura 2). Las respuestas desreguladas del sistema inmunológico en el tracto respiratorio pueden conducir o contribuir a enfermedades como el asma o enfermedades pulmonares crónicas. Además, la mucosa respiratoria es susceptible a numerosos agentes infecciosos incluyendo patógenos respiratorios virales, bacterianos y fúngicos, los cuales pueden usar el microambiente del tracto respiratorio para su replicación causando daño directo y desencadenando daño tisular indirecto a través de la respuesta inflamatoria (Mettelman y col., 2022). Por ello se considera que tanto las respuestas inmunitarias innatas como adaptativas del tracto respiratorio están estrechamente asociadas al desarrollo, progresión y/o severidad de las enfermedades respiratorias de mayor incidencia.

Las respuestas inmunológicas en el tracto respiratorio

A pesar de compartir el mismo origen embriológico que la mucosa intestinal, la actividad inmunológica en la mucosa de las vías respiratorias es necesariamente distinta y está condicionada por diferencias en factores ambientales tales como los gradientes de temperatura y el flujo bidireccional de aire, así como por las comunidades microbianas residentes y los antígenos aerotransportados (Huffnagle y col., 2017).

En la actualidad está ampliamente aceptado que las células epiteliales que recubren las vías respiratorias no son solo una barrera físico-química entre el ambiente externo y el tejido subepitelial, sino que están capacitadas para responder a microorganismos y estímulos nocivos que superan la barrera mucociliar. Estas células pueden interactuar con las células del sistema inmu-

nitario para mantener la homeostasis o gatillar respuestas inmunológicas cuando es necesario (Hewitt y Lloyd, 2021). Las células epiteliales respiratorias expresan receptores de reconocimiento de patrones (RRPs), tales como los receptores tipo Toll (TLR), que rápidamente detectan e inician respuestas inmunológicas frente a amenazas microbianas. Los RRP permiten la detección de patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMPs) activando vías de señalización que inducen la expresión de diversos factores inmunológicos. Esto permite a las células epiteliales respiratorias producir interferones (IFNs), citoquinas y quimioquinas que median el reclutamiento y activación de células inmunitarias como células NK, macrófagos, DCs y linfocitos T y B (Huffnagle y col., 2017; Hewitt y Lloyd, 2021). Los microorganismos también pueden ser detectados por las DCs respiratorias dando como resultado la activación y maduración de dichas células presentadoras de antígenos. Las DCs respiratorias que han fagocitado antígenos maduran y migran a los ganglios linfáticos que drenan los pulmones, donde presentan los antígenos y activan a linfocitos T específicos. Este proceso culmina con la generación de células T y B antígeno específicas que median la inmunidad adaptativa celular y humoral, respectivamente (Holt y col., 2008).

En los alveolos pulmonares, los neumocitos de tipo I y II también son capaces de mediar la interacción RRP-MAMP e iniciar respuestas inmunológicas, aunque solo lo hacen cuando es estrictamente necesario (Huffnagle y col., 2017; Hewitt y Lloyd, 2021). Los macrófagos alveolares constituyen la primera línea de defensa en los alvéolos, mientras que los macrófagos intersticiales pulmonares actúan como guardianes de la vasculatura y el intersticio pulmonar (Aegerter y col., 2022). Como macrófagos específicos de tejido, los macrófagos alveolares muestran un fenotipo único y sus características transcripcionales están dictadas por el entorno pulmonar. Estos macrófagos habitan en el lado luminal de los alveolos y están rodeados por los neumocitos de tipo I y II, células endoteliales capilares y fibroblastos intersticiales, los cuales proporcionan señales que le confieren características distintivas que no poseen otros macrófagos, incluidos los macrófagos intersticiales del pulmón (Aegerter y col., 2022). Los macrófagos alveolares se adhieren y, a menudo, se arrastran firmemente adheridos al lado luminal de las células epiteliales alveolares. Solo uno de cada tres alvéolos contiene un macrófago alveolar en un momento determinado. Sin embargo, estos macrófagos pueden migrar de un alvéolo a otro a través de poros de Kohn guiados por el componente C5a del sistema del complemento, el cual se produce en presencia de microorganismos (Neupane y col., 2020). De este modo, los macrófagos alveolares patrullan continuamente los espacios alveolares capturando, fagocitando y neutralizando un

gran número de microorganismos y partículas inhaladas. Esta vigilancia inmunológica se realiza de forma «silenciosa», es decir, sin desencadenar el reclutamiento de células inflamatorias adicionales, lo cual podría dañar los delicados alvéolos (Aegerter y col., 2022). En el curso de las infecciones respiratorias virales, bacterianas o fúngicas, el microambiente de los macrófagos alveolares se torna inflamatorio. El proceso infeccioso y la producción de mediadores inflamatorios modifican las interacciones moleculares entre las células epiteliales y los macrófagos alveolares, haciendo que se pierdan los mecanismos que evitan la generación de respuestas inflamatorias. De este modo, los macrófagos alveolares incrementan significativamente su capacidad para fagocitar y producir mediadores que inducen el reclutamiento y activación de otras células inmunes que participan en la respuesta a los patógenos (Huffnagle y col., 2017; Hewitt y Lloyd, 2021). Por otro lado, los macrófagos intersticiales son considerados como una segunda línea de defensa contra los microorganismos patógenos que han logrado evadir la actividad fagocítica de los macrófagos alveolares y han cruzado la barrera alveolo-capilar. Los macrófagos intersticiales presentan características típicas de macrófagos de otras regiones del organismo, con una alta capacidad para generar y mediar respuestas inflamatorias (Aegerter y col., 2022).

La respuesta inmune del huésped no solo brinda mecanismos protectores contra la replicación de patógenos en el tracto respiratorio, sino que también puede producir cambios inmunopatológicos que agravan la severidad de las infecciones. Cuando los patógenos superan las barreras homeostáticas del tejido respiratorio, se producen numerosos mediadores proinflamatorios por parte de las células epiteliales y células presentadoras de antígenos que incluyen TNF- α , IL-1 α/β , IL-6, IFN- α/β , IL-17, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β /CCL4, RANTES/CCL5, los cuales son los responsables del reclutamiento y activación de las células inmunes (Huffnagle y col., 2017; Hewitt y Lloyd, 2021). Los neutrófilos y monocitos reclutados, aunque son necesarios para la eliminación de los patógenos, también son notables por su papel en la promoción del daño al tejido pulmonar. De hecho, se ha demostrado que la acumulación excesiva de neutrófilos y células inflamatorias mononucleares en el tracto respiratorio se correlaciona fuertemente con la patología pulmonar en casos graves de infecciones respiratorias o las exacerbaciones del asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La funcionalidad de la barrera alveolo-capilar también se ve comprometida durante las respuestas inflamatorias por la activación del sistema hemostático que conduce a cambios en las células endoteliales, reclutamiento de plaquetas y activación del sistema de la coagulación (Zelaya y col., 2016) (figura 2).

De este modo, la resistencia contra microorganismos patógenos y antígenos extraños en el tracto respiratorio requiere la eliminación efectiva de los mismos acompañada de una regulación eficiente de las respuestas inmunológicas para reducir las lesiones asociadas a la inmunopatología, así como de la puesta en marcha de los mecanismos de reparación celular y tisular necesarios para la restauración de la función y la estructura pulmonar normal (Hewitt y Lloyd, 2021).

Efecto de la microbiota intestinal sobre la inmunidad respiratoria

Los efectos beneficiosos de la microbiota intestinal en la inmunidad local y en la resistencia a patógenos gastrointestinales han sido ampliamente documentados. Recientemente se ha reportado un papel importante de la microbiota intestinal en el mantenimiento homeostático de la inmunidad respiratoria, así como en las respuestas inducidas por el ataque de microorganismos patógenos (Ichinohe y col., 2011; Abt y col., 2012; Bradley y col., 2019; Villena y col., 2020; Villena y col., 2021; Erttmann y col., 2022). La mayoría de los estudios demostraron un impacto significativo de la microbiota intestinal en los mecanismos de defensa antivirales innatos de la mucosa respiratoria a través de su influencia en: a) las células epiteliales respiratorias, b) las DCs respiratorias y c) los macrófagos pulmonares. Los reportes mostraron que la microbiota intestinal, a través de su influencia sobre la inmunidad innata, también modifica las respuestas inmunes adaptativas tanto humoral como celular en la mucosa respiratoria (figura 3). La influencia de la microbiota intestinal en la respuesta inmunitaria antiviral mediada por células epiteliales respiratorias se demostró mediante experimentos con quimeras de médula ósea, que identificaron las células epiteliales respiratorias como claves en la inmunidad antiviral temprana y su interacción con las células inmunitarias como importantes para la resistencia antiviral tardía (Bradley y col., 2019). Se demostró que la microbiota intestinal influye en la expresión superficial del receptor de los IFNs de tipo I (IFNAR) en las células epiteliales respiratorias, las cuales son capaces de responder más eficientemente al ataque de los virus respiratorios con mayor producción de IFN- α , IFN- β y factores antivirales.

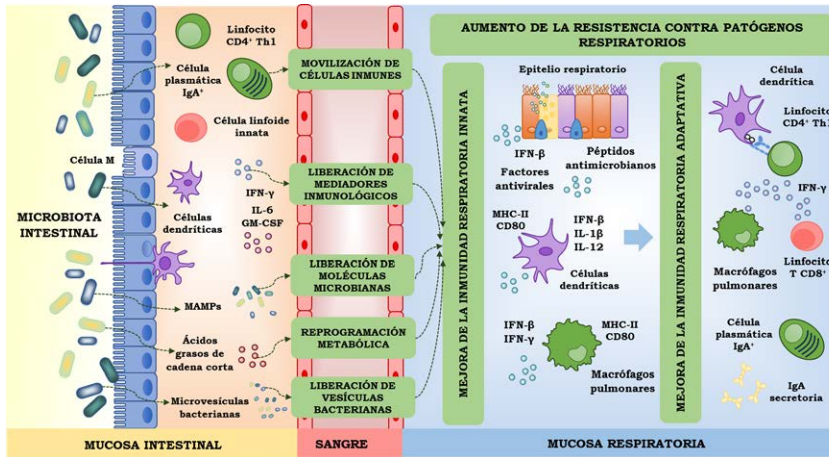


Figura 3. Mecanismos empleados por la microbiota intestinal para modular la inmunidad respiratoria

Por otro lado, también se probó la influencia de la microbiota intestinal en la respuesta inmune antiviral mediada por DCs (Ichinohe y col., 2011). Se observó que la microbiota intestinal, en particular las poblaciones de bacterias Gram positivas, influyen la distribución y activación normal de las DCs respiratorias en condiciones basales. La expresión de pro-IL-1 β , pro-IL-18 y NLRP3 en la mucosa respiratoria normal depende de una microbiota intestinal intacta, así como la activación del inflamasoma y la maduración y migración de las DCs desde el pulmón hasta los ganglio linfáticos luego del desafío con virus respiratorios. Este efecto de la microbiota intestinal sobre las DCs es importante para la activación eficiente de las células T CD8⁺ y CD4⁺ virus específicas, así como para la expansión de las células B y la producción de anticuerpos (Ichinohe y col., 2011). También se ha comprobado el efecto de la microbiota intestinal sobre la respuesta inmune antiviral mediada por macrófagos (Abt y col., 2012). La microbiota intestinal está involucrada en el mantenimiento de la capacidad de los macrófagos pulmonares para producir IFNs de tipo I y factores antivirales, incluidos Irf7, Mx1 y Oas1 que limitan la replicación de virus respiratorios. Además, la microbiota intestinal influye positivamente en la capacidad de los macrófagos pulmonares para respaldar la generación de respuestas humores y celulares específicas de virus en el tracto respiratorio. La alteración o eliminación de la microbiota induce a los

macrófagos respiratorios a expresar menores niveles de las moléculas co-estimuladoras MHC-I y CD86, involucradas en la presentación antigénica. Esta alteración de la funcionalidad de los macrófagos se vio traducida en un número reducido de células T CD8⁺ virus específicas, así como una capacidad reducida de las mismas para producir IFN- γ , TNF- α , IL-2 y MIP-1 α (Abt y col., 2012).

Los estudios mencionados demostraron que las señales proporcionadas por la microbiota intestinal actúan a múltiples niveles en la mucosa respiratoria estimulando un estado antiviral en células no inmunes e inmunes innatas que permitiría un control eficiente de la replicación viral durante las primeras etapas de la infección. La respuesta inmunitaria antiviral innata respiratoria mejorada potenciaría la funcionalidad de las células inmunitarias, lo que conduciría a respuestas inmunitarias adaptativas humorales y celulares mejoradas más adelante en el curso de la infección viral (figura 3). Aunque estos efectos de la microbiota intestinal han sido documentados para la infección por el virus influenza (IFV) (Ichinohe y col., 2011; Abt y col., 2012; Bradley y col., 2019), se debe considerar que los mecanismos celulares y moleculares involucrados en la respuesta inmune antiviral innata no son específicos de virus, sino que son similares para todos los virus respiratorios. Entonces, es posible suponer que los microorganismos beneficiosos en el tracto intestinal también pueden influir favorablemente en las respuestas inmunitarias innatas contra otros virus respiratorios. En este sentido, se demostró que una dieta rica en fibra mejoraba la producción de acetato por parte de la microbiota intestinal de ratones y que este producto metabólico modulaba la actividad del IFN- β en el tracto respiratorio aumentando la expresión de factores antivirales (Antunes y col., 2019). Los cambios inmunológicos inducidos en el tracto respiratorio por el tratamiento dietético aumentaron significativamente la resistencia al desafío con el virus sincitial respiratorio (RSV).

También se ha asociado a la microbiota intestinal con la inmunidad respiratoria antibacteriana (Schuijt y col., 2016; Gray y col., 2017; Wang y col., 2018). Se ha reportado que la exposición de ratones recién nacidos a bacterias comensales inmediatamente después del nacimiento es necesaria para una defensa apropiada contra la neumonía producida por *Streptococcus pneumoniae* (Gray y col., 2017). La alteración de la colonización posnatal de la mucosa intestinal por bacterias comensales resultó en una marcada disminución del número de CLIS3 IL-22⁺ en los pulmones. La influencia de la microbiota intestinal en la resistencia a la infección por *S. pneumoniae* también ha sido asociada a cambios en la funcionalidad de los macrófagos alveolares. La eliminación de la microbiota intestinal produjo alteraciones transcripcionales en los macrófagos alveolares caracterizadas por alteraciones metabólicas, menor

capacidad para producir citoquinas y reducción de su actividad fagocítica frente al neumococo. El trasplante de microbiota fecal restauró la actividad normal de las células fagocíticas (Schuijt y col., 2016). Por otro lado, se ha descrito que la microbiota intestinal, y en particular las bacterias filamentosas segmentadas, son de importancia para una apropiada defensa contra la infección respiratoria producida por *S. pneumoniae* (Felix y col., 2018) o *Staphylococcus aureus* (Gauguet y col., 2015). Los animales de experimentación que carecían de bacterias filamentosas segmentadas desarrollaron una neumonía por *S. aureus* más grave que los ratones con microbiota intestinal normal, caracterizada por mayores niveles de colonización del patógeno, inflamación pulmonar y mortalidad más elevada. Esta diferencia estuvo asociada a niveles distintos de efectores inmunitarios de la respuesta Th17 (IL-22 e IL-17) en el pulmón, los cuales fueron más altos en los hospedadores con bacterias filamentosas segmentadas. Se demostró que la microbiota intestinal puede mejorar las defensas respiratorias a través de la señalización del factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), que estimula macrófagos alveolares y promueve la destrucción y eliminación de patógenos como *S. pneumoniae* y *Klebsiella pneumoniae* (Brown y col., 2017).

Se han podido realizar algunos avances para determinar la naturaleza de las señales utilizadas por la microbiota intestinal para modular la inmunidad respiratoria, aunque aún queda mucho por investigar al respecto. Se han propuesto cinco mecanismos probables, que no son mutuamente excluyentes, para explicar el efecto de la microbiota intestinal sobre la inmunidad respiratoria (figura 3). La existencia del denominado Sistema Inmune Común de Mucosas implica que las células inmunes activadas en un tejido mucoso pueden moverse y alcanzar sitios mucosos distantes donde pueden influir en las respuestas inmunitarias. De este modo, la movilización de CLIS y células B y T desde la mucosa intestinal hacia el tracto respiratorio podría estar involucrada en los efectos beneficiosos que ejerce la microbiota intestinal (Villena y col., 2020; Villena y col., 2021). Por ejemplo, la movilización de células plasmáticas productoras de IgA desde el intestino al tracto respiratorio podría potenciar la exclusión inmune mediada por IgA secretora previniendo la adherencia de microorganismos patógenos. Otro ejemplo de esta movilización de células se obtuvo al realizar experimentos en los que se conectó la circulación de dos ratones y se demostró que las CLIS2 intestinales activadas en un ratón mediante la administración de IL-25 se movilizaron y poblaron los pulmones de ambos ratones (Huang y col., 2018). Este fenómeno depende de la microbiota, ya que no fue tan pronunciado en animales mantenidos con antibióticos después de la cirugía. Se ha demostrado además que la detección de bac-

terias comensales por parte de las DCs CD103⁺CD11b⁺ intestinales es necesaria para estimular a las CLIS3 para que produzcan IL-22 y migren a los pulmones (Gray y col., 2017). También se planteó la hipótesis de que los factores inmunológicos como IFNs, citoquinas y factores de crecimiento producidos en la mucosa intestinal en respuesta a la estimulación de la microbiota, pueden liberarse a la sangre y actuar sistémicamente o en otros tejidos mucosos (Brown y col., 2017; Zhang y col., 2020; Villena y col., 2020). Por otro lado, existe evidencia de que algunos MAMPs derivados de la microbiota intestinal pueden ser absorbidos y transportados a sitios extraintestinales donde estimulan RRPps expresados en células inmunes y no inmunes e influyen de este modo en las respuestas inmunes (Macpherson y Uhr, 2004; Clarke y col., 2010). Se ha demostrado por ejemplo que el peptidoglicano derivado de la microbiota intestinal puede translocarse a la circulación sanguínea y ser detectado por su receptor NOD1 expresado en neutrófilos mejorando la inmunidad innata sistémica. Se ha observado también que algunos metabolitos microbianos que se absorben en el intestino pueden inducir una modulación diferencial de las respuestas inmunes respiratorias. Este efecto se ha denominado «reprogramación metabólica» e implica que metabolitos como los ácidos grasos de cadena corta (Trompette y col., 2014), la desaminotirosina (Steed y col., 2017) y el ácido docosahexanoico (Fonseca y col., 2017) puede llegar a las células inmunes innatas en el tracto respiratorio, inducir su reprogramación y mejorar sus respuestas a las infecciones. Recientemente se ha demostrado que las bacterias de la microbiota intestinal pueden producir y liberar vesículas de membranas conteniendo ADN bacteriano, las cuales pueden volcarse al torrente sanguíneo y activar a las células inmunes extraintestinales a través del eje CGAS-STING-IFN-I (Erttmann y col., 2022). El estudio encontró que en los animales de experimentación el suero sanguíneo contenía vesículas de membranas con ADN bacteriano proveniente de varios filos bacterianos, incluidos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Actinobacteriota*. Los datos obtenidos respaldan el papel de las vesículas de membranas bacterianas como dispositivos de comunicación intercelular, que permiten que la microbiota intestinal transfiera su estímulo a través de las barreras fisiológicas del hospedador y pueda mediar la activación de células inmunes e incrementar la protección contra patógenos fuera del intestino (Erttmann y col., 2022).

Es importante mencionar que, en los estudios con ratones libres de gérmenes o tratados con antibióticos, cuando se produjo la recolonización con bacterias fue posible restaurar la inmunidad respiratoria a la normalidad (Ichinohe y col., 2011; Abt y col., 2012; Gray y col., 2017; Bradley y col., 2019). Además, se demostró que no todas las bacterias comensales intestinales pueden

contribuir por igual a la inmunocompetencia en el tracto respiratorio (Ichinohe y col., 2011). Estos hallazgos han abierto la posibilidad de explorar cepas particulares de bacterias beneficiosas para aumentar las defensas en el tracto respiratorio. En este sentido, algunas cepas de microorganismos de origen alimentario o aisladas de la microbiota intestinal han sido probadas en sus capacidades para mejorar la resistencia a infecciones respiratorias cuando son administradas por vía oral (Villena y col., 2020; Villena y col., 2021).

Probióticos con efectos beneficiosos en la salud respiratoria

Microorganismos de la microbiota intestinal como potenciadores de las defensas respiratorias

Uno de los microorganismos más conocidos aislados de la microbiota intestinal humana es la cepa *Lacticaseibacillus casei* Shirota. Se ha reportado que la administración oral de esta cepa probiótica es capaz de mejorar la respuesta inmune celular contra el IFV tanto en ratones infantes (Yasui y col., 2004) como ancianos (Hori y col., 2002). *L. casei* Shirota induce un aumento de la actividad de las células NK a nivel sistémico y respiratorio y además mejora la producción de IFN- γ y TNF- α por los linfocitos pulmonares. Efectos similares se describieron para los lactobacilos aislados de intestino humano *Lactobacillus gasseri* TMC0356 y *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG (Kawase y col., 2010). Los microorganismos provenientes de la microbiota intestinal no solo pueden mejorar la inmunidad celular sino también la humoral. Se ha reportado que la administración oral de *Bifidobacterium breve* YIT4064, aislada de las heces de un lactante sano alimentado con leche materna, mejoró la producción de anticuerpos IgG anti-IFV en suero de ratones infectados con IFV (Yasui y col., 1999). La cepa YIT4064 redujo los títulos virales, mejoró la tasa de supervivencia y disminuyó la gravedad de los síntomas asociados con la infección por IFV. Además de los estudios en animales de experimentación, un número creciente de estudios han examinado el efecto de intervenciones nutricionales probióticas sobre la incidencia, la duración y gravedad de las infecciones respiratorias en humanos. Varios ensayos clínicos, revisiones sistemáticas y meta-análisis han sugerido que los probióticos pueden ser efectivos para mejorar la resistencia de niños, adultos e incluso ancianos contra infecciones respiratorias como el resfriado común e infecciones por IFV. En este sentido, un meta-análisis de cuatro ensayos clínicos en los que participaron 1800 niños demostró

que la administración de *L. rhamnosus* GG redujo la incidencia de otitis media aguda, el riesgo de infecciones de las vías respiratorias superiores y los días de tratamientos con antibióticos (Liu y col., 2013). Hallazgos similares se han descrito en adultos. La intervención nutricional con la cepa *L. casei* Shirota fue capaz de disminuir el número de episodios infecciosos respiratorios y los días con síntomas en las personas infectadas (Shida y col., 2017).

Algunas cepas de lactobacilos y bifidobacterias aisladas de la microbiota intestinal son capaces de mejorar las defensas respiratorias contra patógenos intestinales. La *Bifidobacterium longum* 5^{1A}, aislada de heces de un niño sano, fue capaz de reforzar la inmunidad pulmonar protegiendo contra la infección por *K. pneumoniae* en un modelo murino (Vieira y col., 2015). El tratamiento con *B. longum* 5^{1A} indujo una resolución más rápida de la inflamación asociada con una mayor producción de IL-10 y disminuyó el daño pulmonar con una reducción significativa de la carga bacteriana que contribuyó a rescatar al 100 % de los ratones de la muerte. *L. casei* C431, el cual se aisló de una muestra fecal de un lactante sano, es eficiente para mejorar la resistencia a la infección respiratoria por *S. pneumoniae* tanto en ratones inmunocompetentes (Racedo y col., 2006) como en inmunocomprometidos por desnutrición (Villena y col., 2005).

Recientemente se ha propuesto el empleo como probióticos, para mejorar las defensas respiratorias, a cepas pertenecientes a otras especies de microorganismos menos convencionales usualmente presentes en la microbiota intestinal, entre las que se destacan cepas de *Clostridium butyricum* y *Akkermansia muciniphila*. La bacteria aislada de heces de una persona sana *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 (CBM 588) (Stoeva y col., 2021), fue la primera cepa de esta especie en ser comercializada como un probiótico anti-diarrea y que se destaca por su capacidad de producir grandes cantidades de ácido butírico. En estudios *in vivo* se observó que la administración oral de esta bacteria reducía la inflamación de las vías aéreas en modelos de alergia inducida por ovoalbúmina y en la respuesta exacerbada al RSV por el uso de estreptomycin (Juan y col., 2017; Zhu y col., 2021). Se pudo relacionar la modulación de la respuesta inflamatoria con el incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta, principalmente butirato a nivel intestinal, el cual pasó al torrente sanguíneo e inhibió en pulmón las vías NF- κ B, p38, y ERK1. En un estudio clínico en 118 pacientes con cáncer de pulmón se vio una mayor supervivencia y mejor respuesta inmunitaria en el grupo que recibió la cepa MIYAIRI 588 (Tomita y col., 2020). Sin embargo, hasta la fecha no hay estudios clínicos que reporten beneficios del consumo de cepas de *C. butyricum* en la prevención o resolución de infecciones bacterianas o virales. Por otro lado, en los últimos años diferentes estudios han relacionado la disminución de la

abundancia de *A. muciniphila* en la microbiota intestinal con la aparición y el desarrollo de enfermedades no sólo en el sistema digestivo (Qu y col., 2021; Shang y col. 2021) sino también en los sistemas nervioso (Harach y col. 2017), musculoesquelético (Stoll y col., 2019) y respiratorio (Demirci y col. 2019; Michalovich y col., 2019). A nivel respiratorio, abundancias menores de *A. muciniphila* se han asociado a una mayor gravedad del asma (Michalovich y col., 2019). Los estudios *in vivo* en modelos murinos muestran que la administración de *A. muciniphila* reduce significativamente la hiperreactividad y la inflamación de las vías respiratorias en modelos de alergia. La administración de *A. muciniphila* disminuyó significativamente la cantidad de eosinófilos en el lavado bronco-alveolar y de células T CD4 IFN γ ⁺, mientras que aumentó la cantidad de linfocitos IL-10⁺Foxp3⁺ (Demirci y col. 2019). En base a esto se ha propuesto el uso de suplementos dietarios que incrementen de manera directa o indirecta la abundancia *A. muciniphila* con el objeto de inhibir o incluso revertir la progresión de algunas enfermedades, incluyendo patologías respiratorias (Kriebs A., 2019; Ondee y col., 2021).

Microorganismos de alimentos como potenciadores de las defensas respiratorias

Algunos microorganismos inmunomoduladores aislados de alimentos también han mostrado la capacidad para mejorar las defensas en el tracto respiratorio. Se ha reportado que la administración oral de cepas de lactobacilos como *Lactiplantibacillus pentosus* b240 aislado de hojas de té fermentadas (Kobayashi y col., 2011) o *Levilactobacillus brevis* KB290 aislado de vegetales fermentados (Waki y col., 2014) es capaz de mejorar los niveles de IgA respiratoria e IgG en suero antiégeno específicas en ratones desafiados con IFV. La mejora en la respuesta inmune humoral inducida por estas cepas se correlacionó con una reducción significativa de los títulos virales, de la pérdida de peso corporal y con la preservación en funcionalidad pulmonar durante la infección con IFV. También se ha descrito la capacidad de microorganismos provenientes de alimentos para mejorar la respuesta celular en el tracto respiratorio. *L. plantarum* 06CC2, aislado de productos lácteos originarios de Mongolia, mejora la actividad de las células NK y los linfocitos Th1, disminuyendo los títulos de IFV y los cambios patológicos inducidos por el virus en el tejido pulmonar (Takeda y col., 2011). El efecto de microorganismos inmunomoduladores en las defensas respiratorias contra IFV en humanos se han centrado principalmente en sus posibles efectos adyuvantes en la vacunación contra este virus

(Zelaya y col., 2016). Aunque no se han realizado estudios mecanísticos en profundidad, los estudios clínicos muestran pruebas prometedoras de los efectos beneficiosos de los probióticos en la salud respiratoria humana y la resistencia contra el IFV.

En un estudio clínico se evaluó en 109 pacientes la capacidad de la cepa *L. plantarum* DR7, aislada de leche bovina, para reducir la incidencia de infecciones del tracto respiratorio (Chong y col., 2019). El tratamiento con esta cepa redujo los síntomas respiratorios y la incidencia de infecciones en el tracto respiratorio. Su efecto estuvo asociado a la disminución de citoquinas pro-inflamatorias ($IFN-\gamma$, $TNF-\alpha$) a nivel sistémico en adultos de entre 30 y 60 años y a un incremento de la citoquina reguladora IL-10 en adultos jóvenes menores de 30 años, en comparación con el placebo.

Una de las cepas más estudiadas en su capacidad para modular las defensas respiratorias es *L. rhamnosus* CRL1505, la cual fue originalmente aislada de leche de cabra (Salva y col., 2010; Taranto y col., 2013). Este microorganismo inmunomodulador puede incrementar la resistencia a infecciones respiratorias tanto en hospedadores inmunocompetentes como inmunocomprometidos (Salva y col., 2010; Kitazawa y Villena, 2014). Empleando modelos de infección por *S. pneumoniae* en ratones inmunocompetentes e inmunocomprometidos por desnutrición, se observó que la administración oral de *L. rhamnosus* CRL1505, en dosis apropiadas, incrementa la resistencia a la infección neumocócica. Este efecto estuvo asociado a una mayor activación de la respuesta inmune innata y adaptativa, acompañada de una modulación de la respuesta inflamatoria (Salva y col., 2010; Salva y col., 2011). Se demostró también en ratones adultos e infantes inmunocompetentes, que *L. rhamnosus* CRL1505 es capaz de activar la respuesta inmune $Th1$ en intestino e inducir la movilización de linfocitos $T CD3^+ CD4^+ IFN-\gamma^+$ desde placas de Peyer hacia la mucosa respiratoria, incrementando los niveles de $IFN-\gamma$ en pulmón e induciendo una activación de células presentadoras de antígenos $MHC-II^+ CD11c^+ CD11b^low CD103^+$ y $MHC-II^+ CD11c^+ CD11b^high CD103^-$ del tracto respiratorio (Villena y col., 2012b; Chiba y col., 2013) así como de los macrófagos alveolares (García-Castillo y col., 2020). Se observó además que el tratamiento preventivo con la cepa CRL1505 fue capaz de disminuir el daño pulmonar inducido por la respuesta inflamatoria mediada por la activación de TLR3, a través de su capacidad para incrementar los niveles de IL-27 e IL-6 producidos por los macrófagos alveolares, las cuales estimulan a los linfocitos productores de IL-10 en pulmón (García-Castillo y col., 2020). Los cambios inducidos por *L. rhamnosus* CRL1505 en el tracto respiratorio incrementan la resistencia a la infección con RSV (Villena y col., 2012b; Chiba y col., 2013) y con IFV (Zelaya y col., 2014).

L. rhamnosus CRL1505 se utilizó para desarrollar un alimento probiótico a base a leche de vaca (yogur probiótico) y se evaluó su efecto sobre la salud de niños que concurrían a centros comunitarios de zonas con necesidades básicas insatisfechas de la Provincia de Tucumán (Villena y col., 2012a). Este fue un ensayo clínico a doble ciego, en el cual se administró yogur probiótico a una población de niños de 2 a 6 años, durante 6 meses. Los resultados se evaluaron en forma comparativa con una población similar que recibió un alimento placebo sin probiótico de características análogas. Los resultados obtenidos mostraron que la administración del alimento probiótico redujo la incidencia de infecciones en general (34 % vs. 66 % - grupo yogur vs grupo placebo), detectándose diferencias significativas en la incidencia de catarro de vías aéreas superiores (31 % vs. 69 %) y anginas (28 % vs. 72 %). El estudio demostró que los niños alimentados con el probiótico sufrieron menor cantidad de cuadros febriles y tomaron menos antibióticos que los que recibieron placebo. Además, el efecto preventivo del yogur probiótico estuvo asociado al aumento IgA en saliva (Villena y col., 2012a). Este producto probiótico fue incorporado al programa de alimentación que se implementa en escuelas de Tucumán y otras provincias argentinas, en las que se lo suministra de forma gratuita. Estos resultados evidencian la factibilidad de transferencia de investigaciones básicas que conducen a desarrollos biotecnológicos de aplicación en humanos.

Conclusiones

Los avances científicos de las últimas décadas sobre la microbiota intestinal y los microorganismos beneficiosos han mejorado nuestro entendimiento de la relación que existe entre la dieta y la salud general del organismo, incluyendo la salud del tracto respiratorio. Una alimentación saludable capaz de mantener una microbiota intestinal balanceada no solo puede tener efectos beneficiosos en la salud intestinal, sino que además, debido a la existencia del eje intestino-pulmón, puede mejorar la salud respiratoria. Los estudios científicos presentados y resumidos en este capítulo muestran la importancia de incorporar probióticos en la dieta como forma de mejorar las defensas respiratorias y disminuir la susceptibilidad de enfermedades infecciosas virales y bacterianas. El estudio y desarrollo de nuevos probióticos con efecto sobre eje intestino-pulmón puede ser crítico en el futuro para ayudar a controlar, reducir y mitigar las infecciones causadas tanto por patógenos virales respiratorios emergentes como por la aparición de bacterias multiresistentes, con potencialidad de convertirse en nuevas epidemias y pandemias.

Referencias bibliográficas

- Abt, M. C.; Osborne, L. C. (...) & Artis, D.** (2012). Commensal bacteria calibrate the activation threshold of innate antiviral immunity. *Immunity*, 37(1), 158-170. 10.1016/j.immuni.2012.04.011
- Aegerter, H.; Lambrecht, B. N. & Jakubzick, C. V.** (2022). Biology of lung macrophages in health and disease. *Immunity*, 55(9), 1564-1580. 10.1016/j.immuni.2022.08.010
- Antunes, K. H.; Fachi, J. L. (...) & de Souza, A. P. D.** (2019). Microbiota-derived acetate protects against respiratory syncytial virus infection through a GPR43-type 1 interferon response. *Nature Communications*, 10(1), 3273. 10.1038/s41467-019-11152-6
- Beck, K.; Ohno, H. & Satoh-Takayama, N.** (2020). Innate lymphoid cells: Important regulators of host–bacteria interaction for border defense. *Microorganisms*, 8(9), 1342. 10.3390/microorganisms8091342
- Bradley, K. C.; Finsterbusch, K. (...) & Wack, A.** (2019). Microbiota-driven tonic interferon signals in lung stromal cells protect from influenza virus infection. *Cell Reports*, 28(1), 245-256. 10.1016/j.celrep.2019.05.105
- Brown, R. L.; Sequeira, R. P. & Clarke, T. B.** (2017). The microbiota protects against respiratory infection via GM-CSF signaling. *Nature Communications*, 8(1), 1512. 10.1038/s41467-017-01803-x
- Chiba, E.; Tomosada, Y. (...) & Villena, J.** (2013). Immunobiotic *Lactobacillus rhamnosus* improves resistance of infant mice against respiratory syncytial virus infection. *International immunopharmacology*, 17(2), 373-382. 10.1016/j.intimp.2013.06.024
- Chong, H. X.; Yusoff, N. A. A. (...) & Liong, M. T.** (2019). *Lactobacillus plantarum* DR7 improved upper respiratory tract infections via enhancing immune and inflammatory parameters: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Dairy Science*, 102(6), 4783-4797. 10.3168/jds.2018-16103
- Clarke, T. B.; Davis, K. M. (...) & Weiser, J. N.** (2010). Recognition of peptidoglycan from the microbiota by Nod1 enhances systemic innate immunity. *Nature Medicine*, 16(2), 228-231. <https://doi.org/10.1038/nm.2087>.
- Demirci, M.; Tokman, H. B. (...) & Kocazeybek, B. S.** (2019). Reduced *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* levels in the gut microbiota of children with allergic asthma. *Allergologia et Immunopathologia*, 47(4), 365-371. 10.1016/j.aller.2018.12.009
- Erttmann, S. F.; Swacha, P. (...) & Gekara, N. O.** (2022). The gut microbiota prime systemic antiviral immunity via the cGAS-STING-IFN-I axis. *Immunity*, 55(5), 847-861. 10.1016/j.immuni.2022.04.006
- Felix, K. M.; Jaimez, I. A. (...) & Wu, H. J. J.** (2018). Gut microbiota contributes to resistance against pneumococcal pneumonia in immunodeficient Rag^{-/-} mice. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, 118. 10.3389/fcimb.2018.00118
- Fonseca, W.; Lucey, K. (...) & Lukacs, N. W.** (2017). *Lactobacillus johnsonii* supplementation attenuates respiratory viral infection via metabolic reprogramming and immune cell modulation. *Mucosal Immunology*, 10(6), 1569-1580. 10.1038/mi.2017.13

- Garcia–Castillo, V.; Tomokiyo (...)** & **Villena, J.** (2020). Alveolar macrophages are key players in the modulation of the respiratory antiviral immunity induced by orally administered *Lactocaseibacillus rhamnosus* CRL1505. *Frontiers in Immunology*, 11, 568636. 10.3389/fimmu.2020.568636
- Gauguet, S.; D'Ortona, S. (...)** & **Pier, G. B.** (2015). Intestinal microbiota of mice influences resistance to *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Infection and Immunity*, 83(10), 4003-4014. 10.1128/IAI.00037-15
- Gray, J.; Oehle, K. (...)** & **Deshmukh, H.** (2017). Intestinal commensal bacteria mediate lung mucosal immunity and promote resistance of newborn mice to infection. *Science Translational Medicine*, 9(376), eaaf9412. 10.1126/scitranslmed.aaf9412
- Harach, T.; Marungruang, N. (...)** & **Bolmont, T.** (2017). Reduction of Abeta amyloid pathology in APPPS1 transgenic mice in the absence of gut microbiota. *Scientific Reports*, 7(1), 1-15. 10.1038/srep41802
- Hewitt, R. J. & Lloyd, C. M.** (2021). Regulation of immune responses by the airway epithelial cell landscape. *Nature Reviews Immunology*, 21(6), 347-362. 10.1038/s41577-020-00477-9
- Holt, P. G.; Strickland, D. H. (...)** & **Jahnsen, F. L.** (2008). Regulation of immunological homeostasis in the respiratory tract. *Nature Reviews Immunology*, 8(2), 142-152. 10.1038/nri2236
- Hori, T.; Kiyoshima, J. (...)** & **Yasui, H.** (2002). Augmentation of cellular immunity and reduction of influenza virus titer in aged mice fed *Lactobacillus casei* strain Shirota. *Clinical and Vaccine Immunology*, 9(1), 105-108. 10.1128/CDLI.9.1.105-108.2002
- Huang, Y.; Mao, K. (...)** & **Germain, R. N.** (2018). S1P-dependent interorgan trafficking of group 2 innate lymphoid cells supports host defense. *Science*, 359(6371), 114-119. 10.1126/science.aam5809
- Huffnagle, G. B.; Dickson, R. P. & Lukacs, N. W.** (2017). The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street. *Mucosal Immunology*, 10(2), 299-306. 10.1038/mi.2016.108.
- Ichinohe, T.; Pang, I. K. (...)** & **Iwasaki, A.** (2011). Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(13), 5354-5359.
- Juan, Z.; Zhao–Ling, S. (...)** & **Xin, S.** (2017). Oral administration of *Clostridium butyricum* CGMCC0313–1 reduces ovalbumin–induced allergic airway inflammation in mice. *Respirology*, 22(5), 898-904. 10.1111/resp.12985
- Kawase, M.; He, F. (...)** & **Hiramatsu, M.** (2010). Oral administration of lactobacilli from human intestinal tract protects mice against influenza virus infection. *Letters in Applied Microbiology*, 51(1), 6-10. 10.1111/j.1472-765X.2010.02849.x
- Kitazawa, H. & Villena, J.** (2014). Modulation of respiratory TLR3-anti-viral response by probiotic microorganisms: lessons learned from *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505. *Frontiers in Immunology*, 5, 201.
- Kobayashi, N.; Saito, T. (...)** & **Suzuki, T.** (2011). Oral administration of heat-killed *Lactobacillus pentosus* strain b240 augments protection against influenza virus infection in mice. *International Immunopharmacology*, 11(2), 199-203. 10.1016/j.intimp.2010.11.019
- Kriebs, A.** (2019). Microbiota supplements to improve metabolic health. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(9), 500-501. 10.1038/s41574-019-0241-3

- Liu, S.; Hu, P. (...) & Pei, X.** (2013). *Lactobacillus rhamnosus* GG supplementation for preventing respiratory infections in children: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Indian Pediatrics*, 50, 377-381. 10.1007/s13312-013-0123-z
- Macpherson, A. J. & Uhr, T.** (2004). Induction of protective IgA by intestinal dendritic cells carrying commensal bacteria. *Science*, 303(5664), 1662-1665. 10.1126/science.1091334
- Mettelman, R. C.; Allen, E. K. & Thomas, P. G.** (2022). Mucosal immune responses to infection and vaccination in the respiratory tract. *Immunity*, 55(5), 749-780. 10.1016/j.immuni.2022.04.013.
- Michalovich, D.; Rodriguez-Perez, N. (...) & O'Mahony, L.** (2019). Obesity and disease severity magnify disturbed microbiome-immune interactions in asthma patients. *Nature Communications*, 10(1), 5711. 10.1038/s41467-019-13751-9.
- Neupane, A. S.; Willson, M. (...) & Kubes, P.** (2020). Patrolling alveolar macrophages conceal bacteria from the immune system to maintain homeostasis. *Cell*, 183(1), 110-125. 10.1016/j.cell.2020.08.020.
- Ondee, T.; Pongpirul, K. (...) & Leelahavanichkul, A.** (2021). *Lactobacillus acidophilus* LA5 improves saturated fat-induced obesity mouse model through the enhanced intestinal *Akkermansia muciniphila*. *Scientific Reports*, 11(1), 6367. 10.1038/s41598-021-85449-2.
- Qu, S.; Fan, L. (...) & Si, J.** (2021). *Akkermansia muciniphila* alleviates dextran sulfate sodium (DSS)-induced acute colitis by NLRP3 activation. *Microbiology Spectrum*, 9(2), e00730-21. 10.1128/Spectrum.00730-21.
- Racedo, S.; Villena, J. (...) & Alvarez, S.** (2006). *Lactobacillus casei* administration reduces lung injuries in a *Streptococcus pneumoniae* infection. *Microbes and Infection*, 8, 2359-2366.
- Salva, S.; Villena, J. & Alvarez, S.** (2010). Immunomodulatory activity of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from goat milk: impact on intestinal and respiratory infections. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 82-89.
- Salva, S.; Nuñez, M. (...) & Alvarez, S.** (2011). Development of a fermented goats' milk containing *Lactobacillus rhamnosus*: in vivo study of health benefits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(13), 2355-2362.
- Schuijt, T. J.; Lankelma, J. M. ... & Wiersinga, W. J.** (2016). The gut microbiota plays a protective role in the host defence against pneumococcal pneumonia. *Gut*, 65(4), 575-583. 10.1136/gutjnl-2015-309728.
- Shang, Q.; Sun, W. (...) & Yu, G.** (2017). Carrageenan-induced colitis is associated with decreased population of anti-inflammatory bacterium, *Akkermansia muciniphila*, in the gut microbiota of C57BL/6J mice. *Toxicology Letters*, 279, 87-95.
- Shida, K.; Sato, T. (...) & Ishikawa, F.** (2017). Daily intake of fermented milk with *Lactobacillus casei* strain Shirota reduces the incidence and duration of upper respiratory tract infections in healthy middle-aged office workers. *European Journal of Nutrition*, 56, 45-53. 10.1007/s00394-015-1056-1
- Steed, A. L.; Christophi, G. P. (...) & Stappenbeck, T. S.** (2017). The microbial metabolite desaminotyrosine protects from influenza through type I interferon. *Science*, 357(6350), 498-502. doi:10.1126/science.aam5336.
- Stoeva, M. K.; Garcia-So, J. (...) & Eid, J.** (2021). Butyrate-producing human gut symbiont, *Clostridium butyricum*, and its role in health and disease. *Gut Microbes*, 13(1), 1907272. 10.1080/19490976.2021.1907272.

- Stoll, M. L.; Pierce, M. K. (...) & Schoeb, T. R.** (2019). *Akkermansia muciniphila* is permissive to arthritis in the K/BxN mouse model of arthritis. *Genes & Immunity*, 20(2), 158-166. 10.1038/s41435-018-0024-1.
- Takeda, S.; Takeshita, M. (...) & Kurokawa, M.** (2011). Efficacy of oral administration of heat-killed probiotics from Mongolian dairy products against influenza infection in mice: alleviation of influenza infection by its immunomodulatory activity through intestinal immunity. *International Immunopharmacology*, 11(12), 1976-1983. 10.1016/j.intimp.2011.08.007.
- Taranto, M. P.; Villena, J. (...) & Hebert, E. M.** (2013). Draft genome sequence of *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505, an immunobiotic strain used in social food programs in Argentina. *Genome Announcements*, 1(4), e00627-13.
- Tomita, Y.; Ikeda, T. (...) & Sakagami, T.** (2020). Association of probiotic *Clostridium butyricum* therapy with survival and response to immune checkpoint blockade in patients with lung cancer: probiotic therapy impacts cancer immunotherapy. *Cancer Immunology Research*, 8(10), 1236-1242. 10.1158/2326-6066.CIR-20-0051.
- Trompette, A.; Gollwitzer, E. S. (...) & Marsland, B. J.** Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nature Medicine*. 2014 Feb;20(2):159-66. 10.1038/nm.3444.
- Vieira, A. T.; Rocha, V. M. (...) & Nicoli, J. R.** (2016). Control of *Klebsiella pneumoniae* pulmonary infection and immunomodulation by oral treatment with the commensal probiotic *Bifidobacterium longum* 5^{1A}. *Microbes and Infection*, 18(3), 180-189. 10.1016/j.micinf.2015.10.008.
- Villena, J.; Racedo, S. (...) & Alvarez, S.** (2005). *Lactobacillus casei* improves resistance to pneumococcal respiratory infection in malnourished mice. *Journal of Nutrition*, 135, 1462-1469.
- Villena, J. C.; Salva, M. S. (...) & Alvarez, S.** (2012a). Probiotics for everyone! The novel immunobiotic *Lactobacillus rhamnosus* CRL1505 and the beginning of Social Probiotic Programs in Argentina.
- Villena, J.; Chiba, E. (...) & Alvarez, S.** (2012b). Orally administered *Lactobacillus rhamnosus* modulates the respiratory immune response triggered by the viral pathogen-associated molecular pattern poly (I: C). *BMC Immunology*, 13(1), 1-15.
- Villena, J. & Kitazawa, H.** (2020). The modulation of mucosal antiviral immunity by immunobiotics: could they offer any benefit in the SARS-CoV-2 pandemic? *Frontiers in Physiology*, 11, 699. 10.3389/fphys.2020.00699.
- Villena, J.; Li, C. (...) & Kitazawa, H.** (2021). *Lactiplantibacillus plantarum* as a potential adjuvant and delivery system for the development of SARS-CoV-2 oral vaccines. *Microorganisms*, 9(4), 683. 10.3390/microorganisms9040683.
- Waki, N.; Yajima, N. (...) & Zheng, T.** (2014). Oral administration of *Lactobacillus brevis* KB290 to mice alleviates clinical symptoms following influenza virus infection. *Letters in Applied Microbiology*, 58(1), 87-93. 10.1111/lam.12160.
- Wang, H.; Lian, P. (...) & Qiao, J.** (2018). TLR4 deficiency reduces pulmonary resistance to *Streptococcus pneumoniae* in gut microbiota-disrupted mice. *PLoS One*, 13(12), e0209183. 10.1371/journal.pone.0209183.
- Weinstock, J.; Chen, X. X. (...) & Rastogi, D.** (2021). The interplay between airway epithelium and the immune system—a primer for the respiratory clinician. *Paediatric Respiratory Reviews*, 38, 2-8. 10.1016/j.prv.2021.03.002.

- Yasui, H.; Kiyoshima, J. & Hori, T.** (2004). Reduction of influenza virus titer and protection against influenza virus infection in infant mice fed *Lactobacillus casei* Shirota. *Clinical and Vaccine Immunology*, 11(4), 675-679. 10.1128/CDLI.11.4.675-679.2004.
- Yasui, H.; Kiyoshima, J. (...) & Shida, K.** (1999). Protection against influenza virus infection of mice fed *Bifidobacterium breve* YIT4064. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, 6(2), 186-192. 10.1128/cdli.6.2.186-192.1999
- Zelaya, H.; Alvarez, S. (...) & Villena, J.** (2016). Respiratory antiviral immunity and immunobiotics: beneficial effects on inflammation-coagulation interaction during influenza virus infection. *Frontiers in Immunology*, 7, 633. 10.3389/fimmu.2016.00633.
- Zelaya, H.; Tsukida, K. (...) & Villena, J.** (2014). Immunobiotic lactobacilli reduce viral-associated pulmonary damage through the modulation of inflammation-coagulation interactions. *International Immunopharmacology*, 19(1), 161-173.
- Zepp, J. A. & Morrisey, E. E.** (2019). Cellular crosstalk in the development and regeneration of the respiratory system. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(9), 551-566. 10.1038/s41580-019-0141-3.
- Zhang, D.; Li, S. (...) & Feng, Y.** (2020). The cross-talk between gut microbiota and lungs in common lung diseases. *Frontiers in Microbiology*, 11, 301. doi:10.3389/fmicb.2020.00301.
- Zhu, W.; Wang, J. (...) & Liu, B.** (2021). Oral administration of *Clostridium butyricum* rescues streptomycin-exacerbated respiratory syncytial virus-induced lung inflammation in mice. *Virulence*, 12(1), 2133-2148. 10.1080/21505594.2021.1962137.

Capítulo 4

La microbiota del tracto respiratorio y bacterias comensales respiratorias como probióticos de nueva generación

Julio Villena, Mariano Elean y Leonardo Albarracín

Los avances en las herramientas omicas y en la bioinformática han permitido análisis más profundos de los transcritos, proteínas y metabolitos respiratorios, y han ampliado enormemente la comprensión del rol de la microbiota en la fisiología del tracto respiratorio. Un estudio pionero realizado por Hilty y col. (2010) utilizó la secuenciación del ARNr 16S independiente del cultivo y reveló diferencias en las comunidades microbianas encontradas en distintas secciones del tracto respiratorio sano en relación con las encontradas en el tracto respiratorio de pacientes con asma o con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC). En las dos últimas décadas, otros estudios han confirmado estas observaciones, lo que ha permitido clarificar en parte el papel de la microbiota respiratoria en la salud y la enfermedad. Las enfermedades respiratorias, y en particular las patologías pulmonares crónicas, son consecuencia de múltiples capas de regulación y desregulación de procesos fisiológicos e inmunológicos, muchas de los cuales son impulsadas o afectadas por los microorganismos presentes en el tracto respiratorio.

La microbiota respiratoria en individuos sanos

Mientras que la composición del microbioma del intestino, piel, cavidad oral y el tracto urogenital se han estudiado extensamente, solo se han obtenido datos equivalentes sobre el microbioma respiratorio en los últimos años. Esto se debe a la antigua creencia de que el pulmón era estéril en condiciones de buena salud y las dificultades asociadas con la obtención de muestras del tracto respiratorio inferior, particularmente de individuos sanos (Di Simone y col., 2023). El tracto respiratorio en un humano adulto tiene una superficie de aproximadamente 70 m², que es 40 veces mayor que la superficie de la piel. Toda esta superficie está habitada por comunidades microbianas con las densidades microbianas más altas observadas en el tracto respiratorio superior.

Considerando que existen gradientes fisiológicos a lo largo de la cavidad nasal, la nasofaringe, la orofaringe, la tráquea, los bronquios y los pulmones (figura 1), se especuló que diferentes poblaciones de microorganismos se establecerían en las distintas porciones del tracto respiratorio. El pH aumenta gradualmente a lo largo del tracto respiratorio, mientras que los mayores valores de humedad relativa y temperatura se encuentran en la cavidad nasal. Además, las presiones parciales de oxígeno (O_2) y dióxido de carbono (CO_2) tienen gradientes opuestos ya que están determinados por las condiciones ambientales del aire y el intercambio de gases en los espacios alveolares. Por otro lado, la inhalación da como resultado la deposición de partículas del medio ambiente en el tracto respiratorio. Mientras que las partículas inhaladas que tienen más de $10\ \mu m$ de diámetro se depositan en el tracto respiratorio superior, las partículas de menos de $1\ \mu m$ de diámetro pueden llegar a los pulmones (Man y col., 2017). Estos parámetros fisiológicos podrían generar condiciones de crecimiento selectivas y específicas en los distintos nichos del tracto respiratorio, lo que finalmente daría forma a las comunidades microbianas a lo largo de la mucosa respiratoria. Sin embargo, se ha observado que en condiciones de salud no existen diferencias notables entre las poblaciones de microorganismos de los tractos respiratorios superior e inferior (figura 1).

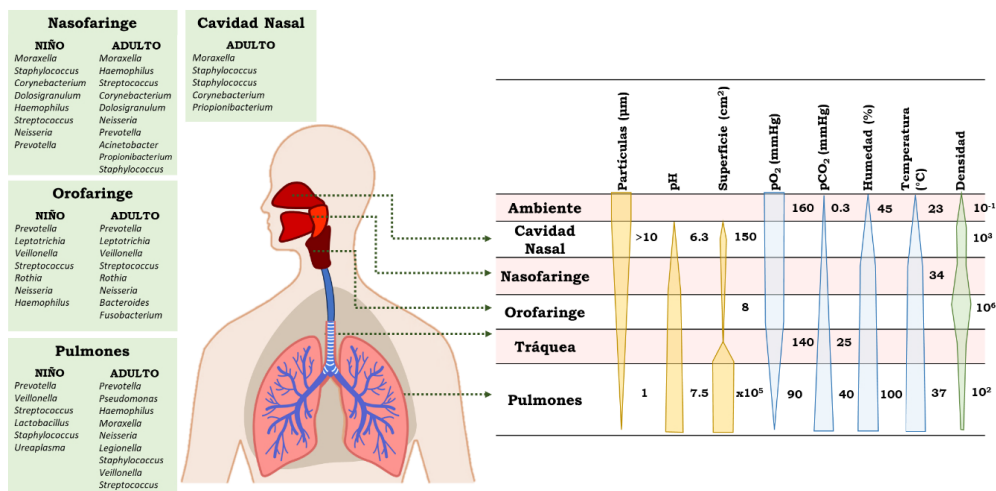


Figura 1. Microbiota respiratoria y condiciones fisiológicas en las diferentes secciones del tracto respiratorio saludable. (Adaptado de Man y col., 2017)

El tracto respiratorio superior, que incluye la cavidad nasal, los senos paranasales, la faringe y la región supraglótica de la laringe, está en gran parte colonizada con bacterias. Los taxones dominantes en la cavidad nasal y la nasofaringe incluyen *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Haemophilus* y *Streptococcus*, mientras que la orofaringe exhibe una gran abundancia de *Prevotella*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Leptotrichia*, *Rothia*, *Neisseria* y *Haemophilus* (Natalini y col., 2023). Además de bacterias, se han encontrado varios virus y hongos en el tracto respiratorio superior de personas sanas. Se han identificado rinovirus humanos, bocavirus, adenovirus, coronavirus, polimavirus y virus de la familia *Anneloviridae* en el tracto respiratorio superior de niños sanos asintomáticos utilizando métodos basados en PCR y metagenómica (Bogaert y col., 2011; Altan y col., 2019). Curiosamente, en adultos sanos estos virus se detectan con menos frecuencia que en niños asintomáticos, lo que sugiere que los cambios en la carga viral del tracto respiratorio superior dependen de la edad y probablemente estén asociados a variaciones del ecosistema (Sundell y col., 2019). Por otro lado, se ha reportado la presencia de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Candida* y *Alternaria* como géneros de hongos que se encuentran en el tracto respiratorio superior de personas sanas (Charlson y col., 2012).

Por el contrario, el tracto respiratorio inferior, compuesto por la tráquea, bronquios y parénquima pulmonar, exhibe una biomasa microbiana relativamente baja, mantenida por la eliminación microbiana rápida a través de una serie de mecanismos fisiológicos. En los individuos sanos, la microbiota pulmonar residente se mantiene a través de un equilibrio entre la inmigración microbiana y su eliminación. La inhalación, la dispersión mucosa (ascenso/descenso de microorganismos a lo largo de la mucosa respiratoria) y la microaspiración de líquido orofaríngeo o gástrico pueden introducir microorganismos en el tracto respiratorio, mientras que el movimiento mucociliar y la actividad fagocítica juegan un papel vital en la eliminación de microbios (Di Simone y col., 2023). De este modo, los hallazgos recientes han desafiado la conceptualización de que el entorno microbiano pulmonar es una entidad estática, y han enfatizado el equilibrio dinámico entre la inmigración microbiana y la eliminación (Natalini y col., 2023; Di Simone y col., 2023). Es por ello por lo que se considera que la composición de la microbiota pulmonar en personas saludables se asemeja mucho a la del tracto respiratorio superior, en particular a la de la región periglótica (Whiteside y col., 2021). En los pulmones sanos, hay seis filos bacterianos dominantes: *Firmicutes* (incluidos los géneros *Streptococcus* y *Veillonella*), *Bacteroides* (incluido el género *Prevotella*), *Proteobacteria*, *Fusobacteria*, *Acidobacteria* y *Actinobacteria* (incluido *Tropheryma whippelii*) (Barcik y col., 2020; Di Simone y col., 2023). Los niveles bacterianos son

mayores en las regiones pulmonares más proximales y también se han detectado modestas diferencias regionales, lo que sugiere una eliminación diferencial de microorganismos y una replicación local muy limitada (Dickson y col., 2015). En las enfermedades pulmonares, el equilibrio entre la inmigración y la eliminación de microorganismos en el tracto respiratorio se puede ver afectada, lo que lleva a alteraciones en la microbiota pulmonar, donde predominan las bacterias que presentan ventajas competitivas (Invernizzi y col., 2020). Por ejemplo, en algunas enfermedades pulmonares crónicas, una mayor producción de moco promueve el crecimiento bacteriano ya que conduce a la formación de zonas con baja concentración de oxígeno y alta temperatura que favorecen la selección y el mantenimiento de bacterias específicas (Dickson y Huffnagle, 2015).

Los avances científicos también han comenzado a dilucidar las funciones beneficiosas de la microbiota respiratoria en la salud del huésped. Los avances más notables se han realizado en relación con su capacidad para evitar la colonización de microorganismos patógenos y disminuir la susceptibilidad a infecciones. Para la mayoría de los patógenos respiratorios, la colonización del epitelio de las vías aéreas o de los espacios alveolares es un primer paso necesario antes de poder replicarse y diseminarse (Man y col., 2017). La inhibición de este primer paso de la patogenicidad de las infecciones respiratorias por parte de la microbiota residente, un proceso denominado «resistencia a la colonización», es de suma importancia para la salud respiratoria (Andrade y col., 2022). Las bacterias comensales respiratorias pueden colonizar la superficie epitelial ocupando los sitios de unión de los patógenos y evitando su contacto con las células del huésped (figura 2). Los microorganismos respiratorios también pueden competir con los patógenos a través de la producción de compuestos antimicrobianos o por el consumo de nutrientes necesarios para el mantenimiento de su viabilidad.

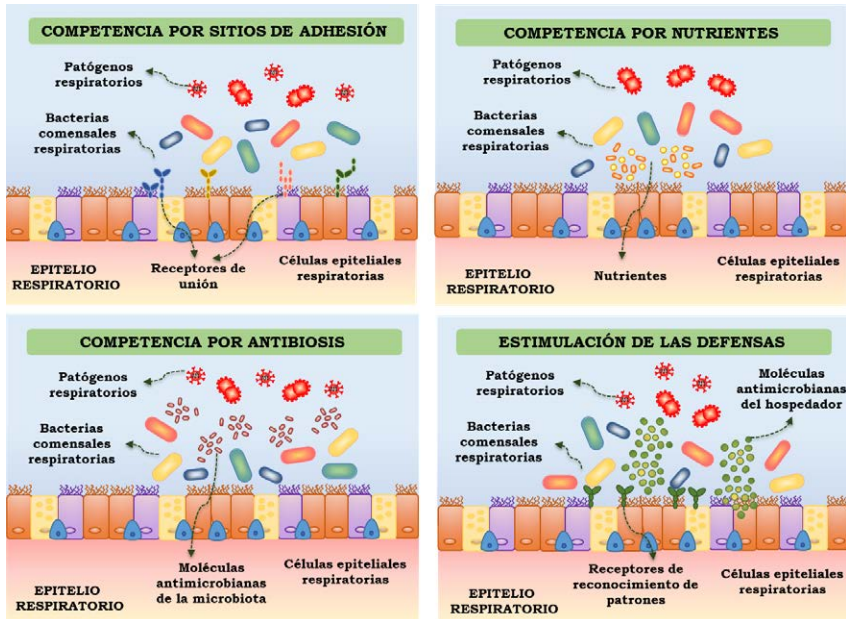


Figura 2. Funciones protectoras de la microbiota respiratoria contra patógenos

El epitelio respiratorio está cubierto por moco, el cual es un importante nicho ecológico para la microbiota ya que promueve interacciones saludables entre microorganismos y células epiteliales a través de la formación de una delgada capa móvil que está sostenida por la capa periciliar de las células epiteliales respiratorias. Las células epiteliales también producen péptidos antimicrobianos que colaboran en el control del crecimiento de microorganismos en la mucosa respiratoria. Estas dos funciones, la producción de moco y péptidos antimicrobianos se mantiene en parte por las señales brindadas por la microbiota respiratoria (Invernizzi y col., 2020). Por otro lado, estudios en ratones sugieren que la microbiota pulmonar juega un papel importante en el desarrollo inmunológico local. En ratones libres de gérmenes, las respuestas inflamatorias pulmonares son exageradas, y animales neonatos exhiben respuestas robustas a los alérgenos, cambios que se pueden revertir a medida que aumenta la carga bacteriana y las células T reguladoras aumentan en número en el tracto respiratorio (Herbst y col., 2011; Gollwitzer y col., 2014). También se ha visto que ratones tratados con antibióticos tienen una mayor susceptibilidad a las infecciones respiratorias después de la exposición a patógenos

(Brown y col., 2017). De este modo, la microbiota respiratoria tiene un papel clave en las defensas contra patógenos.

Establecimiento de la microbiota respiratoria

Se considera que la microbiota respiratoria se adquiere durante y después del nacimiento, con un desarrollo altamente estructurado que ocurre durante los primeros meses de vida hasta que se alcanza una población microbiana estable. Se ha reportado que bacterias pertenecientes a los géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Prevotella*, *Moraxella*, *Haemophilus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* son los colonizadores iniciales del tracto respiratorio luego del nacimiento y que su colonización temprana contribuye al establecimiento de una comunidad microbiana equilibrada y dinámica en ausencia de enfermedad (Di Simone y col., 2023). Tanto factores intrínsecos como extrínsecos pueden influir en la composición del microbioma respiratorio en los primeros años de vida incluyendo: a) el modo de nacimiento, b) los métodos de alimentación del recién nacido, y c) las infecciones neonatales y el tratamiento antibiótico.

Para los bebés nacidos por vía vaginal, la mayoría de las bacterias pulmonares e intestinales parecen originarse a partir de la vagina o el intestino materno, mientras que la piel y el ambiente externo son las fuentes dominantes de microorganismos en los partos por cesárea (Pattaroni y col., 2018). Se observó que en la nasofaringe de recién nacidos a término, sanos y que nacieron por vía vaginal, la microbiota es diversa y está dominado por bacterias comensales respiratorias como *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* en las primeras semanas de vida en comparación con bebés nacidos por cesárea (Bosch y col., 2016).

Mientras que el impacto de la leche materna y la alimentación con fórmula sobre la composición de la microbiota intestinal ha sido ampliamente estudiado, sus efectos sobre la microbiota respiratoria en los primeros años de vida no se han evaluado en profundidad. Un estudio que comparó la microbiota de nasofaringe de niños alimentados exclusivamente con leche materna o con fórmula a las 6 semanas y a los 6 meses de edad, encontró diferencias significativas en las comunidades bacterianas a las 6 semanas, pero no a los 6 meses al contrastar ambos grupos (Biesbroek y col., 2014a). Las bacterias comensales respiratorias *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* fueron más abundantes en los bebés alimentados con leche materna que en los que recibieron fórmula, una observación que fue corroborada por estudios posteriores (Biesbroek y col., 2014b; Bosch y col., 2017). Llamativamente, los lactantes con mayor abun-

dancia de *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* experimentaron tasas más bajas de enfermedades infecciosas respiratorias (Biesbroek y col., 2014b).

Las infecciones respiratorias y las respuestas inmunitarias resultantes también tienen la capacidad de alterar la microbiota respiratoria (Di Simone y col., 2023). Estudios en recién nacidos que experimentaron una o múltiples infecciones del tracto respiratorio observaron que la disminución de *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* en la nasofaringe se correlacionó con el predominio temprano de *Moraxella* (Bosch y col., 2016). Por otro lado, el tratamiento antibiótico de las madres y/o los bebés recién nacidos puede tener un impacto profundo en el desarrollo de la microbiota respiratoria (Di Simone y col., 2023). La administración de penicilina a las madres durante el parto reduce la transmisión madre-hijo de *Lactobacillus*, bacterias que residen normalmente en la mucosa vaginal (Keski-Nisula y col., 2013). Se considera que los lactobacilos son unos de los primeros colonizadores de las vías respiratorias del lactante y se ha sugerido que su presencia está asociada a la disminución de la incidencia de algunas enfermedades alérgicas en la infancia, como el asma y la rinitis alérgica (Di Simone y col., 2023).

Se ha postulado que el establecimiento normal de la microbiota en la nasofaringe seguiría una cinética caracterizada por una primera y rápida colonización de *S. aureus* en las primeras semanas de vida, seguida por la colonización y crecimiento de los comensales Gram positivos *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* (figura 3). A partir de las seis semanas de edad, la nasofaringe se poblaría de *Moraxella* spp., la cual dominaría este nicho a la edad de tres meses (de Steenhuijsen Piters y col., 2020).

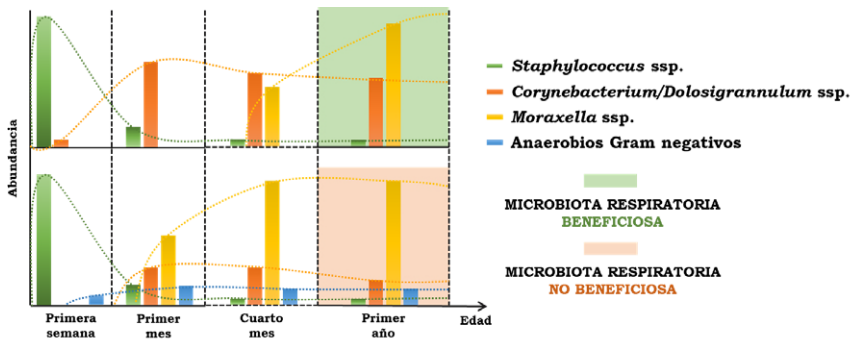


Figura 3. Establecimiento de la microbiota respiratoria durante el primer año de vida. (Adaptado de Steenhuijsen Piters y col., 2020)

Como se mencionó anteriormente, estos patrones de maduración microbiana en la nasofaringe se ven fuertemente afectados por factores ambientales y del huésped. La abundancia de *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* en lactantes nacidos de parto vaginal y alimentados con leche materna se ve modificada por la aparición de anaerobios incluidos *Prevotella*, *Veillonella* y *Porphyromonas* en niños nacidos por cesárea y alimentados con fórmula (Bosch y col., 2017) (figura 3). Por otro lado, no se conoce en detalle cómo se establece la microbiota en el tracto respiratorio inferior. Las diferencias entre los tractos respiratorios superior y el inferior en el contexto de la vida temprana son importantes ya que estos dos sitios anatómicos representan hábitats diferentes. El tracto respiratorio superior experimenta una exposición constante al ambiente externo desde el primer momento de la vida, lo que da forma a la microbiota de esta porción de la mucosa respiratoria. Se ha demostrado que a las 24 horas después del nacimiento se puede detectar ADN bacteriano en el tracto respiratorio inferior de los recién nacidos (Wypych y col., 2019). No se han podido realizar estudios más profundos en este sentido dada la limitada accesibilidad de este nicho y la baja densidad bacteriana, especialmente en niños sanos. Sin embargo es posible especular que, en condiciones normales, la microbiota del tracto respiratorio inferior no diferiría de la del tracto superior al ponerse en marcha el equilibrio dinámico entre la inmigración microbiana y la eliminación. Llamativamente, no se observaron diferencias entre bebés nacidos por parto natural o por cesárea cuando se analizó la microbiota pulmonar. En ambos casos se detectó una microbiota compuesta por bacterias de los géneros *Streptococcus*, *Neisseria*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Veillonella*, y *Fusobacterium* (Pattaroni y col., 2018). Estas observaciones enfatizan la necesidad de realizar estudios más profundos al respecto.

Debe destacarse la importancia de la formación y desarrollo de la microbiota respiratoria en los primeros años de vida, ya que se postula que este proceso puede tener efectos duraderos en la salud respiratoria (de Steenhuijsen Piters y col., 2020). Por ejemplo, se ha reportado que una transición prematura de *Staphylococcus* a un perfil dominado por *Moraxella* en el tracto respiratorio superior dentro del primer mes de vida, omitiendo la fase temprana de predominio de *Corynebacterium* y *Dolosigranulum*, se asocia con infecciones respiratorias más frecuentes en el primer año de vida (Bosch y col., 2017). La relación entre el desarrollo temprano de la microbiota respiratoria y la susceptibilidad a las infecciones, así como a enfermedades respiratorias en la adultez-vejez ha sido demostrado por varias cohortes longitudinales, como se discutirá más adelante.

Disbiosis de la microbiota y enfermedades respiratorias

La disbiosis microbiana está presente en diversas patologías pulmonares como la EPOC, el asma y alergias, así como en las enfermedades respiratorias infecciosas. Se han observado reducciones en la diversidad de la composición microbiana durante la progresión de las enfermedades respiratorias, aunque no se ha logrado establecer con certeza si la disbiosis microbiana en sí es la causa de la enfermedad o es una consecuencia de las alteraciones fisiológicas inducidas por las patologías. Por ejemplo, en muchas enfermedades pulmonares se producen cambios fisiopatológicos en la arquitectura pulmonar y la producción/eliminación de moco los cuales podrían originar la disbiosis microbiana. Alternativamente, la disbiosis puede desempeñar un papel causal en las enfermedades pulmonares a través de la alteración de las señales inflamatorias brindadas al sistema inmunológico del tracto respiratorio (Natalini y col., 2023; Di Simone y col., 2023). A continuación, se revisarán algunos ejemplos de alteraciones disbióticas identificadas en las enfermedades pulmonares comúnmente descritas como inflamatorias y se discutirá el papel potencial de la microbiota respiratoria en su patogenia.

La microbiota respiratoria en el asma

El asma es una enfermedad crónica, que actualmente afecta a más de 300 millones de personas en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) define al asma como una enfermedad pulmonar crónica que afecta a niños y adultos y que se caracteriza por el estrechamiento de las vías aéreas finas debido a la inflamación y la compresión de los músculos que las rodean. Ello causa los síntomas del asma que son tos, sibilancias, disnea y opresión torácica. Estos síntomas son intermitentes, y suelen agravarse por cambios meteorológicos, infecciones virales, o por la exposición a polvo, humo, gases, pólenes o al pelaje y plumas de animales. La patogénesis del asma aún no se ha dilucidado por completo, pero la enfermedad se ha relacionado con varios factores genéticos, ambientales, infecciosos y nutricionales. El desequilibrio entre microorganismos simbióticos y patógenos en el tracto respiratorio puede provocar un desarrollo inmunológico alterado y respuestas inflamatorias inapropiadas observadas en el asma, pero aún no está claro si el desequilibrio es la causa o una consecuencia de la enfermedad (Barcik y col., 2020).

Algunos estudios han revelado un predominio de proteobacterias en hisopados nasofaríngeos y muestras de lavado bronco-alveolar obtenidas de niños

y adultos con asma neutrofílico, mientras que los *Firmicutes* fueron más abundantes en controles sanos (Hilty y col., 2010; Marri y col., 2013). El filo *Proteobacteria* está representado por bacterias potencialmente patógenas, incluidas las que pertenecen a los géneros *Haemophilus*, *Moraxella* y *Neisseria* (Barcik y col., 2020). También se han encontrado diferencias en la microbiota respiratoria entre pacientes asmáticos resistentes y sensibles al tratamiento con corticoides, identificándose mayor abundancia de bacterias Gram negativas productoras de lipopolisacáridos en aquellos con asma resistente a esteroides (Goleva y col., 2013). En casos de asma severo, se ha podido correlacionar positivamente el enriquecimiento de proteobacterias con la estimulación de la respuesta inmune Th17 respiratoria, mientras que una mayor abundancia de actinobacterias se correlacionó con una mayor capacidad del epitelio bronquial para expresar la proteína FK506, un marcador de respuesta a esteroides (Huang y col., 2015). Las exacerbaciones neutrofilicas de asma también se han correlacionado con mayores niveles de proteobacterias (Ghebre y col., 2018). En contraste con los hallazgos sorprendentemente reproducibles en el asma neutrofílico, las variaciones de la microbiota en el asma eosinofílico son menos claras y más heterogéneas. Los sujetos con asma del fenotipo inflamatorio eosinofílico muestran enriquecimientos en bacterias de los géneros *Fusobacterium* y *Porphyromonas* y la familia *Sphingomonadaceae*, y una abundancia relativa disminuida de miembros de la familia *Mogibacteriaceae* y el orden *Lactobacillales* (Durack y col., 2017). Además, el aumento de eosinófilos en el tracto respiratorio de pacientes adultos con asma se ha relacionado con la presencia de *Tropheryma whipplei* (Simpson y col., 2016).

Algunos trabajos han destacado el papel protector que microorganismos beneficiosos como *Dolosigranulum* y *Corynebacterium* podrían tener en el asma, en particular en las exacerbaciones. Se ha informado que la transición de la microbiota nasal dominada por *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* al inicio del estudio al grupo de *Moraxella* en el momento de la pérdida del control del asma tuvo el mayor riesgo de exacerbación en asmáticos en edad escolar (Zhou y col., 2019). La caracterización de las microbiotas nasofaríngeas de niños y adolescentes asmáticos (de 6 a 18 años) detectó un predominio de *Moraxella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Haemophilus* y *Fusobacterium* en relación con *Dolosigranulum*, *Corynebacterium* y *Prevotella* (Pérez-Losada y col., 2017), lo cual diferencia la microbiota asmática con la de niños y jóvenes sanos. Un estudio centrado en el análisis de la dinámica de los perfiles de microbiota nasofaríngea y su relación con la exacerbación del asma infantil encontró que los incrementos de la abundancia de *Moraxella* y la disminución de *Dolosigranulum*/*Corynebacterium* se correlacionaron con una mayor frecuencia de los

episodios de exacerbaciones (Hou y col., 2022). Los mismos autores informaron que niños asmáticos en edad preescolar hospitalizados por trastornos de sibilancias poseían mayor cantidad de *Proteobacteria* y menor cantidad de *Dolosigranulum* en sus nasofaringes en comparación con niños controles de la misma comunidad (Song y col., 2022). También existen indicios de que la microbiota respiratoria beneficiosa puede impactar en otras enfermedades alérgicas como la rinitis. En un trabajo en el que se evaluaron las poblaciones microbianas en el ambiente de habitaciones usadas para el cuidado de niños preescolares durante un período de siete años pudo asociarse la presencia de *Prevotella*, *Lactobacillus iners* y *Dolosigranulum* con menores exacerbaciones de rinitis (Sun y col., 2022). En línea con estos hallazgos, la cepa *D. pigrum* AMBR11, aislada de la mucosa nasal de un individuo sano, es capaz de reducir la producción de citoquinas proinflamatorias en las células epiteliales de las vías respiratorias y de proteger la función de barrera nasal en un modelo de ratón utilizando IL-4 como factor disruptivo (De Boeck y col., 2021). En un estudio reciente en el que se compararon microbiotas nasofaríngeas entre controles sanos y pacientes con rinosinusitis crónica, también se encontró que varios géneros de *Lactobacillaceae*, incluidos *Lactiplantibacillus*, *Latilactobacillus* y *Lacticaseibacillus*, son más frecuentes y abundantes en controles sanos en comparación con pacientes con rinosinusitis crónica (De Boeck y col., 2020). *L. casei* AMBR2, aislado de nasofaringe humana saludable, es capaz de restaurar las alteraciones de la barrera epitelial de las vías respiratorias en células primarias de pacientes con rinosinusitis crónica y células Calu-3 diferenciadas (De Rudder y col., 2020).

El asma es una enfermedad muy compleja caracterizada por muchos diferentes fenotipos y endotipos. Los estudios en humanos destinados a revelar el papel de la microbiota respiratoria en la enfermedad deberían por lo tanto incluir evaluaciones clínicas claramente definidas y recopilar datos detallados y específicos sobre síntomas y tratamientos. Dichos estudios deberían además incluir muestreos en varios puntos durante la vida de un paciente para determinar si los cambios en la microbiota están relacionados con el desarrollo del asma o solo modifican la inflamación de las vías respiratorias cuando la enfermedad ya está presente. También son necesarios estudios más profundos para evaluar si cepas específicas de bacterias comensales respiratorias son una herramienta útil para ayudar a prevenir el asma o evitar los episodios de exacerbaciones.

La microbiota respiratoria en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

La OMS define a la EPOC como una enfermedad pulmonar que reduce el flujo de aire y causa problemas respiratorios, producida principalmente por el tabaquismo y la contaminación del aire. En las personas con EPOC, la mucosidad puede dañar u obstruir los pulmones, conduciendo a tos frecuente, problemas para respirar, sibilancias y fatiga. Los síntomas de la EPOC pueden empeorar rápidamente, agravamientos de la enfermedad que se conocen como exacerbaciones, y que suelen durar unos pocos días. Las personas con EPOC también tienen un mayor riesgo de padecer otros problemas de salud, entre los que se destacan una mayor susceptibilidad a infecciones respiratorias, cáncer de pulmón y enfermedades del corazón. La inflamación excesiva y persistente es un factor importante de la patogénesis de la EPOC y una disminución en la riqueza y diversidad de la microbiota respiratoria está asociada con aumento de la infiltración de células inmunitarias (Singh y col., 2022).

Estudios de la microbiota pulmonar en pacientes con EPOC demostraron una clara asociación entre la presencia de *Haemophilus*, *S. pneumoniae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y bacterias entéricas Gram negativas, y la presencia de inflamación neutrofílica y aumento de citoquinas inflamatorias en el tracto respiratorio inferior (Natalini y col., 2023; Di Simone y col., 2023). En un ensayo multicéntrico en los que se evaluó la microbiota respiratoria de pacientes con EPOC neutrofílica y eosinofílica, se encontraron asociaciones claras entre su composición y el tipo inflamatorio (Wang y col., 2021). El trabajo encontró heterogeneidad en la microbiota de los pacientes neutrofílicos, con tres grupos dominados por *Haemophilus*, *Moraxella* o *Streptococcus*. En el subgrupo con predominio de *Haemophilus* se observó una diversidad α disminuida y elevados niveles respiratorios de IL-1 β y TNF- α . La disminución de la diversidad α y el predominio de *Haemophilus* se han asociado con peores pronósticos de supervivencia en pacientes con EPOC (Teiw y col., 2021).

Se ha reportado que solo la acción de fumar no parece estar asociada con cambios significativos en la microbiota de las vías respiratorias inferiores (Morris y col., 2013; Segal y col., 2013). Sin embargo, esta situación cambia a medida que los fumadores comienzan a desarrollar una EPOC temprana. Un estudio reciente de la microbiota de las vías respiratorias inferiores en pacientes con EPOC temprana mostró el enriquecimiento con las bacterias comensales orales *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Prevotella* y *Gemella*, y se las asoció con anomalías de la función pulmonar (Opron y col., 2021). En línea con estos resultados, en un trabajo realizado en monos macacos se observó un

progresivo incremento de bacterias comensales orales en los pulmones a medida que se desarrollaron cambios pulmonares similares a los encontrados en la EPOC luego de una infección viral (Morris y col., 2016).

Si bien los estudios sugieren que la microbiota pulmonar puede influir en el riesgo de exacerbaciones de la EPOC, se sabe poco sobre la relación entre la microbiota nasal y las características clínicas o la efectividad de los tratamientos en los pacientes con EPOC. Los cinco géneros más abundantes encontrados en la cavidad nasal de pacientes con EPOC son *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Moraxella* y *Dolosigranulum* (Alvarez Baumgartner y col., 2022). La composición de la microbiota bacteriana nasal también se diferenció por la alta frecuencia de los síntomas de la EPOC. El grupo con mayor frecuencia de síntomas presentó una mayor proporción de *Corynebacterium* y *Staphylococcus*, y una menor proporción de los géneros *Streptococcus* y *Moraxella* en comparación con el grupo de menor frecuencia de síntomas.

Tomados en conjunto, estos hallazgos han permitido proponer un modelo para explicar las alteraciones de la microbiota respiratoria en pacientes con EPOC (Natalini y col., 2023). En las primeras etapas de la enfermedad se produciría una microaspiración recurrente de microorganismos orales la cual ocurriría a un ritmo más alto que en personas normales. Esto contribuiría a la inducción de inflamación en las vías respiratorias y a un deterioro del aclaramiento microbiano, dando posteriormente como resultado el agotamiento inmunológico y la eventual colonización de las vías respiratorias y el pulmón con microorganismos incluyendo patógenos respiratorios.

La microbiota respiratoria en las infecciones

Las infecciones del tracto respiratorio son una fuente importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, particularmente en los niños. Estas infecciones pueden variar desde infecciones leves del tracto respiratorio superior como el resfrío común, hasta enfermedades potencialmente mortales que incluyen infecciones del tracto respiratorio inferior o neumonía. A pesar de que los avances científicos han logrado disminuir la mortalidad mundial de las infecciones respiratorias, sigue siendo una de las principales causas de muerte en niños menores de 5 años, responsable del 15 % del total de muertes en este grupo (de Steenhuijsen Piters y col., 2020). También es importante resaltar que la neumonía en la infancia es una importante causa de reducción de la funcionalidad pulmonar y de secuelas crónicas incluidas el desarrollo de asma y EPOC en la vida adulta (Zar y col., 2016).

Como se mencionó anteriormente, existe una relación entre el desarrollo de la microbiota y la susceptibilidad a las infecciones respiratorias (de Steenhuijsen Piters y col., 2020). En este sentido, parece ser vital el momento de los eventos de colonización. Aunque casi todos los niños hacen la transición a un entorno dominado por *Moraxella* a la edad de 3 a 6 meses, la aparición temprana de esta bacteria se ha relacionado con una respuesta inmune inflamatoria de la mucosa de las vías respiratorias (Følsgaard y col., 2013), así como con una aparición más temprana de las primeras infecciones y sibilancias (Teo y col., 2015, 2018). También se vio que el enriquecimiento temprano de *Streptococcus* (~9 semanas) está asociado con un mayor riesgo de infecciones tempranas (Teo y col., 2015). Los perfiles de microbiota dominados por *Streptococcus* y *Haemophilus* en el tracto respiratorio superior se han asociado con una mayor gravedad de la infección por RSV (Teo y col., 2018), mientras que los perfiles dominados por *Staphylococcus* parecieran ser protectores (de Steenhuijsen Piters y col., 2016). En estos casos, una disminución simultánea en la abundancia de *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* se asoció con infecciones más graves (Teo y col., 2015), incluida una mayor admisión a la unidad de cuidados intensivos (Man y col., 2019). También se observó una menor probabilidad de desarrollar bronquiolitis en niños con mayores abundancias relativas de *Dolosigranulum* en el tracto respiratorio superior (Hasegawa y col., 2017) y una abundancia significativamente mayor de esta bacteria en el meato medio de un grupo control en comparación con los mismos sitios muestreados en sujetos con rinosinusitis crónica y con pólipos nasales (Gan y col., 2019). Curiosamente, también se observó una mayor abundancia de *Dolosigranulum* en las microbiotas nasofaríngeas de niños sanos en comparación con aquellos con otitis media aguda recurrente, lo que sugiere que el vínculo de *Dolosigranulum* con la salud podría extenderse más allá de la cavidad nasal (Lappan y col., 2018).

Las comunidades microbianas en la vida temprana podrían proteger contra las infecciones respiratorias ya sea directamente a través de interacciones microbio-microbio o indirectamente a través de la modulación del sistema inmunológico del huésped (de Steenhuijsen Piters y col., 2020). Miembros del clado *Staphylococcus*, incluyendo *S. epidermidis* y *S. lugdunensis* han demostrado ser vitales en la configuración de la comunidad microbiana nasal por sus capacidades de inducción de péptidos antimicrobianos y formación de biopelículas (Zipperer y col., 2016; Liu y col., 2020). La asociación epidemiológica entre la coexistencia de *Dolosigranulum* y *Corynebacterium* y la buena salud respiratoria podría estar mediada en parte por la inhibición directa de patógenos potenciales. Esto está respaldado por estudios de desafío en huma-

nos que muestran que la alta abundancia de *Dolosigranulum* está relacionada con la baja abundancia de neumococos después de un desafío directo (de Steenhuisen Piters y col., 2019). Experimentos *in vitro* han confirmado que *Dolosigranulum*, solo o en sinergia con *Corynebacterium*, puede inhibir el crecimiento de *S. aureus* y *S. pneumoniae*, respectivamente, como consecuencia de la producción de una variedad de péptidos antimicrobianos (Brugger y col., 2020).

Los datos de estudios en humanos respaldan la hipótesis de que las exposiciones microbianas que comienzan temprano en la vida, entre días y semanas después del nacimiento, tienen implicaciones importantes para la maduración del sistema inmunitario. A medida que los recién nacidos maduran, la microbiota pulmonar cambia hacia el enriquecimiento con una mezcla más diversa de microorganismos comensales tales como *Streptococcus*, *Prevotella*, *Porphyromonas* y *Veillonella*. Estos cambios longitudinales en la microbiota pulmonar afectan la producción de inmunoglobulinas y respuestas inmunes innatas y, por lo tanto, se postula que es uno de los mecanismos por los cuales se produce la maduración inmune en las vías respiratorias inferiores (Pataroni y col., 2018; Natalini y col., 2023). De este modo, las bacterias comensales de la microbiota respiratoria pueden influenciar las respuestas inmunológicas y la resistencia a infecciones. Se ha observado por ejemplo que la administración nasal a ratones de una mezcla de bacterias comensales orales (*Prevotella melaninogenica*, *Veillonella parvula* y *Streptococcus mitis*) conduce a la activación de células T CD4⁺ y CD8⁺, el reclutamiento de células Th17 y células T $\gamma\delta$ así como también a un incremento de células T reguladoras. Es importante mencionar que este efecto inmunomodulador inducido por las bacterias de la microbiota es un fenómeno duradero que persiste más allá de su presencia transitoria en el parénquima pulmonar y que influye significativamente en las defensas inmunitarias innatas contra los patógenos respiratorios como *S. pneumoniae* (Wu y col., 2021). En otro estudio realizado en ratones con características genéticas similares, pero con composiciones microbianas heterogéneas en el tracto respiratorio, se observaron niveles variables de marcadores inflamatorios en los pulmones asociados con las diferentes microbiotas de las vías respiratorias inferiores (Dickson y col., 2018). Estudios en ratones han demostrado que la colonización del tracto respiratorio superior por *S. aureus* disminuye la lesión pulmonar mediada por el sistema inmunológico durante la infección con IFV, a través de la inducción de un perfil anti-inflamatorio en los macrófagos alveolares (Wang y col., 2013). Este comportamiento comensal y beneficioso de *S. aureus* podría potenciarse aún más con la co-colonización con especies microbianas como como *Corynebacterium*

striatum, bacteria que puede reducir la expresión de genes de virulencia en *S. aureus* (Ramsey y col., 2016). Estos estudios no solo muestran la importancia de algunas bacterias comensales respiratorias en la protección contra infecciones sino que además permiten postular el empleo de cepas beneficiosas seleccionadas como probióticos respiratorios.

Bacterias comensales respiratorias como probióticos de nueva generación

Como se mencionó anteriormente, las bacterias comensales respiratorias pueden interactuar con diferentes tipos de células en el tracto respiratorio, incluidas las células epiteliales respiratorias (Invernizzi y col., 2020), DCs y macrófagos alveolares (Man y col., 2017). La evidencia sugiere además que dichas interacciones microbiota respiratoria-huésped juegan un papel clave en la patogénesis de las infecciones respiratorias. De hecho, se ha demostrado que algunas especies de bacterias, incluidas *Corynebacterium* spp., *Dolosigranulum* spp. y *Lactocaseibacillus* spp., juegan un papel protector en el tracto respiratorio (De Boeck y col., 2017; De Boeck y col., 2020; Martens y col., 2021), considerando que los niveles de estas bacterias se correlacionaron con una mejor resistencia contra infecciones bacterianas (Laufer y col., 2011; Pettigrew y col., 2012) y virales (Wen y col., 2018; Camelo-Castillo y col., 2019). En línea con estos estudios, se ha demostrado que la administración nasal de cepas específicas de bacterias comensales respiratorias (*Corynebacterium pseudodiphtheriticum* 090104 o *Dolosigranulum pigrum* 040417) a ratones regula de manera beneficiosa la respuesta inmune innata respiratoria mejorando la resistencia a las infecciones producidas por el rsv (Kanmani y col., 2017), *S. pneumoniae* (Ortiz Moyano y col., 2020; Raya Tonetti y col., 2021) o *K. pneumoniae* (Dentice Maidana y col., 2022). El tratamiento de los animales con las bacterias comensales respiratorias redujo significativamente la replicación de los patógenos y el daño pulmonar producido por las infecciones. El efecto protector inducido por *C. pseudodiphtheriticum* 090104 o *D. pigrum* 040417 estuvo relacionado con su capacidad para estimular a las células presentadoras de antígeno y mejorar la respuesta mediada por las células Th1 CD4⁺IFN- γ ⁺ y Treg CD4⁺IL-10⁺ respiratorias (figura 4). Las bacterias comensales respiratorias inmunomoduladoras estimulan a los macrófagos alveolares incrementado su producción de IFN- β e IFN- γ , los cuales activan a las células Th1 y potencian su capacidad para

depurar patógenos. Al mismo tiempo, los macrófagos alveolares aumentan su producción de IL-6 e IL-27 que estimulan a las células Treg, las cuales contribuyen a controlar el daño inflamatorio mediante la producción de IL-10 (figura 4). Se demostró además que *D. pigrum* 040417 es capaz de modular la respuesta de las células epiteliales respiratorias a la estimulación con el agonista de TLR3 poly(I:C) (Islam y col., 2021). Las células epiteliales respiratorias Calu-3 pretratadas con *D. pigrum* 040417 produjeron niveles más altos de IFN- β e IL-6 y niveles más bajos de CXCL8, CCL5 y CXCL10 en respuesta a la estimulación con poly(I:C) en comparación con las células control. Estos resultados se correlacionaron con experimentos *in vivo* que demostraron que los ratones tratados por vía nasal con la cepa 040417 poseen niveles incrementados de IFN- β , y concentraciones reducidas de citoquinas y quimioquinas inflamatorias (Ortiz Moyano y col., 2020). Los resultados de estos trabajos permiten especular que las bacterias comensales respiratorias como *D. pigrum* 040417 establecen interacciones moleculares complejas con las células epiteliales respiratorias, modificando su inmunobiología y aumentando sus funciones de defensa (figura 4), tal como se describió para los microorganismos benéficos que interactúan con las células epiteliales de la mucosa intestinal (Albarracín y col., 2017; Albarracín y col., 2020; Elean y col., 2021). En línea con estos hallazgos, se demostró más recientemente que *L. casei* AMBR2, originalmente aislado de nasofaringe humana, es capaz de mejorar la barrera epitelial respiratoria alterada en pacientes con rinosinusitis crónica (Martens y col., 2021). Se observó que el efecto beneficioso de la cepa AMBR2 era dependiente de su capacidad para estimular TLR2 y de modular las citoquinas anti-inflamatorias en las células epiteliales. Esta capacidad para regular la barrera epitelial respiratoria alterada en pacientes con rinosinusitis crónica a través de la modulación de la producción de citoquinas pro- y anti-inflamatorias también se ha descrito para la cepa *D. pigrum* AMBR11 (De Boeck y col., 2021).

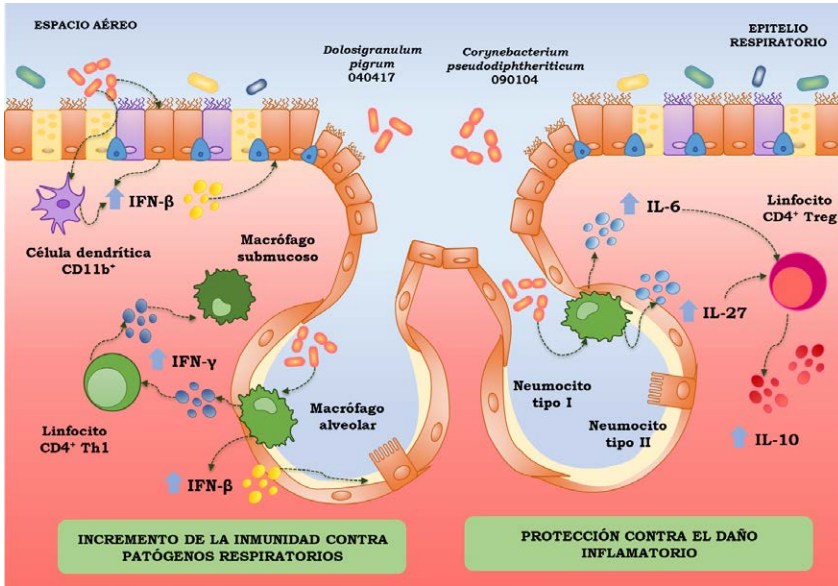


Figura 4. Protección contra infecciones por cepas de bacterias comensales respiratorias con actividad inmunomoduladora

Estudios sobre la fisiopatología de la COVID-19 han revelado que las características clínicas de la enfermedad no solo dependen de la interacción entre el SARS-CoV-2 y el sistema inmunológico, sino que además un tercer actor podría ser importante en la progresión y gravedad de la enfermedad: la microbiota respiratoria. Estudios han reportado una reducción significativa de la diversidad y la abundancia de ciertas bacterias comensales respiratorias, y un aumento de la familia *Propionibacteriaceae* (Sungnak y col., 2020) y de *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Smith y col., 2021) en pacientes COVID-19 críticos. Un estudio identificó Unidades Taxonómicas Operacionales (UTO) del género *Prevotella* más abundantes vinculadas a los grupos de mayor severidad de COVID-19 (Ventero y col., 2021). Estos resultados fueron comprobados por estudios independientes posteriores (Merenstein y col., 2021; Smith y col., 2021), y permitieron concluir que el género *Prevotella* está relacionado con un aumento de la inflamación de la mucosa respiratoria mediada por una respuesta Th17, lo que contribuiría a la patología pulmonar grave causada por el coronavirus (Ventero y col., 2021). Por otro lado, se especula que la mayor abundancia de bacterias beneficiosas como *Dolosigranulum* en niños en comparación con adultos y ancianos podría explicar, al menos en parte, el por qué los niños se ven menos

afectados por la COVID-19 (Hurst y col., 2021). De hecho, dos estudios independientes observaron una asociación negativa entre las especies bacterianas beneficiosas como *D. pigrum* y *Corynebacterium* spp., y el aumento de la gravedad de la COVID-19. En el primero, los autores identificaron a través de un análisis de red una UTO clasificada como *Dolosigranulum* positivamente asociada con *Corynebacterium* y negativamente asociada con *Prevotella* (Ventero y col., 2021). El segundo estudio aplicó una escala multidimensional no métrica utilizando la distancia de Bray-Curtis y el análisis discriminante de mínimos cuadrados parciales, y también identificó a *Dolosigranulum* y *Corynebacterium* como significativamente más abundantes en sujetos asintomáticos (Smith y col., 2021). Considerando la capacidad de *D. pigrum* 040417 para modular diferencialmente el perfil de citoquinas inducido por la estimulación con poly(I:C) en las células epiteliales respiratorias, y que SARS-COV-2 es detectado por TLR3 en dichas células, se planteó la hipótesis de que esta bacteria podría influir en la replicación del virus en el epitelio respiratorio. Empleando células respiratorias Calu-3 se demostró que la bacteria comensal respiratoria inmunomoduladora puede regular diferencialmente la respuesta inmune innata de las células epiteliales respiratorias desencadenadas por la infección por SARS-COV-2. La replicación del SARS-COV-2 en células epiteliales respiratorias pretratadas con *D. pigrum* 040417 disminuyó significativamente en comparación con los controles (Islam y col., 2021).

Es importante destacar que los efectos beneficiosos de los microorganismos comensales respiratorios sobre la inmunidad de la mucosa respiratoria son una propiedad específica de cada bacteria, ya que la actividad inmunomoduladora de una cepa no se puede extrapolar a otras, incluso de la misma especie. Estudios de nuestro laboratorio han demostrado por primera vez la habilidad cepa-dependiente de las especies *C. pseudodiphtheriticum* y *D. pigrum* para modular beneficiosamente la inmunidad respiratoria. Mientras que *D. pigrum* 040417 modula la respuesta inmune innata respiratoria, otras cepas como *D. pigrum* 030918 no pudo inducir modificaciones en la funcionalidad de las DCs o células T CD4⁺IFN- γ ⁺ respiratorias (Ortiz Moyano y col., 2020) ni en la respuesta inmune de las células Calu-3 contra poly(I:C) o SARS-COV-2 (Islam y col., 2021). En línea con nuestros hallazgos se ha reportado que la habilidad de *L. casei* AMBR2 (De Boeck y col., 2020; Martens y col., 2021) y *D. pigrum* AMBR11 (De Boeck y col., 2021) para mejorar la barrera epitelial respiratoria alterada en pacientes con rinosinusitis crónica es un efecto dependiente de cepa ya que otras bacterias de la misma especie aisladas de nasofaringe humana no pueden lograr dicho efecto. El hecho de que las propiedades beneficiosas de las bacterias comensales respiratorias sean una característica cepa-depen-

diente es de gran importancia a la hora de seleccionar los candidatos más eficientes para el desarrollo de productos probióticos de nueva generación para el tracto respiratorio.

Conclusiones y perspectivas

El estudio de la microbiota respiratoria en la salud y en diferentes estados de enfermedad ha identificado firmas microbianas que podrían estar asociadas con la susceptibilidad a enfermedades respiratorias, su gravedad y pronóstico. Actualmente se considera que las poblaciones microbianas de todo el tracto respiratorio dependen de la exposición al medio ambiente y de un delicado equilibrio entre la migración (impulsada por la inhalación, la microaspiración y la dispersión mucosa) y la eliminación (impulsada por la tos, el transporte mucociliar y los mecanismos inmunitarios) de microorganismos que establece una interfaz microbiota-huésped compleja. El equilibrio dinámico de esta interacción se ve afectada por muchos factores que pueden cambiar a lo largo de la vida, incluidos los relacionados con el hospedador y el entorno, de los cuales algunos son beneficiosos y otros perjudiciales. A medida que el uso de métodos multiómicos e independientes del cultivo aplicados al estudio de la microbiota respiratoria en sus distintos segmentos se generaliza, la comprensión detallada de su interacción con las células y moléculas del hospedador es esencial para el desarrollo exitoso de nuevas herramientas preventivas y terapéuticas dirigidas a mejorar la salud respiratoria.

Referencias bibliográficas

- Albarracín, L.; Garcia-Castillo, V. (...) & Villena, J.** (2020). Efficient selection of new immunobiotic strains with antiviral effects in local and distal mucosal sites by using porcine intestinal epitheliocytes. *Frontiers in Immunology*. 11, 543. 10.3389/fimmu.2020.00543.
- Albarracín, L.; Kobayashi, H. (...) & Villena, J.** (2017). Transcriptomic analysis of the innate antiviral immune response in porcine intestinal epithelial cells: influence of immunobiotic lactobacilli. *Frontiers in Immunology*. 8, 57. 10.3389/fimmu.2017.00057.
- Altan, E.; Dib, J. C. (...) & Delwart, E.** (2019). Effect of geographic isolation on the nasal virome of indigenous children. *Journal of Virology*. 93, e00681–19.
- Alvarez Baumgartner, M.; Li, C. (...) & Rice, M. B.** (2022). Differences of the nasal microbiome and mycobiome by clinical characteristics of copd patients. chronic obstructive pulmonary diseases: *Journal of the COPD Foundation*. 9(3), 309-324. 10.15326/jcopdf.2021.0267.

Andrade, B. G. N.; Cuadrat R. R. C. (...) & Villena, J. (2022). The role of respiratory microbiota in the protection against viral diseases: respiratory commensal bacteria as next-generation probiotics for COVID-19. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*. 41(3), 94-102. 10.12938/bmfh.2022-009.

Barcik, W.; Boutin, R. C. T. (...) & Finlay, B. B. (2020). The role of lung and gut microbiota in the pathology of asthma. *Immunity*. 52(2), 241-255. 10.1016/j.immuni.2020.01.007.

Biesbroek, G.; Bosch, A. A. T. M. (...) & Bogaert D. (2014a). The impact of breastfeeding on nasopharyngeal microbial communities in infants. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 190, 298–308.

Biesbroek, G.; Tsvitsivadze, E. (...) & Bogaert D. (2014b). Early respiratory microbiota composition determines bacterial succession patterns and respiratory health in children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 190, 1283–1292.

Bogaert, D.; Keijsers, B. (...) & Sanders, E. (2011). Variability and diversity of nasopharyngeal microbiota in children: a metagenomic analysis. *PLoS One*. 6(2), e17035. 10.1371/journal.pone.0017035.

Bosch, A. A. T. M.; Levin, E. (...) & Bogaert, D. (2016). Development of upper respiratory tract microbiota in infancy is affected by mode of delivery. *EBioMedicine* 9, 336–345.

Bosch, A. A. T. M.; de Steenhuijsen Piters, W. A. A. (...) & Bogaert, D. (2017). Maturation of the infant respiratory microbiota, environmental drivers, and health consequences. A prospective cohort study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 196,1582–1590.

Brown, R. L.; Sequeira, R. P. & Clarke, T. B. (2017). The microbiota protects against respiratory infection via GM-CSF signaling. *Nature communications*, 8(1), 1512. 10.1038/s41467-017-01803-x.

Brugger, S. D.; Eslami, S. M. (...) & Lemon, K. P. (2020). *Dolosigranulum pigrum* cooperation and competition in human nasal microbiota. *mSphere*. 5(5), e00852-20. 10.1128/mSphere.00852-20.

Camelo-Castillo, A.; Henares, D. (...) & Munoz-Almagro, C. (2019). Nasopharyngeal microbiota in children with invasive pneumococcal disease: identification of bacteria with potential disease-promoting and protective effects. *Frontiers in Microbiology*. 10, 11.

Charlson, E. S.; Diamond, J. M. (...) & Collman, R. G. (2012). Lung-enriched organisms and aberrant bacterial and fungal respiratory microbiota after lung transplant. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 186, 536–545.

De Boeck, I.; Wittouck, S. (...) & Lebeer, S. (2021). The nasal mutualist *Dolosigranulum pigrum* AMBR11 supports homeostasis via multiple mechanisms. *iScience*. 24(9), 102978.

De Boeck, I.; Wittouck, S. (...) & Lebeer, S. (2017). Comparing the healthy nose and nasopharynx microbiota reveals continuity as well as niche-specificity. *Frontiers in Microbiology*. 8, 2372.

De Boeck, I.; van den Broek, M. F. L. (...) & Lebeer, S. (2020). Lactobacilli have a niche in the human nose. *Cell Reports*. 31, 107674.

De Rudder, C. , Garcia-Timmermans, C. (...) & Calatayud Arroyo, M. (2020). *Lactocaseibacillus casei* AMBR2 modulates the epithelial barrier function and immune response in a donor-derived nasal microbiota manner. *Scientific Reports* 10, 1–16.

- de Steenhuijsen Piters, W. A.; Heinonen, S. (...) & Mejias, A.** (2016). Nasopharyngeal microbiota, host transcriptome, and disease severity in children with respiratory syncytial virus infection. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 194(9), 1104-1115. 10.1164/rccm.201602-02200C
- de Steenhuijsen Piters, W. A. A.; Binkowska, J. & Bogaert, D.** (2020). Early life microbiota and respiratory tract infections. *Cell Host Microbe*. 28(2), 223-232. 10.1016/j.chom.2020.07.004.
- de Steenhuijsen Piters, W. A. A.; Jochems, S. P. (...) & Bogaert, D.** (2019). Interaction between the nasal microbiota and *S. pneumoniae* in the context of live-attenuated influenza vaccine. *Nature Communications*. 10, 2981
- Dentice Maidana, S.; Ortiz Moyano, R. (...) & Villena, J.** (2022). Respiratory commensal bacteria increase protection against hypermucoviscous carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST25 infection. *Pathogens*. 11(9), 1063. 10.3390/pathogens11091063
- Dickson, R. P. & Huffnagle, G. B.** (2015). The lung microbiome: new principles for respiratory bacteriology in health and disease. *PLoS Pathogens* 11, e1004923
- Dickson, R. P.; Erb-Downward, J. R. (...) & Curtis, J. L.** (2015). Spatial variation in the healthy human lung microbiome and the adapted island model of lung biogeography. *Annals of the American Thoracic Society*. 12(6), 821–830
- Dickson, R. P.; Erb-Downward, J. R. (...) & Huffnagle, G. B.** (2018). The lung microbiota of healthy mice are highly variable, cluster by environment, and reflect variation in baseline lung innate immunity. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 198(4), 497–508. <https://doi.org/10.1164/rccm.201711-21800C>
- Di Simone, S. K.; Rudloff, I. (...) & Nold, M. F.** (2023). Understanding respiratory microbiome-immune system interactions in health and disease. *Science Translational Medicine*. 15(678), eabq5126. 10.1126/scitranslmed.abq5126
- Durack, J.; Lynch, S. V. (...) & National Heart, Lung and Blood Institute's "AsthmaNet".** (2017). Features of the bronchial bacterial microbiome associated with atopy, asthma, and responsiveness to inhaled corticosteroid treatment. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 140, 63–75
- Elean, M.; Albarracín, L.) & Kitazawa H.** (2021). *Lactobacillus delbrueckii* CRL 581 differentially modulates TLR3-triggered antiviral innate immune response in intestinal epithelial cells and macrophages. *Microorganisms*. 9(12), 2449. 10.3390/microorganisms9122449
- Følsgaard, N. V.; Schjørring, S. (...) & Bisgaard, H.** (2013). Pathogenic bacteria colonizing the airways in asymptomatic neonates stimulates topical inflammatory mediator release. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 187, 589–595.
- Gan, W.; Yang, F. (...) & Meng, J.** (2019). The difference in nasal bacterial microbiome diversity between chronic rhinosinusitis patients with polyps and a control population. *International Forum of Allergy & Rhinology*. 9, 582–592.
- Ghebre, M. A.; Pang, P. H. (...) & Brightling, C. E.** (2018). Biological exacerbation clusters demonstrate asthma and chronic obstructive pulmonary disease overlap with distinct mediator and microbiome profiles. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 141, 2027–2036.
- Goleva, E.; Jackson, L. P. (...) & Leung, D. Y. M.** (2013). The effects of airway microbiome on corticosteroid responsiveness in asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 188, 1193–1201.

- Gollwitzer E. S.; Saglani, S. (...) & Marsland, B. J.** (2014). Lung microbiota promotes tolerance to allergens in neonates via PD-L1. *Nature Medicine*. 20(6), 642–647.
- Hasegawa, K.; Linnemann, R. W. (...) & Camargo, C. A.** (2017). Nasal airway microbiota profile and severe bronchiolitis in infants: a case–control study. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 36, 1044–1051.
- Herbst, T.; Sichelstiel, A. (...) & Harris, N. L.** (2011). Dysregulation of allergic airway inflammation in the absence of microbial colonization. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 184(2), 198–205.
- Hilty, M.; Burke, C. (...) & Cookson, W. O. C.** (2010). Disordered microbial communities in asthmatic airways. *PLoS One* 5, e8578.
- Hou, J.; Song, Y. (...) & Leung, T. F.** (2022). Temporal dynamics of the nasopharyngeal microbiome and its relationship with childhood asthma exacerbation. *Microbiology Spectrum*. 10(3), e0012922. 10.1128/spectrum.00129-22.
- Huang, Y. J.; Nariya, S. (...) & Boushey, H.** (2015). The airway microbiome in patients with severe asthma: Associations with disease features and severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 136, 874–884.
- Hurst, J. H.; McCumber, A. W. (...) & Kelly, M. S.** (2021). Age-related changes in the nasopharyngeal microbiome are associated with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection and symptoms among children, adolescents, and young adults. *Clinical Infectious Diseases*. 75(1), e928–e937
- Invernizzi, R.; Lloyd, C. M. & Molyneaux, P. L.** (2020). Respiratory microbiome and epithelial interactions shape immunity in the lungs. *Immunology*. 160(2), 171–182. 10.1111/imm.13195
- Islam; M. A.; Albarracín, L. (...) & Villena, J.** (2021). *Dolosigranulum pigrum* modulates immunity against SARS-CoV-2 in respiratory epithelial cells. *Pathogens*. 10(6).
- Kanmani, P.; Clua, P. (...) & Villena, J.** (2017). Respiratory commensal bacteria *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* improves resistance of infant mice to respiratory syncytial virus and Streptococcus pneumoniae superinfection. *Frontiers in Microbiology*. 8, 1613.
- Keski-Nisula, L.; Kyynäräinen, H. R., (...) & Pekkanen, J.** (2013). Maternal intrapartum antibiotics and decreased vertical transmission of *Lactobacillus* to neonates during birth. *Acta Paediatrica*. 102(5), 480–485.
- Lappan, R.; Imbrogno, K. (...) & Peacock, C. S.** (2018). A microbiome case–control study of recurrent acute otitis media identified potentially protective bacterial genera. *BMC Microbiology*. 18, 13.
- Laufer, A. S.; Metlay, J. P. (...) & Pettigrew, M. M.** (2011). Microbial communities of the upper respiratory tract and otitis media in children. *mBio*. 2(1), e00245-10.Liu, Q.
- Liu, Q. (...) & Li, M.** (2020). *Staphylococcus epidermidis* contributes to healthy maturation of the nasal microbiome by stimulating antimicrobial peptide production. *Cell Host & Microbe*. 27, 68–78.e5.
- Man, W. H.; de Steenhuijsen Piters, W. A & Bogaert, D.** (2017). The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*. 15(5), 259–70.
- Man, W. H.; van Houten, M. A. (...) & Bogaert, D.** (2019a). Bacterial and viral respiratory tract microbiota and host characteristics in children with lower respiratory tract infections: a matched case-control study. *The Lancet Respiratory Medicine*. 7, 417–426.

Marri, P. R.; Stern, D. A. (...) & Martinez, F. D. (2013). Asthma-associated differences in microbial composition of induced sputum. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 131, 346–352.e1-3.

Martens, K.; De Boeck, I. (...) & Steelant, B. (2021). *Lacticaseibacillus casei* AMBR2 restores airway epithelial integrity in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Allergy Asthma & Immunology Research*.13(4), 560-75.

Merenstein, C.; Liang, G. (...) & Collman, R. G. (2021). Signatures of COVID-19 severity and immune response in the respiratory tract microbiome. *mBio*. 12(4), e0177721.

Morris, A.; Beck, J. M. (...) & Jablonski, K. (2013). Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 187, 1067–1075.

Morris, A.; Paulson, J. N. (...) & Ghedin, E. (2016). Longitudinal analysis of the lung microbiota of cynomolgous macaques during long-term SHIV infection. *Microbiome* 4, 38.

Natalini, J. G.; Singh, S. & Segal, L. N. (2023). The dynamic lung microbiome in health and disease. *Nature Reviews Microbiology*. 21(4), 222-235. 10.1038/s41579-022-00821-x

Opron, K.; Begley, L. A. (...) & Huang; Y. J. (2021). Lung microbiota associations with clinical features of COPD in the SPIROMICS cohort. *NPJ Biofilms and Microbiomes* 7, 14.

Ortiz Moyano, R.; Raya Tonetti, F. (...) & Villena, J. (2020). The ability of respiratory commensal bacteria to beneficially modulate the lung innate immune response is a strain dependent characteristic. *Microorganisms*. 8(5).

Pattaroni, C.; Watzenboeck, M. L. (...) & Marsland, B. J. (2018). Early-life formation of the microbial and immunological environment of the human airways. *Cell Host Microbe* 24, 857–865.e4.

Pérez-Losada, M.; Alamri, L. (...) & Freishtat, R. J. (2017). Nasopharyngeal microbiome diversity changes over time in children with asthma. *PLoS One*. 12(1), e0170543. 10.1371/journal.pone.0170543

Pettigrew, M. M.; Laufer, A. S. (...) & Metlay, J. P. (2012). Upper respiratory tract microbial communities, acute otitis media pathogens, and antibiotic use in healthy and sick children. *Applied and Environmental Microbiology*.78(17), 6262-70.

Ramsey, M. M.; Freire, M. O. (...) & Lemon, K. P. (2016). *Staphylococcus aureus* shifts toward commensalism in response to corynebacterium species. *Frontiers in Microbiology*. 7, 1230

Raya Tonetti, F.; Tomokiyo, M. (...) & Villena, J. (2021). The respiratory commensal bacterium *Dolosigranulum pigrum* 040417 improves the innate immune response to *Streptococcus pneumoniae*. *Microorganisms*. 9(6)

Segal, L. N.; Alekseyenko, A. V. (...) & Weiden, M. D. (2013). Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation. *Microbiome* 1, 19.

Simpson, J. L.; Daly, J. (...) & Gibson, P. G. (2016). Airway dysbiosis: *Haemophilus influenzae* and *Tropheryma* in poorly controlled asthma. *European Respiratory Journal*. 47(3), 792-800. 10.1183/13993003.00405-2015.

Singh, S.; Natalini, J. G. & Segal, L. N. (2022). Lung microbial-host interface through the lens of multi-omics. *Mucosal Immunology*. 15(5), 837-845. 10.1038/s41385-022-00541-8.

Smith, N.; Goncalves, P. (...) & Di Santo, J. P. (2021). Distinct systemic and mucosal immune responses during acute SARS-CoV-2 infection. *Nature Immunology*. 22(11), 1428-39.

- Song, Y.; Hou, J. (...) & Leung, T. F.** (2022). Whole-genome shotgun sequencing for nasopharyngeal microbiome in pre-school children with recurrent wheezing. *Frontiers in Microbiology*. 12, 792556–792556. 10.3389/fmicb.2021.792556.
- Sun, Y.; Meng, Y. (...) & Fu, X.** (2022). Indoor microbiome, air pollutants and asthma, rhinitis and eczema in preschool children - A repeated cross-sectional study. *Environment International*. 161, 107137. 10.1016/j.envint.2022.107137.
- Sundell, N.; Andersson, L. M. (...) & Westin, J.** (2019). PCR detection of respiratory pathogens in asymptomatic and symptomatic adults. *Journal of Clinical Microbiology*. 57, e00716–e00718.
- Sungnak, W.; Huang, N. (...) & Network HCALB.** (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nature Medicine*. 26(5), 681-7.
- Teo, S. M.; Mok, D. (...) & Inouye, M.** (2015). The infant nasopharyngeal microbiome impacts severity of lower respiratory infection and risk of asthma development. *Cell Host & Microbe* 17, 704–715.
- Teo, S. M.; Tang, H. H. F. (...) & Inouye, M.** (2018). Airway microbiota dynamics uncover a critical window for interplay of pathogenic bacteria and allergy in childhood respiratory disease. *Cell Host & Microbe* 24, 341–352.e5.
- Tiew, P. Y.; Jaggi, T. K. (...) & Chotirmall, S. H.** (2021). The airway microbiome in COPD, bronchiectasis and bronchiectasis-COPD overlap. *The Clinical Respiratory Journal*. 15(2), 123-133. 10.1111/crj.13294.
- Ventero, M. P.; Cuadrat, R. R. C. (...) & Rodriguez, J. C.** (2021). Nasopharyngeal microbial communities of patients infected with SARS-CoV-2 that developed COVID-19. *Frontiers in Microbiology*. 12, 637430.
- Wang, J.; Li, F. (...) & Tian, Z.** (2013). Bacterial colonization dampens influenza-mediated acute lung injury via induction of M2 alveolar macrophages. *Nature Communications*. 4, 2106.
- Wang, Z.; Locantore, N. (...) & Brightling, C. E.** (2021). Inflammatory endotype-associated airway microbiome in chronic obstructive pulmonary disease clinical stability and exacerbations: a multicohort longitudinal analysis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 203, 1488–1502.
- Wen, Z.; Xie, G. (...) & Wen, F.** (2018). Distinct nasopharyngeal and oropharyngeal microbiota of children with influenza A virus compared with healthy children. *Biomed Research International*. 2018, 6362716.
- Whiteside, S. A.; McGinniss, J. E. & Collman, R. G.** (2021). The lung microbiome: progress and promise. *The Journal of Clinical Investigation*. 131(15), e150473. 10.1172/JCI150473.
- Wu, B. G.; Sulaiman, I. (...) & Segal, L. N.** (2021). Episodic aspiration with oral commensals induces a MyD88-dependent, pulmonary T-helper cell type 17 response that mitigates susceptibility to *Streptococcus pneumoniae*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 203, 1099–1111.
- Wypych, T. P.; Wickramasinghe, L. C. & Marsland, B. J.** (2019). The influence of the microbiome on respiratory health. *Nature Immunology*. 20, 1279–1290.
- Zar, H. J.; Barnett, W. (...) & Nicol, M. P.** (2016). Childhood pneumonia - the drakenstein child health study. *The South African Medical Journal*. 106, 642–643

Zhou, Y.; Jackson, D. (...) & Beigelman, A. (2019). The upper-airway microbiota and loss of asthma control among asthmatic children. *Nature Communications*. 10, 1–10. 10.1038/s41467-019-13698-x.

Zipperer, A.; Konnerth, M. C. (...) & Krismer, B. (2016). Human commensals producing a novel antibiotic impair pathogen colonization. *Nature*. 535(7613), 511-6. 10.1038/nature18634.

Capítulo 5

La microbiota oral

Ma. Florencia Zacarías y Juan G. Costa

La composición de la microbiota oral a lo largo de la vida estará determinada por la transmisión materna, la genética del huésped y factores ambientales, tales como hábitos alimenticios, prácticas de higiene bucal, medicamentos, niveles de estrés, estado inmunitario y factores sistémicos (Marsh y col., 2000). La cavidad oral es un sistema ecológico altamente heterogéneo, conteniendo comunidades microbianas significativamente diferentes en distintas edades y etapas de la dentición (Lu y col., 2019). Es el primer órgano que se encuentra con alimentos y bebidas ingeridos. Los microorganismos exógenos pasarán por la cavidad oral antes de seguir al tracto gastrointestinal. Estas exposiciones ambientales directas en ausencia de epitelio queratinizado hacen que la cavidad oral sea un sitio altamente susceptible a la colonización (Sedghi y col., 2021).

Origen y evolución de la microbiota oral humana

La cavidad oral prenatal es estéril hasta el nacimiento; después se produce la colonización con microorganismos tras la exposición al ambiente externo. Luego del nacimiento, la colonización de la cavidad oral con microorganismos se manifiesta dentro de las 8 a 16 horas, como resultado de la transmisión vertical (a través de la exposición a la piel materna y microbiota vaginal), desde la dieta por la ingestión oral del bebé y horizontalmente (desde otras interacciones humanas) (figura 1).

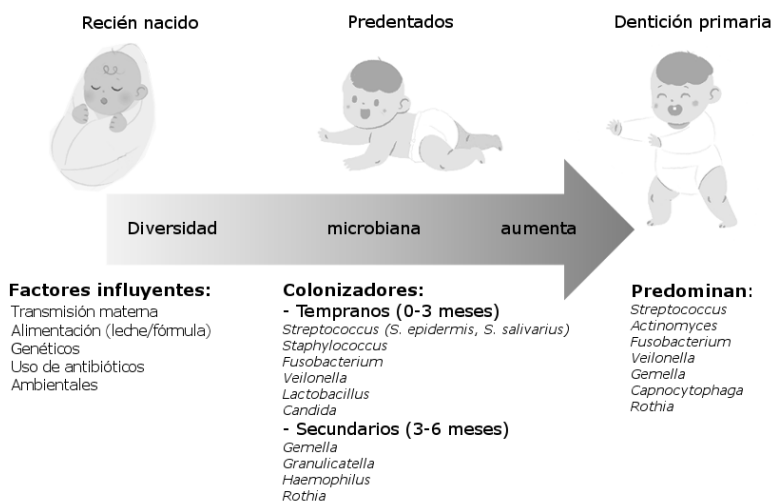


Figura 1. Desarrollo de la microbiota oral en la niñez temprana (Adaptado de Xiao y col., 2020)

La clase de parto definirá los colonizadores orales tempranos. Hay diferencias claras en los grupos bacterianos predominantes en las cavidades orales de los bebés nacidos por vía vaginal comparados con los nacidos por cesárea. *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y lactobacilos son más abundantes (en ese orden de mayor a menor) en los bebés nacidos por vía vaginal, mientras que *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Petrimonas* spp. son más abundantes (en ese orden de mayor a menor) en aquellos nacidos por cesárea (Sedghi y col., 2021).

En la saliva de bebés lactantes predestados hay una alta diversidad bacteriana, pero el género *Streptococcus* es el predominante. Otros géneros principales en las muestras de lactantes son *Veillonella*, *Neisseria*, *Rothia*, *Haemophilus*, *Gemella*, *Granulicatella*, *Leptotrichia* y *Fusobacterium*. Las superficies mucosas sirven como los principales sustratos disponibles para la colonización microbiana en la cavidad bucal infantil. Los estreptococos son capaces de adherirse a las células epiteliales y son un grupo bacteriano dominante en la leche materna. Como tal, las especies de estreptococos constituyen la mayoría de la microbiota oral infantil. *Streptococcus salivarius* demuestra la mayor abundancia relativa entre los recién nacidos y sufre una disminución constante después de los 3 meses de edad. *Gemella*, *Rothia*, *Granulicatella* y *Haemophilus*,

aparecen entre los 3-6 meses de edad y aumentan en cantidad con el tiempo. En el 85 % de los bebés, la composición de la comunidad microbiana oral es similar a la de sus madres, sugiriendo un rol significativo de la madre en la introducción de comunidades microbianas orales a sus hijos (Curtis y col., 2020; Xiao y col., 2020). Algunos estudios sugieren que existen diferencias en la composición de la microbiota oral de bebés alimentados con fórmula o con leche humana. Si bien el filo *Firmicutes* y el género *Streptococcus* son los más abundantes en ambos grupos en los primeros meses de vida, la detección de lactobacilos ha sido reportada, en particular, en los niños amamantados (Eshriqui y col., 2020).

La salida de los dientes temporales (o dientes de leche) es un momento importante en la evolución de la microbiota oral, ya que crea nichos adicionales como superficies de esmalte que no se desprenden, bordes dentogingivales y un entorno subgingival para la colonización de microorganismos. Además, se produce una marcada expansión de la diversidad funcional y filogenética microbiana oral, lo que sugiere la importancia de la interacción de los diferentes ecosistemas microbianos bucales y el inicio de la ingesta de alimentos sólidos. Por último, la erupción de los dientes conduce a la diferenciación entre la microbiota oral infantil y la microbiota materna, y tales cambios persisten entre los estados de dentición mixta y permanente (Sedghi y col., 2021). Los *Actinomyces* spp. orales son bacilos Gram (+) y se encuentran entre los primeros microorganismos en colonizar superficies dentales prístinas. Tienen la capacidad de coagregarse con *Streptococcus* y juntos formar la columna vertebral de la placa dental temprana. Las otras bacterias Gram (+) que aparecen inicialmente en la placa dental son: *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. intermedius*, *S. gordonii*, *Peptostreptococcus micros* y *Gemella morbillorum*. Por el lado de las Gram (-) en la placa dental inicialmente tendremos a *Veillonella parvula*, *V. atypica*, *Capnocytophaga ochracea* y *C. gingivalis* (Curtis y col., 2020). La expansión de las funciones microbianas en el momento de la erupción de los dientes refleja cambios en el ecosistema oral que incluyen la mayor expresión de genes relacionados con la adhesión, la formación de biopelículas, el transporte de membranas, la movilidad celular, los sistemas de secreción, la quimiotaxis, el ensamblaje de flagelos y la fosforilación oxidativa (Sedghi y col., 2021).

La placa dental es un tipo de biopelícula que se define como una comunidad microbiana diversa sobre la superficie dental, embebida en una matriz de polímeros de origen bacteriano y salival. La formación de la placa involucra la interacción entre las bacterias colonizadoras primarias y la película adquirida del esmalte. Los colonizadores secundarios se unen a las bacterias inicialmente

adheridas. La placa dental se desarrolla naturalmente pero también está asociada con dos de las enfermedades más prevalentes (caries dental y enfermedad periodontal) (Perez, 2005). La colonización de los niños por microorganismos asociados al desarrollo de caries está relacionada con la saliva de las personas del entorno más próximo al niño. La colonización oral por *S. mutans* ocurre desde el contacto directo e indirecto con personas emparentadas y/o sus cuidadores. Por lo general, la madre es la primera transmisora (Strużycka y col., 2014).

Aunque la microbiota oral en los bebés evoluciona con el avance de la edad, los colonizadores iniciales de la cavidad bucal permanecen como colonizadores permanentes que influyen en esta trayectoria de colonización hasta la edad adulta. La importancia de los colonizadores primarios sugiere que tales microorganismos pioneros juegan un papel clave en la determinación del desarrollo de la microbiota oral y, por lo tanto, el estado de salud oral a largo plazo. La composición de la microbiota bucal de una persona no solo afecta localmente la salud oral, sino que también puede afectar la salud sistémica a lo largo de la vida. Lo mismo sucederá en los niños; las alteraciones en la microbiota bucal desempeñarán un papel en los estados de enfermedad tanto local como sistémica (aparición de caries, formación de abscesos bucales, aumento de peso, apendicitis pediátrica y enfermedades inflamatorias del intestino) (Sedghi y col., 2021).

La caída de la dentición primaria, la presencia de dentición mixta y la aparición de dientes permanentes continúan alterando la microbiota oral en la vida temprana y la niñez. Sin embargo, a medida que los niños crecen, sus microbiotas orales tienden a estabilizarse y la diversidad bacteriana parece disminuir (Belibasakis, 2018; Sedghi y col., 2021). Esta supuesta estabilidad en la vida adulta no es una respuesta pasiva al medio ambiente, sino más bien el resultado del equilibrio dinámico de las interacciones interbacterianas y hospedador-bacteria, una propiedad que se acuñó con el término «homeostasis microbiana». Por ejemplo, durante la pubertad, el ciclo menstrual o durante el embarazo hay cambios significativos en la población de la microbiota oral (Li y col., 2022). Con el paso de las décadas, irán apareciendo niveles más altos de lactobacilos, estafilococos y *Candida* spp. En personas debilitadas, en pacientes con cáncer, bajo medicación citotóxica y/o tratamientos inmunosupresores también pueden aparecer enterobacterias oportunistas, estafilococos y *Candida* spp. La aparición de la candidiasis oral o de otras levaduras es común en los ancianos, atribuida principalmente a cambios fisiológicos de la mucosa oral, desnutrición, flujo salival reducido, ingesta de medicamentos, uso de dentaduras postizas y/o deterioro de la salud general. Además, en este grupo etario, las caries estarán más asociadas a *Actinomy-*

ces spp. y *Lactobacillus* spp. que a *S. mutans* (Belibasakis, 2018). Con respecto al periodonto, la microbiota del biofilm de individuos sanos sexagenarios consiste predominantemente de bacterias aerobias Gram (+) y menos de anaerobios Gram (-). La prevalencia de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* disminuye y *Porphyromonas gingivalis* aumenta con la edad. La mayor prevalencia de superficies radiculares expuestas y prótesis en ancianos favorece la colonización oral por *Actinomyces* spp. Otros sitios orales, como el dorso de la lengua, la mucosa y el paladar duro, exhiben perfiles más diversos (comúnmente pertenecientes a los géneros *Streptococcus*, *Veillonella* y *Fusobacterium*), mientras que las especies típicamente asociadas con caries y periodontitis pueden detectarse raramente. Esto no es sorprendente, ya que las poblaciones de edad avanzada tienden a albergar más microorganismos «superinfectuosos», lo que implica que pueden ocurrir formas «geriátricas» de periodontitis. En poblaciones extremadamente mayores, como las personas centenarias, se pueden encontrar microbiotas orales aún más diferenciadas (Belibasakis, 2018).

Composición de la microbiota oral

Después del colon, la microbiota oral representa la segunda microbiota más diversa en el huésped humano, con más de 700 especies bacterianas identificadas. En comparación con otros sitios del cuerpo colonizados (como el intestino y la piel), la microbiota oral tiene el conjunto más grande de microorganismos que se comparten entre individuos. Sus principales filos son *Actinobacteria* (géneros *Corynebacterium*, *Rothia* y *Actinomyces*), *Bacteroidetes* (géneros *Prevotella*, *Capnocytophaga* y *Porphyromonas*), *Chlamydiae*, *Euryarchaeota*, *Fusobacteria* (género *Fusobacterium*), *Firmicutes* (géneros *Streptococcus* y *Granulicatella*), *Proteobacteria* (género *Neisseria* y *Haemophilus*), *Spirochaetes* y *Tenericutes*. A su vez, el género más abundante es *Streptococcus*, con una abundancia superior al 10 % y presente en más del 75 % de las personas, específicamente *S. oralis*, *S. mitis* y *S. peroris*. Otros miembros centrales con más del 1 % de abundancia en al menos el 80 % de las personas pertenecen a la familia *Pasteurellaceae*, a los géneros *Gemella*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas*, *Neisseria*, *Capnocytophaga*, *Corynebacterium* y *Actinomyces*, y al orden *Lactobacillales* y familia *Lachnospiraceae*. También hay algunos filos y divisiones menos conocidos en la cavidad bucal, pero algunos son particularmente importantes porque sus miembros influyen en toda la ecología microbiana oral ya que modulan la jerarquía estructural y las funciones de la microbiota oral.

En cuanto a los otros integrantes de la microbiota oral, las arqueas son mucho menos numerosas y diversas que las bacterias, encontrándose exclusivamente en procesos patogénicos. Además, hay aproximadamente 100 especies de hongos en la cavidad oral, representando solamente el 0,004 % del total de microorganismos orales. Los géneros comunes son *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Cladosporium*, *Cryptococcus*, *Fusarium*, *Gibberella*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Saccharomycetales* y *Schizophyllum*. Finalmente, como parte del microbioma, el viroma oral consta de virus eucariotas (principalmente *Aneulloviridae*, *Herpesviridae* y *Papillomaviridae*) y fagos. En la actualidad, el consenso sobre los virus orales es que son personales y persistentes. Dentro de cada entorno, suelen pertenecer a la misma familia. (Sedghi y col., 2021, Li y col, 2022)

Microbiota bucal central

Las personas sanas contienen en sus bocas sistemas ecológicos altamente heterogéneos según los diferentes nichos orales, permitiendo contener comunidades microbianas significativamente diferentes (Li y col, 2022). Desafortunadamente una limitante para profundizar los estudios de los microorganismos orales encontrados por metagenómica, es que entre un 20 y un 60 % no se pueden cultivar por restricciones en las condiciones de cultivo (Lu y col., 2019).

Nichos bucales

La cavidad oral es un ecosistema extremadamente diverso, dinámico y único en el cuerpo humano, con un rasgo característico que es la inestabilidad de sus condiciones ecológicas. La cavidad oral consta de una membrana mucosa cubierta con un epitelio escamoso estratificado queratinizado (como el paladar) y un epitelio no queratinizado; la superficie papilar de la lengua y estructuras duras de los dientes por encima y por debajo del margen gingival, que no se desprenden. Cada zona posee diferentes superficies, ranuras y huecos (Struzycka y col., 2014). La temperatura, la disponibilidad de oxígeno, las concentraciones de CO₂, el pH, los nutrientes endógenos y exógenos, el ambiente redox, el flujo salival y las tensiones de masticación, entre otros factores, varían de un sector a otro dentro de la cavidad bucal, seleccionando microorganismos adecuados para cada nicho (Marsh y col., 2020; Li y col., 2022), como se detalla a continuación.

Saliva

La saliva de la mucosa oral contiene hasta 10^8 microorganismos/ml, siendo más abundantes los *Firmicutes* (Marsh y col., 2020; Pathak y col., 2021; Li y col., 2022). Debido a que su composición microbiológica incluye los microorganismos que se desprenden de varios nichos orales, la saliva era considerada un reservorio e incluso una «huella dactilar» individual de la microbiota oral total. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la microbiota de la placa supragingival o de líquido de enjuague bucal son más representativos (Marsh y col., 2020; Li y col., 2022).

La saliva influye en gran medida en la colonización y eliminación de microorganismos y juega un papel importante en las defensas físicas, químicas e inmunológicas de la cavidad oral. Contiene inmunoglobulinas salivales, péptidos antimicrobianos, lisozima (que provoca bacteriolisis), tripsina, α -amilasa, mucina, peroxidasas, estaterina, lactoferrina (inhibe el crecimiento bacteriano), lactoperoxidasa (bloquea el metabolismo de la glucosa) y lípidos antimicrobianos, entre otros. Por ejemplo, la ansiedad y los síntomas depresivos pueden afectar estos componentes salivales y alterar las bacterias de la misma, e incluso la alteración del flujo salival puede originar rápidamente una disbiosis. Debido a esto, se considera que la microbiota salival puede reflejar el estado de salud bucal y general del individuo. Los cambios en su composición pueden servir como biomarcadores para monitorear y pronosticar enfermedades como caries, cáncer bucal y enfermedad periodontal (Struzycka y col., 2014; Marsh y col., 2020; Li y col., 2022).

Superficies dentales

La superficie del diente es la única superficie que no se desprende en la cavidad oral, por lo que proporciona un entorno ideal para el crecimiento bacteriano y la formación de placa dental. La composición microbiana en la superficie dental está influenciada por la anatomía y fisiología de las superficies dentales y el área perigingival (figura 2).

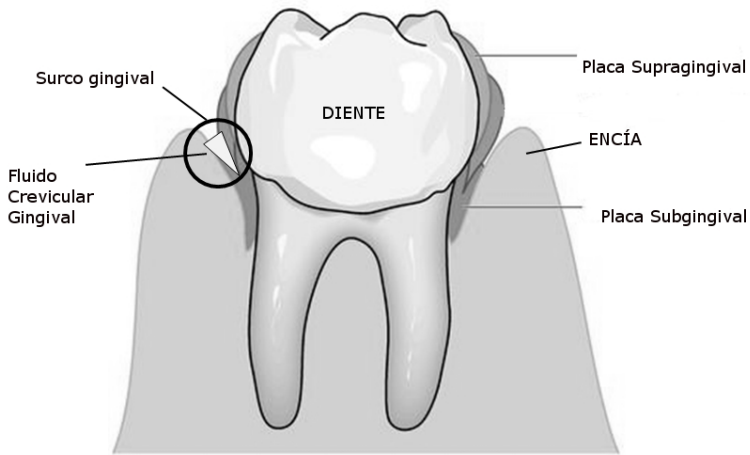


Figura 2 Ubicación de la placa bacteriana dental, supra y subgingival

Se ha demostrado que la placa dental tiene mayor diversidad microbiana y uniformidad que las muestras de saliva y lengua. Es de destacar que la placa en la superficie del esmalte supragingival está formada por la película adquirida, mientras que en los sitios subgingivales, el fluido crevicular gingival actúa como una fuente de nutrición y sus proteínas séricas se combinan con las proteínas salivales para formar una película proteica única. El efecto de barrera física de la encía también reduce significativamente la tensión de oxígeno, logrando diferencias entre las composiciones y estructuras de las microbiotas de la placa supragingival y subgingival. La primera está dominada por bacterias Gram (+), como *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. mitis* y lactobacilos, y suele ser la causa de las caries dentales, mientras que la última suele estar compuesta predominantemente de bacterias anaerobias Gram (+) como *Actinomyces* y anaerobias Gram (-) tales como *Veillonella*, *Actinobacillus*, *Campylobacter*, *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*, además de algunos cocos y bacilos Gram (+) protagonistas. La microbiota subgingival se asocia con gingivitis y enfermedad periodontal. La superficie de la corona de un diente también tiene su microbiota diferenciada (Struzycka y col., 2014; Belibasakis, 2018; Curtis y col., 2020; Li y col., 2022).

Superficies de tejido blando

Las características estructurales de la capa epitelial de la mucosa oral hacen que se desprenda continuamente, por lo que, si bien se coloniza por microorganismos orales, estos están relativamente restringidos. *Streptococcus* es el género más abundante en el tejido mucoso. La lengua, particularmente, tiene una mayor densidad y diversidad de microorganismos que otras superficies mucosas. Anaerobios facultativos y obligados (incluidos *Actinomyces*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Streptococcus* y *Veillonella*) son los principales microorganismos en la saburra lingual (lengua blanquecina), probablemente porque las papilas linguales proporcionan un ambiente anaeróbico. Otros géneros abundantes en la lengua son *Haemophilus*, *Leptotrichia* y *Neisseria* (Li y col., 2022).

Hay un vínculo entre el gusto y la microbiota de la lengua en ciertos grupos de individuos. Estos tienen umbrales más bajos para los sabores dulce, agrio, salado y amargo. Su microbiota tiene mayor abundancia principalmente en las especies de *Actinomyces*, *Oribacterium*, *Campylobacter*, *Solobacterium* y *Catonella*. De tal manera la microbiota oral puede influir en las preferencias alimenticias del hospedador (Sedghi y col., 2021).

Biopelículas microbianas orales

Las biopelículas o biofilms microbianos orales son entornos ecológicos complejos pero ordenados, con abundantes y diversos microorganismos. Los biofilms actúan protegiendo a sus habitantes frente a factores externos como antibióticos, anticuerpos, bacteriófagos y leucocitos. Dentro de estas estructuras hay interacciones biológicas. La proximidad mutua de las células fomenta el intercambio de información genética mediante la transferencia de plásmidos, incluidos los que codifican la resistencia a sustancias antimicrobianas. Además, la biopelícula madura posee numerosos canales llenos de líquido, que funcionan como un sistema de comunicación único entre los microorganismos en ella. Por el mismo se entregan nutrientes, oxígeno, enzimas, metabolitos, moléculas señal y se eliminan productos de desecho. La placa dental fue una de las primeras estructuras formadas por bacterias que se ha descrito como un biofilm. La mayoría de las bacterias de la cavidad bucal humana están asociadas con el biofilm dental (Strużycka y col., 2014).

La matriz de las biopelículas ayuda a las células a sobrevivir en sus respectivos nichos, jugando un papel clave en la malla de las células microbianas, proporcionando andamios tridimensionales para limitar la difusión de las

células y asegurando la heterogeneidad del microambiente. En particular, la matriz altamente estructurada en la placa dental producida por *S. mutans* proporciona sitios de unión para otros microorganismos (Li y col., 2022).

La biopelícula naturalmente puede alcanzar un espesor de 300 a 500 células en la superficie de los dientes. Las bacterias que forman parte de ella no suelen ceder ante los mecanismos de defensa activados por el sistema inmunitario. Solo ocasionalmente, los antibióticos u otras medidas antimicrobianas logran penetrar la sustancia pegajosa de polisacárido que rodea la biopelícula. Las concentraciones de agentes antimicrobianos utilizados para destruir los componentes del biofilm deben ser muy altas, incluso varios cientos de veces mayores que las necesarias para la destrucción de los microorganismos libres o planctónicos (Strużycka y col., 2014).

El biofilm comienza formándose sobre la base de la película adquirida en las superficies. Ahí las bacterias colonizadoras iniciales (como *S. gordonii*, *S. mitis*, *S. oralis* y *S. sanguinis*) se unen específicamente a sus receptores salivales complementarios a través de sus adhesinas de superficie. Los polisacáridos extracelulares, las proteínas estructurales, los fragmentos celulares y los ácidos nucleicos contribuyen a formar sustancias poliméricas extracelulares (EPS). De este modo, se forma un ecosistema tridimensional, con sistemas y conductos, compuesto por una variedad de microorganismos, EPS, proteínas y lípidos de los alimentos y la saliva. También se ha encontrado la participación de células epiteliales humanas en la estructura de algunos biofilms. *Fusobacterium nucleatum* y los géneros *Corynebacterium* y *Veillonella* desempeñan el rol de puente entre los colonizadores tempranos y posteriores en el biofilm. Durante la maduración de las biopelículas orales, las bacterias principales cambian de *Streptococcus* en la etapa temprana a anaerobios obligados más tarde (por ejemplo, *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Porphyrromonas* y *Prevotella*). Los microorganismos anaerobios obligados tienden a quedar en el interior, mientras que los microorganismos aeróbicos facultativos u obligados permanecen en la periferia. Los microorganismos que consumen o producen el mismo metabolito tienden a permanecer cerca unos de otros. En un biofilm los individuos se comunican entre sí, contrariamente a lo que pasa en las colonias. La comunicación entre especies iguales o diferentes está mediada por señales químicas sintetizadas y secretadas por bacterias. Algunas especies no pueden formar biopelículas sin interactuar con individuos de otras especies. A su vez, las bacterias Gram (+) y Gram (-) han desarrollado sistemas de comunicación completamente diferentes. Esta comunicación entre bacterias puede alterar su comportamiento fisiológico, competencia, patogenicidad,

resistencia a los medicamentos, simbiosis, conjugación, movilidad, estructura y/o composición del biofilm y/o formación de esporas (Li y col., 2022).

Factores que intervienen en el equilibrio entre salud y enfermedad

Dos de los factores más influyentes en la composición de la microbiota bucal en individuos sanos, son la edad y la dieta (Lu y col., 2019). La dieta proporciona recursos nutricionales para la microbiota oral y también sirve como presión selectiva al enriquecer a los microorganismos mejor adaptados para utilizar recursos alimenticios específicos. Grandes cambios en las dietas a lo largo de la historia han generado cambios significativos en la microbiota oral. Luego de la Revolución Industrial, se desarrolló la Dieta Occidental, caracterizada por alimentos básicos como carnes de animales de granja, productos lácteos, aceites vegetales refinados y granos de cereales procesados, diferentes a las dietas agrícolas anteriores. Tales cambios en la dieta fueron paralelos a cambios patológicos en la microbiota oral, incluida una mayor representación de organismos productores y tolerantes de ácido y patógenos periodontales (Sedghi y col., 2021). Se ha demostrado que comer demasiada carne implica un alto riesgo de enfermedades orales. Por otro lado, la composición de la microbiota oral en los vegetarianos se altera significativamente en todos los niveles taxonómicos, incluidos los patógenos orales como *Neisseria* y *Haemophilus* (Lu y col., 2019). Mientras que la dieta influye en la microbiota oral, ésta a su vez también influye en las preferencias alimenticias de su huésped. Ciertas bacterias, como los géneros *Clostridium* y *Prevotella*, alteran los umbrales de sabor dulce, agrio, salado y amargo, favoreciendo su persistencia en la cavidad bucal. Los hábitos de higiene oral son otros factores constantes de influencia sobre la microbiota oral. El cepillado de dientes y el uso de hilo dental son importantes herramientas para romper la placa, cuyos habitantes microbianos pueden causar la desmineralización de los dientes y la inflamación gingival a largo plazo (Sedghi y col., 2021).

Toda la cavidad bucal se humedece constantemente con saliva, una secreción con innumerables cantidades de diferentes clases de ingredientes biológicamente activos. La saliva es la principal fuente de nutrientes para los microorganismos, los cuales determinarán en gran medida la calidad y cantidad de microorganismos que habitan en la cavidad oral. El flujo de saliva, el proceso de masticación y la higiene bucal eliminan una gran cantidad de bacterias de la cavidad bucal. Por lo tanto, la tasa de flujo de saliva y su calidad

son críticos no solo en el inicio y desarrollo de las caries dentales sino también en el proceso de remineralización de las lesiones cariosas tempranas. Un aumento en la tasa de secreción salival ayuda a reducir el tiempo de exposición del esmalte dental a los ácidos y acelera la normalización del pH en su entorno después de una comida que contiene productos alimenticios cariogénicos. Así, facilita el mantenimiento del pH de la placa microbiana a un nivel que asegure la integridad de la composición mineral del esmalte. Carbohidratos y fosfatos son los compuestos amortiguadores que mantienen el equilibrio iónico entre el esmalte y la saliva (Struzycka y col., 2014).

Otro de los mecanismos por los cuales los microorganismos comensales promueven la salud oral es a través de la resistencia a la colonización por patógenos. Los comensales superan a las especies patógenas en la utilización de los sustratos de colonización, impidiendo la integración de los patógenos exógenos. *Streptococcus sanguinis*, *S. cristatus*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *Actinomyces naeslundii* y *Haemophilus parainfluenzae* reducen la capacidad de *Porphyromonas gingivalis* para adherirse al sustrato. Al mismo tiempo, personas con buena salud oral contienen cepas de *Streptococcus*, *Actinomyces* y *Bifidobacterium*, que pueden inhibir el crecimiento de *P. gingivalis*.

Los estados de enfermedad oral son inducidos por la disbiosis de la microbiota oral. Dicha disbiosis es provocada por varios factores que incluyen la dieta del huésped, las respuestas inflamatorias, las alteraciones sistémicas y hábitos como la ingesta de alcohol y el tabaquismo. La caries dental se atribuye a la alta ingesta de carbohidratos en la dieta, lo que lleva a una mayor producción de ácido por parte de los microorganismos (que reduce la capacidad de amortiguación de la saliva), reducciones en el pH salival, mayor producción de matriz de exopolisacárido de biopelícula (que atrapa y concentra los ácidos en las superficies del esmalte) y la inducción de ciclos de retroalimentación positiva que fomentan el crecimiento de especies acidúricas y acidogénicas (Struzycka y col., 2014). Algunos microorganismos comensales pueden amortiguar el ácido producido por las bacterias a través de la producción de subproductos metabólicos alcalinos. La Respuesta de Stephan describe la homeostasis del pH después de pulsos de carbohidratos en la cavidad oral: las vías que generan álcali, incluidas las que producen arginina, ornitina, citrulina, glutamato, serina, treonina y urea, se estimulan después de ingesta de glucosa (Sedghi y col., 2021).

Caries

La caries es la enfermedad infecciosa crónica más común en la boca y puede conducir a la destrucción crónica y progresiva del tejido duro dental. Las bacterias son las principales responsables, especialmente *Streptococcus mutans*. Las caries tienen un amplio espectro y alta incidencia, pudiendo presentarse a cualquier edad, y siendo la causa más común de pérdida de dientes y dolor en la cavidad oral. En las primeras etapas de progreso de la caries, puede detenerse o revertirse; pero si no se trata, la enfermedad puede avanzar también hasta la formación de abscesos, afectación pulpar, disfunciones del aparato masticatorio e infecciones odontogénicas sistémicas (Lu y col., 2019; Sedghi y col., 2021).

La caries dental puede aparecer si se descuida la higiene y la dieta incluso por unas pocas semanas. Aunque es una enfermedad multifactorial, la dieta es uno de los factores más importantes asociados con la colonización de la cavidad oral por bacterias cariogénicas (Strużycka y col., 2014). La caries dental se produce como resultado de un cambio en la composición del biofilm en la superficie dental, un desequilibrio microbiológico dentro de la biopelícula. La ingesta frecuente de carbohidratos puede alterar la ecología de esta comunidad mediante la selección de especies acidogénicas y acidófilas. (Selwitz y col., 2007; Horiuchi y col., 2009; Strużycka y col., 2014). En condiciones de pH ácido, los microorganismos cariogénicos se multiplican de manera eficiente y toman la posición dominante en la biopelícula. Producen ácidos débiles (ácidos láctico, fórmico, acético y propiónico) como productos del metabolismo de los carbohidratos. La presencia de estos ácidos provoca una disminución del pH por debajo del valor crítico (5,0-5,5), lo que lleva a la desmineralización de los cristales de hidroxiapatita en el esmalte dental. Esto genera el escape de fosfatos y carbonatos de calcio de la superficie del esmalte, generando una cavidad cariosa. El proceso de desmineralización es reversible en las primeras etapas, mediante remineralización natural por la captura de calcio, fosfato y flúor desde la saliva. En la mayoría de las personas, los procesos de desmineralización y remineralización ocurren en los dientes muchas veces al día. La remineralización es el resultado del ajuste del pH en la cavidad bucal por la acción de la saliva (Strużycka y col., 2014).

Como se dijo, *Streptococcus mutans* tiene un papel principal como patógeno en la etiología de la caries dental. Sin embargo, en la etapa inicial del desarrollo de la placa, *S. mutans* representa solo el 2 % de la población de estreptococos (boca sana), ya que no es la única bacteria implicada en el proceso de la caries dental. El inicio resulta de la actividad de estreptococos no-*mutans* y

Actinomyces (microorganismos acidúricos y acidogénicos). Cuando cambian las condiciones en la boca y comienza a acidificarse, se genera una multiplicación selectiva en la placa dental de estreptococos no-*mutans* de pH bajo, más acidogénicos y acidófilos en comparación con las bacterias originales, cambiando el equilibrio de los procesos de desmineralización y remineralización, hacia la desmineralización. Esto conduce a un mayor desarrollo de *S. mutans* y lactobacilos y la progresión del proceso carioso. En condiciones de acidificación severa y prolongada del ambiente (incluso $\text{pH} < 4,0$), las bacterias más acidógenas y acidófilas comienzan a dominar: *S. mutans* y *S. sobrinus*, lactobacilos, *Actinomyces*, bifidobacterias y levaduras. El proceso carioso progresa con más cambios en la composición de la placa bacteriana. El porcentaje de *S. mutans* aumenta en la placa dental en la etapa de lesiones del esmalte, pero los estreptococos no-*mutans* siguen siendo dominantes. Finalmente, en las etapas avanzadas de la caries, la proporción de *S. mutans* asciende a alrededor del 30 % de la microbiota total de la placa (Struzycka y col., 2014).

Enfermedades gingivales y periodontales

Las enfermedades gingivales son diferentes patologías que se encuentran confinadas a la encía y no afectan de ningún modo a la inserción ni al resto del periodonto. El interés por las alteraciones gingivales se basa no por su gravedad, sino por su enorme prevalencia en la población. Las enfermedades periodontales provocan la destrucción del periodonto (tejidos de soporte del diente como la encía y el hueso alveolar) y constituyen un factor de riesgo potencial para ciertas enfermedades sistémicas (Matesanz-Pérez y col., 2008; Lu y col., 2019). Si bien las características inflamatorias de la gingivitis son en su mayoría reversibles, la periodontitis produce un daño irreversible a largo plazo en los tejidos periodontales y el hueso alveolar.

La enfermedad periodontal es causada por la disbiosis de las comunidades microbianas subgingivales que afecta negativamente al sistema inmunitario del huésped. Esto genera y mantiene una inflamación absoluta en los tejidos gingivales y periodontales, impidiendo la recuperación del tejido. *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* y *Porphyromonas gingivalis* son las especies más frecuentes y con niveles muy altos en las diferentes clases de periodontitis. También se encuentran *Fusobacterium nucleatum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Lu y col., 2019). Los procesos inflamatorios tempranos, como la gingivitis, pueden mitigarse mediante la higiene bucal y la eliminación del biofilm bacteriano (Sedghi y col., 2021). El raspaje y alisado radicular es

uno de los procedimientos utilizados para eliminar la placa dental acumulada por debajo de la encía.

La disbiosis de la microbiota asociada a la enfermedad, puede ser impulsada por alteraciones en las condiciones ambientales locales, a veces la propia respuesta inflamatoria del huésped. Las respuestas inflamatorias e inmunitarias descontroladas pueden ser las principales responsables de la destrucción del tejido. Se puede asegurar que las bacterias causan gingivitis ya que su eliminación conduce a la reversión de esta condición inflamatoria. Sin embargo, los factores que determinan la progresión de gingivitis a periodontitis están menos establecidos. La disbiosis está claramente asociada con la periodontitis, pero si la disbiosis causa la enfermedad o es el resultado de la enfermedad, es una cuestión no definida (Curtis y col., 2020).

Halitosis

Es el olor desagradable procedente del aliento de una persona. La biopelícula de la lengua está estrechamente asociada con la halitosis. También se asocia a la fermentación de aminoácidos para producir energía por bacterias como *Actinomyces*, *Veillonella* y *Fusobacterium*. Aunque no están claros todos los factores que la generan, la producción bacteriana de compuestos volátiles de azufre (vsc), como sulfuro de hidrógeno y metil-mercaptano, es uno de ellos. *Prevotella* y *Porphyromona*, como otras bacterias asociadas a la periodontitis, también pueden producir sulfuro de hidrógeno. (Takahashi, 2015; Fernández Amézaga y col., 2022).

Enfermedades de las mucosas

La Leucoplasia oral (OLK), el Liquen plano oral (LPO) y el Lupus eritematoso sistémico (LES) son enfermedades comunes de la mucosa oral o manifestación específica de enfermedades sistémicas en la mucosa oral. OLK se define como una lesión oral blanca generalmente asintomática, no relacionada con otra enfermedad. El LPO es una inflamación mucocutánea crónica común, con una prevalencia que varía de 0,1 a 4 %. Es una de las enfermedades autoinmunes inflamatorias crónicas más comunes, pero con riesgo de convertirse en cáncer a largo plazo. El LES es una enfermedad autoinmune crónica con un curso heterogéneo y compromiso sistémico. Es el resultado de una vía patogénica compleja que culmina en la formación de autoanticuerpos. Varios

estudios han demostrado que las bacterias juegan un papel importante en estas enfermedades de las mucosas y en todas, la microbiota oral se encuentra alterada (Lu y col., 2019).

Cáncer oral

Varios factores influyen en su aparición y desarrollo, como los genes, las bacterias y el estado corporal. En la cavidad oral, las bacterias convierten el etanol de las bebidas alcohólicas en acetaldehído, un carcinógeno. Hay un vínculo entre la microbiota y el cáncer oral; las poblaciones de *Bacillus*, *Enterococcus*, *Parvimonas*, *Peptostreptococcus* y *Slackia*, se encuentran alteradas en esta patología. El carcinoma de células escamosas es la neoplasia maligna más frecuente de la cavidad oral y los sitios adyacentes, representando más del 90 % de todos los cánceres de boca (Lu y col., 2019).

Periimplantitis

Los implantes dentales se utilizan comúnmente para reemplazar los dientes perdidos. Sin embargo, generan algunas complicaciones como la periimplantitis, enfermedad infecciosa caracterizada por inflamación del tejido que rodea el implante, sangrado al sondaje con o sin supuración y pérdida ósea. Existen algunas diferencias entre la microbiota oral de pacientes con periimplantitis e individuos sanos, particularmente respecto a *Eubacterium minutum* (Lu y col., 2019).

Microbiota oral y enfermedades sistémicas

La influencia de la microbiota oral no se limita a la boca. Se han detectado microorganismos asociados a la cavidad oral en muchos órganos distantes, incluidos el intestino delgado, los pulmones, el corazón, la placenta y el cerebro. Se han establecido muchas asociaciones entre los microorganismos bucales y otras afecciones crónicas comunes, como las enfermedades cardiovasculares y la presión arterial alta. Los datos disponibles son escasos pero las primeras investigaciones demuestran que los microorganismos asociados a la cavidad oral pueden influir en las respuestas inmunitarias y la patogénesis de la enfermedad fuera de la cavidad oral, y que su capacidad para colonizar sitios

ectópicos depende del estado de salud actual del sitio. Esto sugiere que la microbiota oral sirve como reservorio de patógenos que pueden contribuir o exacerbar la enfermedad en órganos remotos (Sedghi y col., 2021). Se han identificado tres mecanismos que relacionan la infección oral con una patología sistémica: la propagación de la infección desde la cavidad oral como resultado de una bacteriemia transitoria, circulación de toxinas microbianas e inflamación sistémica causada por respuestas inmunológicas adversas a los microorganismos orales.

La cavidad oral produce entre 0,75 y 1,5 L de saliva al día y la mayoría se traga. Por lo tanto, las bacterias orales se transfieren con frecuencia al intestino, aunque la mayoría no están adaptadas para sobrevivir en un tracto gastrointestinal inferior saludable. Sin embargo, en el intestino de pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, VIH, cirrosis hepática y cáncer de colon, se encuentran niveles elevados de microorganismos asociados a la boca. Estas enfermedades comúnmente se relacionan a una microbiota intestinal perturbada, indicando la capacidad de los microorganismos orales para colonizar ectópicamente en una desregulación inmunitaria (Sedghi y col., 2021).

Finalmente, la disbiosis microbiana oral está asociada a otras enfermedades sistémicas variables, entre las que se incluyen colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, cáncer de páncreas, enfermedad de Alzheimer, diabetes, complicaciones en el embarazo, obesidad, síndrome de ovario poliquístico, artritis reumatoide y aterosclerosis. Se ha podido identificar individuos con algunas de estas afecciones, buscando alteraciones específicas en la microbiota oral. La colonización en diversos órganos por bacterias de la cavidad oral podría generar o fomentar estas enfermedades (Lu y col., 2019).

Acción metabólica de la microbiota bucal

Existe una fuerte correlación entre los cambios de composición y metabólicos en la placa dental y la transición de un estado de salud oral a enfermedad. Algunos microorganismos asociados con la salud dental son aquellos capaces de producir álcalis, lo cual puede afectar positivamente el balance entre mineralización y desmineralización de los dientes, y ayudar a prevenir el desarrollo de microorganismos cariogénicos. Las dos vías principales de alcalinización y neutralización de ácidos incluyen la hidrólisis de urea y el metabolismo de la arginina a través del sistema arginina deiminasa (ADS) (Liu y col., 2012). La urea de la saliva es el principal sustrato generador de alcalinidad en la cavi-

dad oral y puede convertirse en amoníaco y dióxido de carbono por bacterias como *S. salivarius* y *Actinomyces naeslundii*. La arginina es abundante en la saliva, como polipéptidos o libre, y se puede degradar en varias etapas a ornitina, amoníaco y dióxido de carbono, vía ADS. Esta serie de reacciones, que produce moléculas alcalinas que contrarrestan la acidificación bacteriana, es compartida por algunas bacterias como *S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. gordonii*, ciertos lactobacilos y *Actinomyces*. En general, la fermentación bacteriana de aminoácidos, donde se libera amoníaco seguido de algún ácido orgánico y dióxido de carbono, produce sustancias tanto ácidas como alcalinas pero que, globalmente, neutralizan el ambiente ácido. La descarboxilación de aminoácidos produce dióxido de carbono y aminas, que también conducen a la neutralización de ácidos. Por ejemplo, el glutamato, la arginina y la histidina, se descarboxilan en γ -aminobutirato, agmatina e histamina, respectivamente; algunos de los cuales además son mediadores inflamatorios. Los ácidos producidos pueden degradarse o modificarse aún más para dar dióxido de carbono y/o ácidos más débiles, que también reducen la acidez. *Veillonella* convierte el lactato en formiato, acetato y propionato, mientras que lactobacilos y *Actinomyces* convierten el lactato en acetato. El malato puede ser descarboxilado a lactato por los estreptococos, reduciendo la acidez del ambiente. Este último mecanismo protege a los estreptococos del estrés ambiental, como el pH ácido, la oxidación y la inanición. Algunas bacterias, incluida *Pseudoramibacter alactolyticus*, pueden convertir acetato y butirato en butirato y caproato, respectivamente (sales de ácidos más débiles), disminuyendo la acidez del medio ambiente (Takahashi, 2015).

Metabolismo bacteriano en placa supragingival y caries dental

La saliva nutre principalmente las bacterias de la placa supragingival. En una primera instancia, sus nutrientes se metabolizan a monosacáridos y aminoácidos. *Streptococcus*, *Actinomyces* y lactobacilos, junto con otras bacterias supragingivales, metabolizan los monosacáridos a ácidos y los aminoácidos a, principalmente, ácidos y amoníaco. Cuando se suministran azúcares en la dieta, la acidificación del ambiente genera la desmineralización de las superficies dentales pero la producción de álcalis bacterianos contribuye a la remineralización. Por ejemplo, el lactato puede ser convertido a sales de ácidos más débiles, como acetato y propionato, por *Veillonella*, *Lactobacillus* y *Actinomyces*, disminuyendo la acidez global (Takahashi, 2015).

Metabolismo bacteriano en placa subgingival y enfermedad periodontal

El fluido crevicular gingival y el epitelio descamado son las principales fuentes de nutrientes para la placa subgingival, ya que contienen glicoproteínas, proteínas, péptidos y aminoácidos. Además de la degradación oxidativa que se da en la placa supragingival, en la placa subgingival la fermentación anaerobia ocurre con mayor importancia. Los compuestos nitrogenados se pueden degradar en ácidos grasos de cadena corta, amoníaco, compuestos de azufre e indol/ escatol por bacterias subgingivales, incluyendo *Fusobacterium*, *Prevotella* y *Porphyromonas*. En general, la placa subgingival mantiene una homeostasis metabólica, y la producción de ácidos y álcalis resulta en el mantenimiento de un pH subgingival casi neutro, débilmente alcalino. Sin embargo, en algunos casos los productos citotóxicos bacterianos (ácidos grasos de cadena corta, amoníaco y compuestos de azufre) pueden inducir respuestas de defensa del huésped y profundizar las grietas periodontales aumentando la secreción de fluido crevicular gingival y un mayor número de bacterias degradadoras de aminoácidos y proteolíticas, como *Fusobacterium* y *Prevotella*. El aumento de la inflamación y el sangrado del hospedador a su vez puede introducir más bacterias periodonto-patógenas, como *P. gingivalis* (utiliza la hemina de la hemoglobina sanguínea) y treponemas orales (requieren ácidos grasos de cadena ramificada y cadena corta, producidos por *P. gingivalis*). Algunos compuestos citotóxicos en la placa subgingival también son moléculas que generan mal olor (Takahashi, 2015; Sedghi y col., 2021).

Metabolismo bacteriano sobre la lengua

La saliva y el epitelio descamado son las principales fuentes de nutrientes para el recubrimiento de la superficie de la lengua, proveyendo glicoproteínas, proteínas, péptidos y aminoácidos. Estos nutrientes pueden degradarse en ácidos grasos de cadena corta, amoníaco, compuestos de azufre e indol/escatol por las bacterias que recubren la lengua, incluyendo *Actinomyces*, *Veillonella* y *Fusobacterium*. La producción de moléculas asociadas con el mal aliento se potencia por algunas degradaciones de cadenas de azúcar y núcleos proteicos en esta zona (Takahashi, 2015).

Otras funciones de la actividad metabólica oral sobre la salud

El nitrato suministrado por los vegetales verdes se convierte en nitrito por bacterias orales, incluidas *Actinomyces* y *Veillonella*, e inhibe la producción de ácido bacteriano, contribuyendo a la prevención de caries. Luego, el nitrito se reduce a ácido nítrico en el estómago, se absorbe a nivel de los intestinos y se reoxida a nitrato en la sangre, antes de ser secretado desde esta a la saliva. Este proceso se conoce como circulación de nitrato enterosalival y aprovecha el 25 % del nitrato ingerido. Se ha descubierto que el nitrito contribuye a la salud sistémica al estimular el sistema circulatorio. En el torrente sanguíneo el ácido nítrico también se convierte en óxido nítrico, que es importante para la salud cardiovascular por sus efectos vasodilatadores y antihipertensivos. La disfunción de la señalización del óxido nítrico se asocia con hipertensión pulmonar, obesidad y enfermedad cardiovascular (Hezel y Weitzberg, 2015; Takahashi, 2015).

Uso de probióticos como estrategia para corregir la disbiosis oral

Los probióticos han surgido en los últimos años como una herramienta promisoriosa para el cuidado de la salud oral. Inicialmente, muchos de los candidatos examinados para salud oral fueron probióticos de origen intestinal. Estos probióticos «tradicionales» están destinados principalmente a proporcionar beneficios para la salud intestinal y generalmente no persisten dentro de la microbiota oral después su ingesta. Por el contrario, los probióticos orales «autóctonos» provienen originalmente de la microbiota bucal y sus efectos beneficiosos resultan principalmente (aunque no exclusivamente) de su interacción con los microorganismos y/o células dentro de la cavidad oral (Tagg y col., 2023). En la actualidad, estos se concentran en lactobacilos, *Streptococcus salivarius* y *Weissella*, con cepas probióticas comerciales aisladas de la cavidad oral como *Limosilactobacillus reuteri* ATCC PTA 5289, *Levilactobacillus brevis* CECT7480, *Weissella cibaria* CMU o las cepas de *Streptococcus salivarius* S12 y M18 (Zhang y col., 2022). Los formatos de los desarrollos comerciales varían desde cápsulas o grageas dispersables, hasta enjuagues bucales, pastas dentales y chicles.

Para las células en estado planctónico, integrarse a una comunidad microbiana pre-establecida como lo es la microbiota oral puede resultar difícil. Por esto, las características claves de los probióticos orales deben incluir fuertes repertorios de moléculas anti-competidores, como ácidos orgánicos, peróxido

de hidrógeno, bacteriocinas y sustancias inhibitorias tipo-bacteriocinas (*BLIS*, según su sigla en inglés), y de estructuras de superficie que faciliten su adhesión específica dentro de la cavidad oral. Otros atributos importantes son la habilidad de estimular la inmunidad innata y modular la respuesta inmune celular y humoral, protegiendo al hospedador de reacciones inflamatorias inducidas por patógenos, o la capacidad de liberar enzimas útiles como ureasa (contrarresta la acidogénesis) y dextranasa (reduce la acumulación de placa) (Tagg y col., 2023).

Varios estudios tanto *in vitro* como *in vivo* han evaluado el efecto de los probióticos en la salud oral; sin embargo, los estudios clínicos en humanos aún son limitados (Han y col., 2023). A continuación se describe la evidencia del efecto del uso de probióticos en caries dental, enfermedad periodontal, halitosis, candidiasis oral y otros (úlceras, mucositis y cirugías).

Caries

Los avances relacionados a la metagenómica han permitido descubrir la composición de comunidades microbianas relacionadas con un estatus no cariogénico. Esto apoya la idea de usar bacterias asociadas al estado saludable como los probióticos para el control de caries (Angarita Díaz, 2016). Debido a que *S. mutans* es el principal microorganismo señalado en el desarrollo de caries, la mayoría de los estudios han evaluado la capacidad inhibitoria de los probióticos frente a este microorganismo mediante pruebas *in vitro*, o bien midiendo la reducción de sus niveles en saliva. (Haukioja, 2010). Un multitudinario estudio en 594 niños de entre 1 y 6 años mostró que aquellos que consumieron leche con *L. rhamnosus* GG, 5 días a la semana durante 7 meses, presentaron menor incidencia de caries comparado con aquellos que consumieron leche sin probióticos (Näse y col., 2001). Similarmente, Rodríguez y col. (2016) observaron, en un estudio en el que participaron 205 niños de edad preescolar, que luego de consumir leche suplementada con *L. rhamnosus* SPI por 10 meses, la prevalencia de caries disminuyó, mientras que el desarrollo de nuevas lesiones cavitadas fue significativamente mayor en el grupo control. Estudios empleando cepas probióticas de *L. reuteri* también mostraron resultados interesantes. En un estudio piloto con 36 adolescentes sanos de 12 a 17 años, la administración de dos comprimidos diarios que contenían dos cepas de *L. reuteri* (DSM 17938 y ATCC PTA 5289) durante 3 meses, no produjo diferencias significativas en lesiones de caries tempranas respecto al grupo placebo (Keller y col., 2014). Otro estudio evaluó el efecto de la suplementa-

ción oral diaria con el probiótico *L. reuteri* ATCC 55730 (en formato de gotas de aceite) a madres durante el último mes de gestación y sus niños hasta el primer año de vida, sobre la salud bucal de estos últimos a los 9 años de edad. Los resultados mostraron un mayor número de niños libres de caries y menor prevalencia de lesiones cariosas proximales en el grupo probiótico (Stensson y col., 2014). En cuanto al uso de cepas probióticas de *Streptococcus* para la prevención de caries, aunque estudios *in vitro* hayan mostrado resultados prometedores, los estudios clínicos no han demostrado resultados claros (Poorni y col., 2019). Cabe aclarar que dado que, durante su metabolismo, los lactobacilos y en general las bacterias ácido lácticas (grupo al que pertenecen gran parte de los probióticos), producen ácidos que podrían incrementar el riesgo de caries, algunos estudios han evaluado este potencial cariogénico e incluso propuesto una correlación entre los niveles de lactobacilos en saliva y el desarrollo de caries dentales (Badet y Thebaud, 2008). Sin embargo, en la actualidad no hay resultados concluyentes en cuanto al potencial benéfico (o por contraposición cariogénico) de los lactobacilos, principalmente debido a la gran heterogeneidad de los estudios y las metodologías aplicadas (Badet y Thebaud, 2008; Gruner y col., 2016). En general, es aceptado que *L. rhamnosus* GG es no cariogénico ya que se establece en la saliva (no en la placa dental) y actuaría en la prevención de caries a través de bacteriocinas (Homayouni Rad y col., 2023). Por su parte, además de la producción de bacteriocinas o BLIS, los probióticos pertenecientes a la especie *L. reuteri* no tendrían actividad cariogénica debido a que serían capaces de aumentar el pH en la cavidad oral en presencia de arginina (actividad arginolítica), mientras que *S. salivarius* podría hacerlo a causa de la producción de amonio a partir de arginina y urea, mediante la expresión del gen de la ureasa (Angarita Díaz, 2016).

Enfermedad periodontal

Existe un creciente interés en el uso de probióticos en terapia y cuidado periodontal. Hay varias formas de aplicación de probióticos: aquellos comercializados y estudiados en terapia periodontal se ofrecen usualmente en formato de cápsulas o grageas dispersables mientras que los enjuagues bucales y pastas dentales son a menudo utilizados para el cuidado de la salud periodontal (Zhang y col., 2022). La presencia de placa bacteriana es un factor decisivo en la aparición y la progresión de la gingivitis y la periodontitis (Kürschner, 2019). Estudios recientes han revelado que varios probióticos podrían efectivamente inhibir los periodonto-patógenos y mejorar varios índices relaciona-

dos con la salud periodontal como el índice de placa (PI), índice gingival (GI), sangrado al sondaje (BOP), profundidad de bolsa periodontal (PPD), pérdida de inserción clínica (CAL) y el fluido crevicular gingival (GCF), así como marcadores bioquímicos asociados a inflamación (Zhang y col., 2022). Brevemente, PI refleja la situación actual de la placa, GI muestra la reacción inflamatoria en la encía como respuesta a la exposición a la placa, BOP indica la presencia de inflamación en las bolsas periodontales, PPD y CAL marcan si el proceso inflamatorio se vuelve crónico y comienza la degradación de los tejidos de soporte, y el GCF es un fluido fácil de recolectar y que contiene marcadores sistémicos y locales útiles para monitorear la enfermedad y la evolución de su tratamiento.

Los primeros informes del uso de un sobrenadante de *L. acidophilus* para fortalecer la salud oral se remontan a 1954, para el tratamiento de la inflamación periodontal (Haukioja, 2010). En las últimas tres décadas, varios estudios han evaluado a cepas de *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. casei* (cepa Shirota), *L. salivarius*, *W. cibaria* y *B. subtilis*, con resultados heterogéneos. El uso de chicles conteniendo cepas de *L. reuteri* (ATCC 55730 y ATCC PTA 5289) mejoró la salud gingival de adultos saludables con niveles moderados de inflamación gingival, disminuyendo el sangrado de las encías y los niveles de citoquinas pro inflamatorias en GCF (Twetman y col., 2009). Otros resultados incluyen disminución en la actividad MMP (colagenasa) y otros marcadores inflamatorios en saliva luego del uso de grageas con *L. brevis* CD2 o reducción de la profundidad de las bolsas periodontales, mejora del PI y disminución en los niveles de algunos periodonto-patógenos en la placa, luego del consumo de comprimidos conteniendo *L. salivarius* WB21 (Della Riccia y col., 2007; Mayanagi y col., 2009). Aunque en estos estudios se han obtenido resultados alentadores, en otros las diferencias observadas fueron bastante pequeñas, aunque estadísticamente significativas (Haukioja, 2010). La administración diaria de grageas dispersables de *W. cibaria* CMU durante 8 semanas, acompañando el raspaje y alisado (procedimiento de remoción de la placa), mejoró el indicador BOP y redujo los niveles de *F. nucleatum*, aunque no modificó otros parámetros como PD, GI y PI. Estos resultados sugieren que la suplementación con esta cepa podría contribuir a la salud oral. Sin embargo, cabe destacar que estos resultados se obtuvieron en personas sanas por lo que los resultados no deben generalizarse a pacientes con gingivitis u otras enfermedades orales (Kang y col., 2020). Recientemente, una revisión sistemática y metaanálisis que incluyó 19 ensayos controlados aleatorizados (RCT) publicados entre 2010 y 2020, evaluó el impacto de la suplementación con probióticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal crónica (PC). La mayoría de las formulaciones

probióticas utilizadas contenían cepas de *L. reuteri* y los participantes (10-35 por estudio) eran adultos sistémicamente sanos con periodontitis. Los resultados revelaron que el uso de probióticos como adyuvante en el tratamiento de pacientes con PC se asoció en gran medida con una buena eficacia clínica, con mejoras estadísticamente significativas en PI, CAL, GI, BOP, PPD y niveles de microorganismos subgingivales. Esto sugiere que la administración conjunta de probióticos con el raspaje y alisado puede mejorar los resultados clínicos de pacientes con PC y reducir los niveles de patógenos periodontales. Sin embargo, se necesitan experimentos más completos para estandarizar la terapia adyuvante con probióticos (Li y col., 2023).

Halitosis

Ciertas especies bacterianas orales son relativamente prevalentes en sujetos saludables, como por ejemplo *S. salivarius*, mientras que otras especies son predominantes en individuos que sufren halitosis, como *F. nucleatum*. Clásicamente, los tratamientos para prevenir o aliviar la halitosis se enfocan en tratamientos antibacterianos no selectivos, lo cual reduce la carga total de bacterias orales, o en el uso de agentes que enmascaran o neutralizan el olor (Burton y col., 2006). Estos protocolos generalmente sólo proveen beneficios a corto plazo. Debido a su alta capacidad de competir por sitios de colonización, a la producción de BLIS y a su baja producción de VSC, las cepas probióticas de *S. salivarius* son buenas candidatas para aliviar la halitosis. En 2006, Burton y col. demostraron en un estudio piloto con 23 sujetos con halitosis, que la administración de *S. salivarius* K12 en forma de grageas orodispersables, luego de la utilización de un enjuague con clorhexidina, redujo los niveles de VSC en 7 días posteriores al tratamiento. Jamali y col. (2016) también compararon el efecto adyuvante de este probiótico, administrándolo luego del enjuague antimicrobiano. En este estudio, en el que participaron 208 niños, el mal aliento se evaluó a través de un test organoléptico (OLT). Los resultados indicaron que, si bien todos los niños que utilizaron el enjuague tuvieron mejoras en sus puntajes, sólo aquellos que en simultáneo recibieron el probiótico mostraron un efecto más prolongado y estable en el tiempo. En otro estudio, el uso de un comprimido de *S. salivarius* K12 diario durante 30 días no tuvo un efecto significativo en la halitosis con saburra lingual cuando esta no se pretrató física o químicamente (He y col., 2020). Otros probióticos también han sido evaluados en el tratamiento de la halitosis. Han y col. (2023) realizaron un RCT en el que participaron 100 adultos que consumieron diariamente

un comprimido que contenía *W. cibaria* CMU. Al cabo de 8 semanas observaron en el grupo probiótico una marcada reducción en los niveles de vsc totales y de los puntajes de mejora de mal aliento (BBI, según sigla en inglés), aumento en la población de *W. cibaria* (colonización oral) y mejora en indicadores psicológicos. En otro estudio clínico, realizado durante 28 días en 25 adultos jóvenes sanos con mal aliento matutino autoinformado, se obtuvieron resultados prometedores después de usar goma de mascar probiótica que contenía dos cepas de *L. reuteri* (ATCC PTA 5289 y DSM 17938). Los voluntarios reportaron efectos beneficiosos sobre el mal olor oral evaluado por OLT (Keller y col., 2012). Dos recientes revisiones sistemáticas con metaanálisis, llevados a cabo por Yoo y col. (2019) y López-Valverde y col. (2022), resumieron la evidencia de tres y cuatro RCT, respectivamente. Ambos trabajos concluyeron que si bien los datos preliminares sugieren la recomendación de probióticos para el manejo de la halitosis, la evidencia disponible es cuantitativa y cualitativamente insuficiente para recomendaciones adicionales en términos de estrategias de administración y pretratamiento.

Candidiasis oral

Candida albicans es uno de los agentes infecciosos predominantes en la cavidad oral, y particularmente en personas mayores o inmunosuprimidas, el riesgo de infecciones aumenta (Homayouni Rad y col., 2023). En la actualidad, la candidiasis oral es tratada con agentes antifúngicos como nistatina, fluconazol y miconazol (Hu y col., 2019). Sin embargo, el aumento en la resistencia a los antifúngicos y los efectos colaterales de los mismos plantea la necesidad hallar nuevas estrategias para luchar contra los hongos patógenos (Homayouni Rad Rad y col. 2023). Algunos probióticos han demostrado en estudios *in vitro* efectos inhibidores del crecimiento, adhesión, proliferación y formación de biopelículas de *C. albicans* (Min y col., 2023). Uno de los primeros casos en humanos en evaluar el uso de probióticos contra *Candida* fue realizado en adultos mayores en Finlandia. En un estudio en el que participaron 276 personas de 70 a 100 años durante 16 semanas, la administración de un queso probiótico (50 g/día) conteniendo dos cepas de *L. rhamnosus* (GG y LC705) y *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS redujo la prevalencia oral de levaduras en saliva (Hatakka y col., 2007). En particular, las personas mayores que usan prótesis dentales son susceptibles a sufrir la colonización de las superficies orales por *Candida*. En un estudio realizado en 59 adultos mayores usuarios de prótesis dentales y asintomáticos de candidiasis,

la aplicación diaria de un producto con cepas de *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, y *B. bifidum* sobre la superficie palatina de la dentadura maxilar redujo la colonización de la cavidad oral con *Candida* luego de 5 semanas de tratamiento (Ishikawa y col., 2014). *C. albicans* es la especie fúngica más frecuentemente aislada en niños. Durante un ensayo clínico aleatorizado que se realizó en 60 niños de 6 a 14 años, la utilización de un enjuague probiótico con tres cepas de *Streptococcus* (2 veces/día durante 1 semana) demostró ser tan efectiva en reducir los niveles salivales de *C. albicans* como el enjuague con el agente antimicrobiano digluconato de clorhexidina (Mishra y col., 2016). El probiótico oral *S. salivarius* K12, además de tener la habilidad de interferir con el crecimiento excesivo de patógenos que ocupan la cavidad oral y nasofaríngea, y de ser beneficioso para el tratamiento de otitis media, halitosis y faringo-tonsilitis aguda, podría tener un rol en la protección contra *C. albicans*. En un estudio reciente realizado en 56 pacientes adultos con candidiasis oral, la administración dos veces al día de *S. salivarius* K12 como adyuvante, acompañando el tratamiento tópico con nistatina, llevó a una reducción significativa del tiempo para obtener la cura micológica: 3 semanas vs. 4 semanas para los pacientes que se aplicaron sólo el antifúngico (Hu y col., 2019). Los resultados alentadores en los estudios clínicos sobre el uso de probióticos en la prevención y tratamiento de candidiasis y la problemática del aumento de la resistencia a los antifúngicos podría expandir la investigación en esta temática en los próximos años.

Úlceras, mucositis oral y cirugías

El uso de probióticos también se está estudiando en otras afecciones de la cavidad oral, principalmente a través de ensayos *in vitro* o en modelos animales. En un contexto de disbiosis oral, ciertos microorganismos pueden incentivar el desarrollo de mucositis oral o prolongar la rehabilitación de ulceraciones (Min y col., 2023). Han y col. (2020) estudiaron la administración de probióticos como estrategia para restituir el balance en la microbiota oral y ayudar en la recuperación de lesiones de la cavidad que puede verse retardada por la acción de LPS (lipopolisacáridos) de *Porphyromonas gingivalis*. Cuando en un modelo murino se aplicó un tratamiento con una mezcla de cepas de *L. reuteri* (probiótico) y *P. gingivalis* (patógeno), la tasa de curación fue más rápida debido a la degradación del LPS por la reuterina producida por *L. reuteri*. Como método emergente para el tratamiento de úlceras orales a través de la regulación de la microbiota, el trasplante de microbiota oral (OMT) también ha sido pro-

puesto. A diferencia del trasplante de microbiota fecal (FMT), ampliamente utilizado en clínica, la investigación sobre OMT todavía está restringida a experimentos con animales ya que su aplicación depende de una variedad de factores y a que el trasplante accidental de microorganismos patógenos podría causar graves consecuencias al receptor (Min y col., 2023). En el caso de mucositis oral inducida por radiación (RIOM según su sigla en inglés), Wang y col. (2021) probaron los efectos de la administración de *S. salivarius* K12 en un modelo con ratones RIOM y encontraron que el uso del probiótico redujo el tamaño de las úlceras, aumentó el grosor de las capas mucosas y epitelial, atenuó la apoptosis y además reconstituyó parcialmente la microbiota de la mucosa oral de los ratones, lo que resultó en una reducción significativa de *Pasteurella* y bacterias anaerobias. Wälivaara y col. (2019) estudiaron el efecto de la administración de suplementos probióticos luego de remoción quirúrgica de muelas. Participaron 64 voluntarios de 18 a 34 años que tomaron 3 grageas por día conteniendo dos cepas de *L. reuteri* (DSM 17938 y ATCC PTA 5289) o un placebo. Si bien no se observaron diferencias significativas en los índices clínicos de curación o en el uso de analgésicos al cabo de dos semanas, interesantemente sí se observó una reducción en los indicadores auto-reportados por los pacientes del grupo tratado: sensación de hinchazón, noches con interrupción del sueño y días de licencias solicitadas al trabajo.

Algunos desarrollos comerciales a partir de cepas aisladas de la microbiota oral

Streptococcus salivarius K12, comercializado como BLIS K12[®] por BLIS Technologies Ltd. (Nueva Zelanda), es una cepa aislada de la cavidad oral de un niño saludable. Originalmente se comercializó para el tratamiento de faringitis y el cuidado de la garganta por su fuerte actividad inhibidora de *S. pyogenes*. Hoy en día, más de 70 estudios clínicos se han realizado con la cepa y existe evidencia sobre sus efectos benéficos en la salud de oído, nariz y garganta, además de inmunomodulación y halitosis. Actúa a través de la producción de péptidos antimicrobianos BLIS (faringitis y halitosis), pero también de dextranasa y ureasa (caries), o a través de la reducción de citoquinas inflamatorias (gingivitis) y la unión directa a *Candida* (candidiasis oral). En Estados Unidos tiene status «GRAS» mientras que en Europa, aunque la especie *S. salivarius* todavía es clasificada como grupo de riesgo 2, *S. salivarius* K12 ha sido reclasificada en Alemania como organismo de grupo de riesgo 1 en base a la evi-

dencia que respalda su seguridad. Se comercializa típicamente en formato de grageas orodispersables (<https://blis.co.nz/blis-k12>).

Limosilactobacillus reuteri ATCC PTA 5289, comercializado junto a *L. reuteri* DSM 17938 como *L. reuteri* Prodentis (BioGaia®, Suecia), fue aislado de la cavidad oral de una mujer japonesa con salud oral extremadamente buena. Existen 64 ensayos clínicos realizados con la cepa y sus efectos benéficos reportados incluyen la reducción de tonsilitis, laringitis y caries dentales. Actúa a través de la producción de sustancias antimicrobianas reuterina y reuteri-clina, que son activas ante un amplio rango de patógenos. Se comercializa típicamente en formato de gotas, y también como comprimidos o chicles (<https://www.biogaia.com/probiotic-health/l-reuteri-strains/>).

Weisella cibaria CMU, comercializado como OraCMU® (OraTics, Corea del Sur), es una cepa aislada de la saliva de un niño saludable. Existen 13 ensayos clínicos y preclínicos realizados con la cepa, y sus efectos benéficos reportados incluyen tratamiento de la halitosis (a través de la inhibición de la producción de VSC y de la proliferación de *F. nucleatum*) y mejora de la salud oral en general. Se comercializa típicamente en formato de grageas orodispersables (<https://oraticxusa.com/pages/our-probiotics-oraticx>).

Referencias bibliográficas

Angarita-Díaz, M. D. P. (2016). Probióticos y su relación con el control de caries. Revisión de tema. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquía*, 28, 179-202.

Badet, C. & Thebaud, N. B. (2008). Ecology of lactobacilli in the oral cavity: a review of literature. *Open Microbiology Journal*, 2, 38–48.

Belibasakis, G. N. (2018). Microbiological changes of the ageing oral cavity. *Archives of Oral Biology*, 96, 230-232.

Burton, J. P.; Chilcott, C. N.; (...) & Tagg, J. R. (2006). A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters. *Journal of Applied Microbiology*, 100, 754–764.

Curtis, M. A.; Diaz, P. I. & Van Dyke, T. E. (2020). The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 83,14–25.

Della Riccia, D. N.; Bizzini, F. (...) & Cifone M. G. (2007). Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease. *Oral Diseases*, 13, 376-385.

Eshriqui, I.; Viljakainen, H. T. (...) & Figueiredo, R. A. O. (2020). Breastfeeding may have a long-term effect on oral microbiota: results from the Fin-HIT cohort. *International Breastfeed Journal*, 15(1), 42.

Fernández Amézagá, J. & Rosanes González R. (2002). Halitosis: diagnóstico y tratamiento en Atención Primaria. *Hablemos de ... Práctica clínica*, 12, 1.

- Gao, L.; Xu, T. (...) & Chen, F.** (2018). Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*, 9, 488–500.
- Gruner, D.; Paris, S. & Schwendicke, F.** (2016). Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic review and meta-analysis. *Journal of Dentistry* 48, 16–25.
- Han, H. S.; Yum, H. (...) & Kim, S.** (2023). Improvement of halitosis by probiotic bacterium *Weissella cibaria* CMU: a randomized controlled trial. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1108762.
- Han, N.; Jia, L. (...) & Liu, Y.** (2020). Balanced oral pathogenic bacteria and probiotics promoted wound healing via maintaining mesenchymal stem cell homeostasis. *Stem Cell Research & Therapy*, 11, 61.
- Hatakka, K.; Ahola, A. J. (...) & Korpela, R.** (2007). Probiotics reduce the prevalence of oral *Candida* in the elderly - a randomized controlled trial. *Journal of Dental Research*, 86(2), 125-130.
- Haukioja, A.** (2010). Probiotics and oral health. *European Journal of Dentistry*, 4(3), 348-355.
- He, L.; Yang, H. (...) & Ouyang, X.** (2020). The effect of *Streptococcus salivarius* K12 on halitosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12(4), 1321-1329.
- Hezel, M. P. & Weitzberg, E.** (2015). The oral microbiome and nitric oxide homeostasis. *Oral Diseases*, 21, 7–16.
- Homayouni Rad A.; Pourjafar, H. & Mirzakhani, E.** (2023). A comprehensive review of the application of probiotics and postbiotics in oral health. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1120995.
- Hu, L.; Mao, Q. (...) & Yan, Z.** (2019). Effects of *Streptococcus salivarius* K12 with nystatin on oral candidiasis-RCT. *Oral Diseases*, 25(6), 1573-1580.
- Ishikawa, K. H.; Mayer, M. P. (...) & Nakamae, A. E.** (2015). A multispecies probiotic reduces oral *Candida* colonization in denture wearers. *Journal of Prosthodontics*, 24(3), 194-199.
- Jamali, Z.; Aminabadi, N. A. (...) & Shirazi, S.** (2016). Impact of chlorhexidine pretreatment followed by probiotic *Streptococcus salivarius* strain k12 on halitosis in children: a randomised controlled clinical trial. *Oral Health and Preventive Dentistry*, 14(4), 305-313.
- Kang, M. S.; Lee, D. S. (...) & Nam, S. H.** (2020). Effects of probiotic bacterium *Weissella cibaria* CMU on periodontal health and microbiota: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *BMC Oral Health*, 20(1), 243.
- Keller, M. K.; Bardow, A. (...) & Twetman, S.** (2012). Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. *Acta Odontologica Scandinavica*, 70(3), 246-250.
- Keller, M. K.; Nøhr Larsen, I. (...) & Twetman, S.** (2014). Effect of tablets containing probiotic bacteria (*Lactobacillus reuteri*) on early caries lesions in adolescents: a pilot study. *Beneficial Microbes*, 5, 403– 407.
- Kürschner, A.** (2019). Índices aplicados en la profilaxis y el tratamiento periodontal. *Quintessence*, 24(9), 517-523.
- Li, J.; Zhao, G. (...) & Zhu, F. F.** (2023). Probiotic adjuvant treatment in combination with scaling and root planing in chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Beneficial Microbes*, 14(2), 95-107.
- Li, X.; Liu, Y. (...) & Song, Z.** (2022). The oral microbiota: community composition, influencing factors, pathogenesis, and interventions. *Frontier in Microbiology*, 13,895537.

- Liu, Y. L.; Nascimento, M. & Burne, R. A.** (2012). Progress toward understanding the contribution of alkali generation in dental biofilms to inhibition of dental caries. *International Journal of Oral Science*, 4(3), 135-140.
- López-Valverde, N.; López-Valverde, A. (...) & Aragoneses, J. M.** (2022). Role of probiotics in halitosis of oral origin: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical studies. *Frontiers in Nutrition*, 8, 787908.
- Lu, M.; Xuan, S. & Wang, Z.** (2019). Oral microbiota: A new view of body health. *Food Science and Human Wellness*, 8, 8–15.
- Marsh, P. D.; Do, T. (...) & Devine, D. A.** (2016). Influence of saliva on the oral microbiota. *Periodontol 2000*, 1, 80-92.
- Matesanz-Pérez, P.; Matos-Cruz, R. & Bascones-Martínez, A.** (2008). Enfermedades gingivales: una revisión de la literatura. *Avances en Periodoncia*, 1, 11-25.
- Mayanagi, G.; Kimura, M. (...) & Shimauchi, H.** (2009). Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, 506- 513.
- Min, Z.; Yang, L. (...) & Huang, R.** (2023). Oral microbiota dysbiosis accelerates the development and onset of mucositis and oral ulcers. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1061032.
- Mishra, R.; Tandon, S. (...) & Banerjee, M.** (2016). Antimicrobial efficacy of probiotic and herbal oral rinses against *Candida albicans* in children: a randomized clinical trial. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 9(1), 25–30.
- Nåse, L.; Hatakka, K.; (...) & Meurman, J. H.** (2001). Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Research*, 35(6), 412-420.
- Perez, A.** (2005). La biopelícula: una nueva visión de la placa dental. *Revista Estomatológica Herediana*. 15, 82–85.
- Poorni, S.; Srinivasan, M. R. & Nivedhitha, M. S.** (2019). Probiotic *Streptococcus* strains in caries prevention: A systematic review. *Journal of Conservative Dentistry*, 22(2), 123-128.
- Rodríguez, G.; Ruiz, B. (...) & Cabello, R.** (2016). Probiotic compared with standard milk for high-caries children: a cluster randomized trial. *Journal of Dentistry Research*, 95(4), 402-407.
- Sedghi, L.; DiMassa, V. (...) & Kapila, Y. L.** (2021). The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontology 2000*, 87, 107–131.
- Stensson, M.; Koch, G. (...) & Wendt, L. K.** (2014). Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. *Caries Research*, 48, 111–117.
- Stru-ycka, I.** (2014). The oral microbiome in dental caries. *Polish Journal of Microbiology*, 2,127–135.
- Tagg, J. R.; Harold, L. K. (...) & Hale, J. D. F.** (2023). Beneficial modulation of human health in the oral cavity and beyond using bacteriocin-like inhibitory substance-producing streptococcal probiotics. *Frontiers in Microbiology*, 14. 1161155.
- Takahashi, N.** (2015). Oral microbiome metabolism: from «who are they?» to «what are they doing?» *Journal of Dental Research*, 94, 1628–1637.

- Twetman, S.; Derawi, B. (...) & Stecksen-Blicks, C.** (2009). Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontologica Scandinavica*, 67, 19-24.
- Wälivaara, D. Å.; Sjögren, I. (...) & Abrahamsson, P.** (2019). Effects of *Lactobacillus reuteri*-containing lozenges on healing after surgical removal of mandibular third molars: a randomised controlled trial. *Beneficial Microbes*, 10(6), 653-659.
- Wang, Y.; Li, J. (...) & Xu, X.** (2021). Probiotic *Streptococcus salivarius* K12 alleviates radiation-induced oral mucositis in mice. *Frontiers in Immunology*, 12, 684824.
- Yan, Y.; Zhang, Q. (...) & Ge, L.** (2021). The role of oral microbiome in respiratory health and diseases. *Respiratory Medicine*, 185, 106475.
- Yoo, J. I.; Shin, I. S. (...) & Lee, D. W.** (2019). The effect of probiotics on halitosis: a systematic review and meta-analysis. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11 (1), 150-157.
- Xiao, J.; Fiscella, K. A. & Gill, S. R.** (2020). Oral microbiome: Possible harbinger for children's health. *International Journal of Oral Science*, 12, 12.
- Zhang, Y.; Ding, Y. & Guo, Q.** (2022). Probiotic species in the management of periodontal diseases: an overview. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 806463.

Capítulo 6

La microbiota gástrica

Jorge Reinheimer

La microbiota gástrica

El estómago fue históricamente asumido como un órgano estéril debido a su pH ácido y movimientos peristálticos. Sin embargo, este concepto cambió a partir del descubrimiento de *Helicobacter pylori*, una bacteria que mayormente coloniza el estómago humano.

El proceso para analizar la diversidad de la microbiota gástrica ha sufrido un cambio desde los métodos cultivo-dependientes hasta las tecnologías moleculares, tales como secuenciación del entero genoma 16S ribosomal RNA, y estudios proteómicos y metabolómicos, proveyendo fascinante información de la microbiota humana gástrica (Dai y col., 2021; Zhou y col., 2023).

Microecología gástrica

El estómago es un área del tracto digestivo, con secreción de ácido gástrico y constituyendo un ambiente ecológico especial, con una particular comunidad microbiana. Un estómago saludable está colonizado por una microbiota diversa. Grandes diferencias en la composición de esta microbiota entre individuos han sido observadas. Sin embargo, debemos decir que las comunidades bacterianas en estómagos saludables no están todavía del todo caracterizadas. Al principio, la electroforesis en gel y gradiente de temperatura de amplicones de 16S rRNA para clasificar la microbiota gástrica, determinó 3 filos principales: *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Actinobacteria*. A medida que aumentaba el rendimiento de los métodos de secuenciación, más bacterias fueron encontradas en el estómago humano. Los datos brindados por G2 PhyloChip (16S rRNA) revelaron 44 filos bacterianos en el estómago, de los cuales 4 resultaron dominantes: *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*. Datos obtenidos por pirosecuenciación de código de barras 16S indicaron que el estómago humano contiene en realidad 5 filos dominantes (los ya mencionados, más *Fusobacteria*) y, además, se determinaron los géneros predominantes:

Streptococcus (filo *Firmicutes*), *Neisseria* y *Haemophilus* (*Proteobacteria*), y *Prevotella* y *Porphyromonas* (*Bacteroidetes*). Comparados con los de la mucosa gástrica, los niveles de *H. pylori* y *Proteobacteria*, en general, decrecen en jugo gástrico, mientras que *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, se incrementan. Debe notarse que las muestras de fluido gástrico mostraron mayor diversidad que las muestras de mucosa gástrica. Sin embargo, las bacterias en el jugo gástrico pueden ser transientes dado que el estómago está expuesto a la afluencia bacteriana desde la cavidad oral y un reflujo via el duodeno (Chen y col., 2023; Zhang y col., 2023; Zhou y col., 2023).

Aparte de los ya mencionados, muchos otros miembros han sido localizados en el estómago, incluyendo *Lactobacillus* spp., *Klebsiella* spp., *Eschericia coli*, *Rothia* spp., *Burkholderia pseudomallei*, *Bacillus* spp., *Morganella morganii*, *Acinetobacter* spp., *Veillonella* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Bacteroides* spp. y *Peptococcus* spp., al margen de algunas otras enigmáticas bacterias no cultivables (Zhou y col., 2023). *Lactobacillus* y *Enterococcus* son bacterias comensales en estómagos saludables, con abundancias de hasta el 30 y 51 %, respectivamente. Sin embargo, exceder esos límites, se piensa como riesgo para el desarrollo de cáncer gástrico (Zhang y col., 2023).

El establecimiento y estabilidad de la microecología gástrica se atribuye a la barrera mucosa epitelial y sistema inmunológico. La capa de mucus sobre las paredes estomacales establece un gradiente de pH, con un valor de 1-2 en el lumen gástrico y 6-7 en la superficie mucosa. El jugo gástrico es una barrera que debilita la colonización bacteriana mientras que las bacterias adheridas a la mucosa crean un ambiente más amigable para la colonización. La respuesta inmune innata y adaptativa mantiene un balance microbiano a través del mecanismo de homeostasis inmune (Chen y col., 2023; Zhang y col., 2023; Zhou y col., 2023).

El intestino humano hospeda la mayor comunidad microbiana, de 40 trillones de bacterias, del cuerpo, contribuyendo a la maduración intestinal, nutrición del hospedador y resistencia a los patógenos. Por contraste, en estómagos saludables, que nunca han mostrado ninguno de los dos eventos más importantes para perturbación de la microbiota, una infección de *H. pylori* ni el uso de inhibidores de la bomba de protones, se ha demostrado que la microbiota del estómago y duodeno, respecto al tracto gastrointestinal inferior, tiene un significativamente menor número de bacterias. Esto es debido a las características de la barrera gástrica, tales como las condiciones altamente ácidas del lumen por el ácido secretado por las células parietales, ya mencionado, y la presencia de enzimas proteolíticas (pepsinas) derivadas de las células zimógenas secretoras de pepsinógeno. Las pepsinas desnaturalizan proteí-

nas e inhiben la supervivencia de microbiota. El impacto de la microbiota gástrica sobre la patofisiología no es muy conocida comparada con la del intestino y los estudios sobre el sistema immune estomacal son menos numerosos. Está ahora claro que el estómago no es un órgano estéril ni inmunológicamente silencioso, y que contiene una microbiota comensal diversa con una particular composición y un propio sistema immune en el tracto gastrointestinal, constituyéndose en un nicho único (Ohno y col., 2020).

Factores que afectan a la microbiota gástrica

Varios factores afectan la supervivencia y función de la microbiota gástrica. El ambiente hostil en el estómago, que contiene enzimas antibacterianas, defensinas, inmunoglobulina y alta concentración de ácido, es un desafío para la microbiota. Estas sustancias pueden efectivamente proteger la mucosa gástrica hospedadora del ataque bacteriano. La inmunoglobulina A (IgA) podría prevenir que las bacterias penetren la barrera epitelial (incluido *H. pylori*) y mantener potencialmente la diversidad de una microbiota gastrointestinal normal, saludable. El mecanismo para liberar IgA suficiente es inmaduro en niños, resultando en una más alta susceptibilidad a *H. pylori*. Algunos factores externos también influyen la microbiota gástrica humana, incluyendo la dieta, antibióticos, inhibidores de la bomba de protones (PPI), geografía e intervenciones quirúrgicas. Por ejemplo, en el estómago de individuos sanos, la familia más abundante fue *Prevotellaceae*, seguida de *Streptococcaceae*, *Paraprevotellaceae* y *Fusobacteriaceae*; mientras que entre pacientes que recibieron un tratamiento con inhibidores de la bomba de protones, *Streptococcaceae* fue la familia prevalente, seguida por *Prevotellaceae*, *Campylobacteriaceae* y *Leptotrichiaceae*. Aplicaciones por largo tiempo de PPI incrementa el pH intragástrico, permitiendo a las bacterias alcanzar la fase de desarrollo, resultando en un aumento de su presencia y una traslocación incrementada. Esto lleva a un nuevo balance en el cual bacterias orales aumentan significativamente, tales como *Pepto-streptococcus*, *Parvimonas micra*, *Slackia exigua*, *Streptococcus anginosus* y *Dialist pneumonitis*. Además, la diversidad de la microbiota gástrica se incrementó significativamente después de una gastrectomía parcial,¹ siendo *Helicobacter* y *Ralstonia* los dos más abundantes géneros luego de la

1. Gastrectomía parcial: procedimiento quirúrgico que se efectúa para extirpar todo o parte del estómago. Se la realiza para tratar cáncer de estómago o de esófago, tumores no cancerosos, úlceras sangrantes, obesidad grave, etcétera.

misma. La secreción de ácido gástrico se reduce significativamente luego de una gastrectomía, así como de una vagotomía selectiva² lo cual aumenta el pH en el estómago y cambia la composición bacteriana (Zhou y col., 2023).

Un estudio demostró que la composición bacteriana del estómago no está afectada significativamente por el sexo y la edad, aunque otros estudios mostraron lo contrario respecto al menos respecto de la edad. Algunas etnias tienen un específico perfil de la microbiota. Estas diferencias normalmente se adjudican, al menos parcialmente, a los hábitos alimentarios. Por ejemplo, China es un país con un alto consumo de sal, dos veces el recomendado por la WHO. Una dieta alta en sal cambia la composición de la microbiota al reducir la abundancia de *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* al nivel de filos, y decrece la abundancia relativa del género *Lactobacillus*, favoreciendo la posibilidad de una persistente infección por *H. pylori* (Ohno y col., 2020; Dascalu y col., 2023).

Una alterada composición y función de la microbiota son considerados desórdenes ecológicos gástricos que pueden causar gastritis, disfunción inmunitaria, disminución de bacterias dominantes e incremento de la abundancia y virulencia de microorganismos, llevando a una invasión de bacterias patógenas y enfermedades relacionadas. Se ha demostrado que la microbiota gástrica puede contribuir a la enfermedad gástrica que sigue a una infección por *H. pylori*.

Los pacientes con hipoclorhidria tienen muchas bacterias ureasa positiva diferentes a *H. pylori*, tales como *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Haemophilus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus* (Zhang y col., 2023).

***Helicobacter pylori*: el gran intruso**

Microecología gástrica e infección por *H. pylori*

H. pylori, una bacteria Gram (-), espiralada o helicoidal y flagelada, de desarrollo lento, productora de ureasa y perteneciente al filo *Proteobacteria*, es considerada un constituyente del microbioma gástrico humano normal, un patobionte (bacteria endógena benigna que tiene la capacidad, en condiciones

2. Vagotomía selectiva: técnica que corta partes del nervio vago responsables en el estómago de elaborar ácido gástrico. Se realiza para tratar úlceras estomacales u otras afecciones por las cuales el estómago produce demasiado ácido.

de un ecosistema alterado, disbiosis, de provocar determinadas patologías) y que coloniza la mucosa gástrica de más de la mitad de la población humana, ranqueando del 20 % en países desarrollados a más del 90 % en países en desarrollo. La prevalencia de infecciones por *H. pylori* en Latinoamérica y el Caribe se estima en alrededor de 70 % en adultos. Epidemiológicamente, *H. pylori* afecta a más de 4,4 billones de personas en el mundo (Ansari y Yamaoka, 2017; Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Dascalu y col., 2023; Sampaio Soares y col., 2023; Zhang y col., 2023; Zhou y col., 2023; Almashhadany y col., 2024).

Ha sido demostrado que el riesgo de adquirir la infección está fuertemente asociada con el nivel socioeconómico y condiciones de higiene en la infancia temprana, y ocurre raramente en adultos. La más alta tasa de infección se observa en grupos con bajo nivel socio económico. Se adquiere en la infancia y persiste a lo largo de la vida sin terapias de erradicación. Una de las posibles explicaciones para esto es que el desarrollo evolutivo del estómago en la infancia temprana está asociado con el alivio de la hostilidad gástrica, incluyendo aclorhidria, comparado con la edad adulta. La infección es generalmente asintomática en niños. La hostilidad gástrica en adultos inhibe suficientemente la infección por *H. pylori* y, cuando ocurre, es probable que cause gastritis aguda que puede ser luego erradicada. La infección con *H. pylori* es uno de las más comunes infecciones bacterianas crónicas, jugando un importante rol en la emergencia de inflamación gástrica progresiva crónica y una diversidad de enfermedades gastrointestinales, tales como úlceras gástricas o duodenales, cáncer gástrico o linfoma MALT (Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Dascalu y col., 2023; Ravikumara, M., 2023).

El consumo de frutas y vegetales crudos, a menudo irrigados con agua contaminada con heces, ha sido asociado con la transmisión de *H. pylori*. Los alimentos pueden también ser contaminados cuando existe higiene deficiente durante el procesamiento. La manipulación de los mismos puede contribuir a la contaminación via manos y secreciones orales y nasales pero también a través del agua de bebida (Sampaio Soares y col., 2023; Almashhadany y col., 2024).

El patógeno está bien adaptado al medio gástrico, con adhesión específica a las células epiteliales gástricas. *H. pylori* coloniza la capa de mucus en el antrum gástrico o áreas del duodeno, y requiere al menos tres características claves para inducir la infección: la producción de una ureasa activa, la presencia de flagelos y la presencia de adhesinas (Dascalu y col., 2023). La ureasa le permite hidrolizar urea generando dióxido de carbono y amoníaco para neutralizar el medio ácido del estómago y facilitar su colonización (Ansari y Yamaoka, 2017; Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Dascalu y col., 2023; Zhang y col., 2023; Zhou y col., 2023). Al pasaje a través de la capa de mucus hacia

la superficie del epitelio gástrico lo logra fácilmente por su forma espiralada, los flagelos y enzimas mucolíticas. *H. pylori* se adhiere usando algunas moléculas de adhesión, incluyendo *BabA*, que se ligan a antígenos expresados en la superficie de células de la mucosa gástrica provocando gastritis entre los individuos que son infectados. La adhesión es el primer paso para una colonización persistente. Ciertos individuos pueden expresar receptores superficiales específicos o mayor número de receptores, volviéndose más susceptibles a la adhesión y colonización de *H. pylori* (Ohno y Satoh–Takayama, 2020; Dascalu y col., 2023; Peng y col., 2023; Yang y col., 2023). En realidad, el género *Helicobacter* es comunmente clasificado en dos grupos: especies gástricas y enterohepáticas (no gástricas). Estos grupos exhiben una alta especificidad de órganos. Las helicobacterias gástricas típicas son incapaces de colonizar el intestino o el hígado en tanto que las especies enterohepáticas colonizan el tracto gastrointestinal inferior, incluido el tracto biliar (Almas-hadany y col., 2024).

El consumo frecuente de frutas frescas y vegetales ha sido asociado a una protección hacia la infección. Asimismo, una dieta consistente en abundante consumo de granos, raíces y tubérculos, vegetales, hongos, frijoles, aceites vegetales, semillas y nueces, está asociado a un bajo riesgo de infección. Estas asociaciones pueden ser atribuidas a algunos componentes presentes en estos alimentos, tales como vitamina C, polifenoles y flavonoides, que protegen la mucosa gástrica e inhiben la colonización bacteriana. En contraste, una dieta rica en carbohidratos, azúcares, salsas, mayonesa, hamburguesas y refrescos, se asoció positivamente a la infección. En general, los hombres son más susceptibles a ser infectados y también se ha visto una buena correlación con la obesidad.

La gastritis crónica es un frecuente problema de salud en niños y la infección por *H. pylori* es una importante causa de la misma. En niños, la relativa abundancia de filos, incluyendo *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Fusobacteria*, *Gemmatimonadetes* y *Verrucomicrobia* disminuyeron significativamente en niños *H. pylori* (+) comparados con niños *H. pylori* (-). Varios géneros difieren en abundancia entre ambos tipos de niños. Por ej., se vio que *Streptococcus*, *Helicobacter* y *Granulicatella* aparecieron enriquecidos en pacientes *H. pylori* (+) mientras que *Campylobacter* y *Abconditabacteriales* fueron enriquecidos en los *H. pylori* (-) (Chen y col., 2023; Zhang y col., 2023).

A pesar de que la mayoría de los individuos infectados con *H. pylori* permanecen asintomáticos, infecciones crónicas están fuertemente relacionadas con gastritis crónicas, úlceras pépticas, cáncer gástrico y linfoma de tejido linfoide asociado a mucosas. Las infecciones por *H. pylori* son también asociadas con

enfermedades extragastrointestinales tales como enfermedades autoinmunes, púrpura idiopática, anemia Fe-deficiente, así como enfermedades cardio- y cerebrovasculares. En el caso de una infección crónica de *H. pylori* que causa gastritis atrófica, hay pérdida de células parietales. Esto lleva a un aumento del pH gástrico que podría modular la microbiota gástrica. Un elevado pH gástrico durante una infección crónica de *H. pylori* conduce a una «floración» microbiana que, a su vez, puede inhibir el desarrollo de *H. pylori*. Una infección aguda puede llevar a hipoclorhidria mientras que una infección crónica resulta, según el sitio anatómico, en hipo o hiperclorhidria. Cambios en la secreción de ácido causada por *H. pylori* puede permitirles a microorganismos de la ingesta sobrevivir al tránsito estomacal (Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Zhang y col., 2023).

Candida albicans es uno de los más comunes hongos en el cuerpo humano. Se demostró la coexistencia de *H. pylori* con *Candida* en pacientes con úlcera gástrica, sugiriendo su sinergia en la patogénesis de la enfermedad. *H. pylori* es una bacteria intracelular facultativa que puede protegerse a sí misma frente al stress ambiental ingresando a las células de *C. albicans* permitiendo sea transmitido a generaciones sucesivas de ésta. Se vio que las vacuolas de la levadura sirven como un nicho sofisticado para la bacteria, mejorando este secuestro dentro de las vacuolas la supervivencia bacteriana. Debería notarse que la proporción de células de levaduras que tienen bacterias incorporadas en un medio ácido fue cerca del doble respecto a un medio neutro. Sin embargo, cuando el pH es inferior a 4, el número de células de levaduras invadidas disminuye bruscamente. Adicionalmente, la temperatura, anaerobiosis, condiciones nutricionales y drogas podría afectar la entrada o salida de *H. pylori* en células de *Cándida*. *H. pylori* se reportó también como invasor de células vaginales de levaduras, causando vertical transmisión durante el nacimiento, Además, *C. albicans* llevando a *H. pylori* es también abundante en abejas, miel, flores y frutos naturales. Por otro lado, *H. pylori* y el virus Epstein-Barr se reportaron como que cooperan en inducir gastritis más severas que cada uno por separado (Zhang y col., 2023).

Las variadas respuestas hacia la infección de *H. pylori* puede ser atribuída a la diversidad y abundancia microbiana gástrica. Las diferencias en las estructuras comunitarias bacterianas gástricas podrían potencialmente regular distintas vías que pueden afectar la fisiología estomacal y conducir a diferentes respuestas hacia la infección. Microbios gástricos comensales o sus metabolitos influyen la capacidad de *H. pylori* para colonizar el estómago y su potencial patógeno y carcinogénico modulando las respuestas inmunes del hospedador. La presencia de bacterias diferentes de *H. pylori* podrían persis-

tentamente actuar como un estímulo antigénico o establecer una relación de partners con *H. pylori* para aumentar una inflamación. Se reveló que una cepa de *Streptococcus salivarius* aislada de estómago e inoculada en ratones y combinada con *H. pylori*, mostró una patología gástrica mayor a la observada en ratones inoculados solo con *H. pylori*. En cambio, una co infección con *Staphylococcus epidermidis* produjo el efecto contrario (Dai y col., 2021; Peng y col., 2023; Zhang y col., 2023).

Una infección por *H. pylori* altera la composición de la microbiota gástrica humana. Comparado con la microbiota gástrica de casos saludables, los individuos con infección de *H. pylori* tienen una menor diversidad, con una baja abundancia de *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Bacteroidetes* pero incrementada de *Proteobacteria* (figura 1). En pacientes con cáncer gástrico y *H. pylori* (+), la proporción de grupo *Streptococcus mitis* fue significativamente más baja que en el grupo con cáncer gástrico pero *H. pylori* (-). Esto puede estar causado por las condiciones desfavorables causadas por la infección de *H. pylori*, lo cual ha sido demostrado en experimentos con animales.

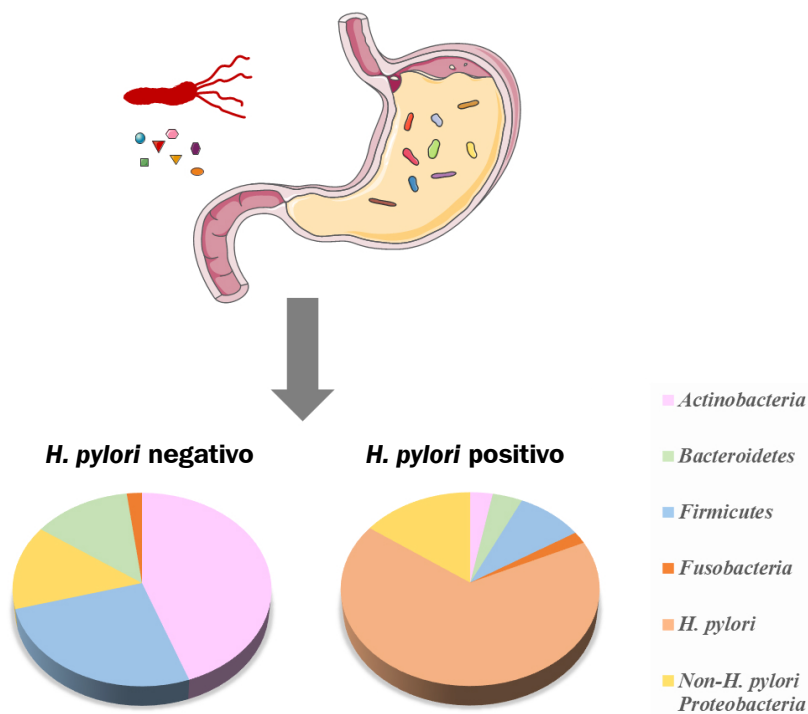


Figura 1. Efectos de *Helicobacter pylori* sobre la microbiota gástrica humana (Adaptado de Zhou y col., 2023)

Una prolongada colonización de *H. pylori* vuelve al ambiente estomacal inadecuado para la reproducción de lactobacilos mientras que *Bacteroides*, bifidobacterias, *S. aureus* y enterococos podrían adaptarse mejor a ese ambiente. Después de una erradicación de *H. pylori*, la diversidad de la microbiota gástrica se incrementó y su abundancia fue restaurada hasta ser similar a la de los casos sin infección. Es lo que se vio para enterobacterias, *Clostridium leptum* y *Lactobacillus*. Estos estudios confirman indirectamente que el rol de una infección por *H. pylori* es alterar la composición de la microbiota gástrica (Zhou y col., 2023).

Helicobacter pylori y cáncer gástrico

El cáncer gástrico es el quinto cáncer más frecuentemente diagnosticado como causa de muerte en el mundo. A pesar de que las tasas de incidencia y mortalidad están declinando con el advenimiento de terapias, es todavía un problema médico global. El desarrollo del cáncer gástrico puede ser descrito como una serie de pasos secuenciales: desde una gastritis superficial crónica, gastritis atrófica crónica, metaplasia intestinal, displasia a cáncer gástrico. En adición a una predisposición genética, factores ambientales incluyendo interacciones en la comunidad microbiana, se ha visto que contribuyen al cáncer gástrico. Una infección por *H. pylori* es factor fundamental para lesiones gástricas, en general (Peng y col., 2023).

H. pylori está clasificado como un factor Clase I para cáncer gástrico por la World Health Organization (WHO), siendo una infección por esta bacteria ampliamente considerada como una amenaza seria para el desarrollo del mismo, aumentando esta posibilidad entre 2.2 a 21 veces (Dai y col. 2021; Zhou y col., 2023).

Varios factores y mecanismos se sugieren para el desarrollo de la enfermedad. La infección podría inducir inflamación crónica en el estómago, la cual es acompañada por alteraciones genéticas y daños en el ADN en células epiteliales gástricas. La infección desencadena la degradación de P53, un regulador crítico de la estabilidad genómica, deteriorando la reparación de los daños. Además, reduce la expresión del factor USFI, el cual estabiliza la función de P53 y se incrementa la viabilidad de células epiteliales con daños persistentes en el ADN, promoviendo la carcinogénesis. *H. pylori* también podría desregular la expresión de genes asociados con la supresión del tumor y otros relacionados al cáncer en células cancerígenas. La infección también demora la apop-

tosis³ de las células epiteliales gástricas, es decir, la eliminación de células innecesarias o anormales, un proceso que aparece bloqueado en células cancerosas. También, la infección induce un aumento de oxidasas, resultando en la generación de una subpoblación de células gástricas epiteliales con altos niveles de ADN dañado y resistencia a la apoptosis. Otra posible explicación del cáncer gástrico causado por *H. pylori*, alude a los dos factores de virulencia más ampliamente aceptados, la Citotoxina asociada al gen A (CagA) y la citotoxina vacuolizante A (VacA), ligadas al potencial cancerígeno de la bacteria. El gen CagA es el más importante factor patogénico de *H. pylori* y comparado con las cepas sin CagA, las que lo contienen incrementan el riesgo de cáncer gástrico 1,64 veces en general. Las cepas CagA (+) inducen la mutación de determinados genes y la expresión aberrante de una activación inducida de citidina deaminasa, que puede ser responsable para la acumulación de mutaciones en la carcinogénesis gástrica, así como la activación de múltiples vías oncogénicas. El otro factor de virulencia, VacA, es una proteína involucrada en la regulación de respuestas inmunes, y responsable de la formación de vacuolas en las células epiteliales gástricas, formando poros en las membranas de las células y permitiendo la salida de aniones y urea, y autofagia.⁴ Esto es importante porque la hidrólisis de la urea por la ureasa de *H. pylori* protege a la bacteria de la acidez gástrica, También regula metabolismos celulares promoviendo apoptosis de células del epitelio gástrico interfiriendo en las funciones mitocondriales. Además, libera algunas citoquinas antiinflamatorias (tales como IL-18 y IL-10) que suprimen la inmunidad tumoral. La autofagia es un importante mecanismo protector del estómago frente a la infección. La interrupción de este mecanismo causa muerte celular, inflamación e inestabilidad genética, formando un ambiente propenso al cáncer. Otros mecanismos patogénicos de *H. pylori* han sido ampliamente reportados. Algunas adhesinas se ligan a receptores celulares e incrementan el riesgo de úlceras pépticas y cáncer gástrico. La acumulación de β -catenina activada en el núcleo de células epiteliales gástricas inducida por la bacteria estuvo estrechamente conectada con la invasión tumoral, indicando que esa sobreactivación puede

3. Apoptosis: tipo de muerte celular a la cual conduce una serie de procesos moleculares en la célula. Método que el cuerpo usa para deshacerse de células innecesarias o anormales. La apoptosis puede estar bloqueada en las células cancerosas.

4. Autofagia: proceso por el cual la célula elimina componentes, dañados o anormales, en su citoplasma. Los productos de esta descomposición, que ocurre en los lisosomas, se reciclan para funciones celulares importantes, en especial durante períodos de estrés o ayuno.

ser un miembro clave en la regulación de respuestas epiteliales pre- malignas a *H. pylori*. (Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Dascalu y col., 2023; Zhou y col., 2023).

Microbiota gástrica y cáncer gástrico

La presencia de *H. pylori* no es sólo el único factor involucrado en carcinogénesis gástrica ya que no todos los individuos infectados con *H. pylori* la desarrollan, implicando que otros factores también juegan un rol clave, por lo que una mayor atención ha sido derivada a la función de la diversidad del microbioma gástrico en el desarrollo del cáncer gástrico. La microbiota gástrica produce compuestos N-nitroso carcinogénicos y aminos secundarias por metabolización de alimentos, lo cual fortaleció su rol en el desarrollo de este tipo de cáncer. Se asume que la carcinogénesis gástrica está, igualmente, siempre asociada con una disbiosis microbiana (Peng y col., 2023).

Pacientes con cáncer gástrico fueron más propensos a sufrir deficiencia de ácido, lo cual puede afectar la colonización bacteriana. Varios estudios revelaron la diferencia en los perfiles de microbiota gástrica entre pacientes con cáncer gástrico y pacientes sin el mismo. En los primeros estadios de este cáncer, la abundancia relativa de *H. pylori*, *Propionibacterium acnes* y *Prevotella capri* en el estómago fue más alta que en individuos sin cáncer. A medida que el cáncer desarrolla, la prevalencia de *H. pylori* en el estómago puede gradualmente disminuir y la población microbiana global en el estómago puede también cambiar. Se encontró que aparece una predominancia de otras especies de la población microbiana gástrica, la cual incluye a los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Prevotella* y *Veillonella*. Otros estudios mostraron un aumento consistente en pacientes con cáncer gástrico de *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium* y *Lactococcus*. Estas bacterias tienen diferentes efectos sobre la patogénesis estomacal. Un estudio concluyó que las características de la microbiota gástrica en pacientes sin tumor podrían precisamente clasificar a pacientes que pueden desarrollar cáncer gástrico. En el mismo se identificó un grupo de 6 markers taxonómicos bacterianos, incluyendo los géneros *Moryella*, *Vibrio*, *Paludibacter*, *Agrobacterium*, *Clostridiales* y la familia *Comamonadaceae*.

En pacientes *H. pylori* (-), en los cuales una gastritis atrófica evoluciona a un estado de displasia precancerosa, la abundancia de *Burkholderiaceae* se incrementa continuamente mientras que la abundancia de *Streptococcaceae* y *Prevotellaceae* decrece también continuamente. Interesantemente, algunas

bacterias orales, de los géneros *Aggregatibacter*, *Alloprevotella* y *Neisseria*, fueron abundantes en pacientes con cáncer gástrico comparado con el grupo de gastritis superficial. La abundancia relativa de estas bacterias estuvo realmente separada en los dos grupos. Este descubrimiento sugirió que se podía distinguir a pacientes con cáncer gástrico de los que tenían gastritis superficial basándose en cualquiera de los 3 géneros detectados en cáncer gástrico. Algunos investigadores han investigado la microbiota gástrica comparando tejidos tumorales y sanos del mismo paciente con cáncer gástrico. Se vio que al nivel de filos, *Proteobacteria* estuvo incrementado en tejidos no tumorales, mientras que la abundancia de *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* y *Spirochetes* aparecían enriquecidos en tejidos tumorales. A nivel de géneros, la abundancia de *Helicobacter* fue elevada en tejidos no tumorales, mientras que la de *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Acinetobacter*, *Prevotella*, *Sphingomonas*, *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Comamonas*, *Empedobacter* y *Faecalibacterium* estuvo incrementada en tejidos tumorales. Sorpresivamente, se vio que la relativa abundancia de *Helicobacter* estuvo reducida en tejidos tumorales, lo cual puede ser debido a la pérdida de tejidos glandulares especializados y disminución de la secreción gástrica. La abundancia de *Lactobacillus* ranqueó segundo en los tejidos tumorales, lo cual difiere de previos estudios. Se piensa que *Lactobacillus* podría producir metabolitos que serían usados como fuente de energía para el desarrollo del tumor y algunos estudios muestran que este género es un importante indicador en el desarrollo de cáncer gástrico. Algunas bacterias diferentes a *H. pylori* podrían alterar la función de células inmunes en el microambiente del tumor y promover el cáncer gástrico. Los estudios sugieren que *Selenomonas* y *Stenotrophomonas* pueden promover que células cancerosas evadan la vigilancia del sistema inmune. Además, se reportó que *Fusobacterium nucleatum* alteró los fenotipos y funciones de células inmunes tales como neutrófilos, células T, células dendríticas y macrófagos, formando un microambiente inmunosupresivo que conduce al desarrollo del cáncer (Dai y col., 2021; Peng y col., 2023; Zhou y col., 2023).

Existen también significativas diferencias en la composición de la microbiota gástrica en pacientes con cáncer gástrico basadas en la raza y la región, así como con la historia familiar de tumores gastrointestinales y diferentes condiciones ambientales. (Zhou y col., 2023)

Bajo condiciones poco ácidas, algunas bacterias diferentes de *H. pylori* producen oxígeno y nitrógeno activo que regulan reacciones inflamatorias, y el micro ecosistema gástrico se vuelve más complejo. Es bien conocido que compuestos nitrosos son potentes cancerígenos aunque los mecanismos patogénicos deben ser confirmados. Algunas bacterias diferentes a *H. pylori* pro-

mueven una respuesta inflamatoria que acelera la progresión del cáncer gástrico inducido por *H. pylori*, tales como *Lactobacillus murinus*, *Clostridiales* y *Streptococcus salivarius*. Ha sido demostrado que un sobredesarrollo de *Propionibacterium acnés* puede contribuir a la gastritis linfocítica, según experimentos in vitro (Dai y col. 2021).

También fue demostrada una estrecha relación entre la microbiota intestinal y úlceras pépticas, especialmente úlcera gástrica y úlcera duodenal. *Butyrivibrio* y *Peptococcus* tienen efectos perjudiciales sobre úlceras gástricas mientras que *Lachnospiraceae* y *Mollicutes* tienen efectos benéficos (Tian y col., 2024).

No todas las bacterias en el estómago son perjudiciales y estudios realizados encontraron que la presencia de algunas puede inhibir la progresión del cáncer gástrico. Por ej., se encontró que *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* puede afectar la expresión de genes que inhiben la proliferación de células cancerígenas gástricas.

El desarrollo de tumores es afectado no solo por la microbiota sino también por sus metabolitos. Analizando los metabolitos microbianos presentes en ambos tipos de tejidos, se vio que la abundancia de 8 metabolitos fue mayor en tejidos tumorales ya que algunos aminoácidos, carbohidratos y carbohidratos conjugados, glicerosfolípidos y nucleósidos tuvieron mayor concentración en tejidos tumorales comparados con no tumorales. El análisis metabolómico mostró además que la combinación de 1-metilnicotinamida y N-acetil-D-glucosamina-6-fosfato podría servir como un robusto biomarker para distinguir entre tejidos tumorales de cáncer gástrico y tejidos no tumorales. Dado que las células tumorales utilizan aminoácidos para generar energía y sintetizar proteínas y nucleósidos, concentraciones aumentadas de aminoácidos son esenciales para la proliferación de células tumorales. También se sabe que carbohidratos y carbohidratos conjugados son vitales para proveer glucosa y satisfacer los requerimientos de energía para el desarrollo celular tumoral. En cuanto a los nucleósidos, se sabe que la adenosina es clave para participar en el escape del sistema inmune del hospedador (Dai y col., 2021).

Erradicación de *H.pylori*

Una caída sustancial en la eficacia de los tratamientos para *H. pylori* ha sido notado debido al incremento de la antibiótico resistencia, promoviendo el desarrollo de nuevas estrategias para la erradicación, diferentes a las clásicas terapias (Zhang y col., 2023).

Terapia de erradicación

Un buen cumplimiento del tratamiento es altamente necesario. En general, los regímenes de erradicación consisten en dos antibióticos administrados junto a una doble dosis de inhibidores de la bomba de protones para suprimir fuertemente la secreción ácida gástrica. Metronidazol, claritromicina, amoxicilina, tetraciclina y bismuto representan los agentes pilares del tratamiento, que son combinados de distintas maneras en diferentes tipos de terapias que duran 14-15 días.

Sin embargo, la eficacia del tratamiento de erradicación de *H. pylori* ha decrecido dramáticamente. Varios factores, tales como un pobre cumplimiento por parte del paciente y la resistencia de las cepas presentes a los varios antibióticos recetados normalmente o inadecuada supresión ácida, están asociados con fallas en la erradicación, pero el factor más significativo parece ser la creciente resistencia antibiótica regional a drogas. La resistencia multidroga (MDR) en *H. pylori* es importante en fallas de regímenes terapéuticos y bajas tasas de erradicación. Es definida como la resistencia a ≥ 3 antibióticos diferentes y depende del área geográfica, período de estudio y características de los pacientes.

A pesar de que mutaciones espontáneas que simultáneamente inducen resistencia a familias de drogas diferentes, existen mecanismos adicionales responsables del MDR en *H. pylori*. Por ejemplo, la bacteria podría cambiar a células cocoides no móviles para las cuales se requieren mayores concentraciones de antibióticos para lograr efectos bactericidas. Por esto, considerando que en ellas existen modificaciones estructurales en la membrana celular y vías metabólicas que reducen la penetración y la exposición del compuesto blanco frente a la droga, las formas cocoides podrían ser la principal causa del MDR. Adicionalmente, la formación de biofilms podría también jugar un rol importante en la resistencia a antibióticos, a pesar de que el mecanismo no es del todo conocido.

En un momento de MDR incrementados, terapias cuádruples clásicas conteniendo bismuto, consistentes en bismuto, una PPI (bomba inhibidora de protones), metronidasol y tetraciclina, son recomendadas como tratamientos de primera línea para infecciones de *H. pylori* (Dascalu y col., 2023).

Las bombas inhibidoras de protones son otros modificadores de la microbiota gástrica. Las mismas suprimen la secreción de ácido gástrico, están entre las drogas más comúnmente prescritas y son ampliamente usadas para tratar desórdenes gástricos derivados del ácido, tales como reflujo gastroesofágico y úlceras pépticas. Las bombas protónicas reducen la secreción ácido-gástrica

bactericida y lleva a un cambio significativo en la composición global de la microbiota. En el estómago con tratamiento con estas drogas, una gran diversidad de especies bacterianas es observada, y la abundancia relativa de los filos *Firmicutes* y *Fusobacteria* (cuya abundancia es muy baja sin estas drogas) aumenta (Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Dascalu y col., 2023).

Mientras que la erradicación de *H. pylori* afecta la composición y función microbiana gástrica, si esta erradicación restaura la microbiota gástrica a la de un estado no infectado, permanece controvertido. Según algunos estudios, la reconstitución de la microbiota humana después de estos tratamientos es usualmente lenta e incompleta. Un reciente meta-análisis mostró que la composición microbiana gástrica cambió significativamente después de una terapia cuádruple o triple, con una relativa disminución en diferentes grados de la abundancia de taxones relacionados a *H. pylori*. En contraste, comensales gástricos típicamente dominantes (ej., *Firmicutes*, *Bacteroides* y *Actinobacteria*) se enriquecieron después de la erradicación de *H. pylori* (Ohno y Satoh-Takayama, 2020; Zhang y col., 2023; Zhou y col. 2023).

Modulación de la microecología gástrica: la regulación de la microecología gástrica podría jugar un importante rol en la erradicación de *H. pylori*. Una modulación de este tipo podría llevarse a cabo con diferentes estrategias. Algunos probióticos, conocidos como microorganismos que benefician la salud cuando se administran en adecuadas dosis, han demostrado reducir la patología gástrica inducida por *H. pylori* en ratones, disminuyendo la infiltración inflamatoria y la incidencia de lesiones precancerosas. Según estudios realizados, ellos mejoran la tasa de erradicación y reducen los efectos secundarios en humanos pero el número de estudios evaluando el efecto de los probióticos como monoterapia es aún escaso (Homan y Orel, 2015). Cuando se exploró el efecto de una terapia cuádruple suplementada con probióticos (bifidobacterias y lactobacilos), estos se enriquecieron en la mucosa gástrica y jugo, respectivamente, comparado con el grupo que tuvo solo terapia cuádruple. En contraste, los niveles de bacterias potencialmente patógenas, incluyendo *Fusobacterium* y *Campylobacter*, disminuyeron. La diversidad microbiana fue parecida a la de individuos *H. pylori* (-), después del tratamiento de erradicación suplementado con probióticos. Se vio que la administración de probióticos mejora la proporción de bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), incluyendo *Bacteroides*, *Alloprevotella* y *Oscillibacter*, en el estómago de ratones infectados con *H. pylori*. Abundante evidencia ha sugerido el rol de los probióticos en la modulación inmunitaria en modelos animales infectados con *H. pylori*. Varias cepas de lactobacilos reducen la secreción de IL-8 (interleuquina proinflamatoria) por células de adenocarci-

noma gástrico infectadas con *H. pylori* y la cepa *L. salivarius* B37 produjo un polisacárido como factor inmunomodulador de producción de IL-8 en el epitelio gástrico.

El estudio de una cohorte materno–infante mostró que la leche materna podría prevenir la colonización temprana de *H. pylori*, atribuible en principio a los prebióticos que contiene. Un meta–análisis sugirió, por otra parte, que ciertos simbióticos podrían mejorar la erradicación de *H. pylori* y reducir sus efectos adversos (Zhang y col., 2023).

Inhibición del patógeno: la erradicación de *H. pylori* también puede llevarse a cabo a través de este mecanismo. Por ej., cepas de *Lactobacillus reuteri* inhiben la adhesión por una unión competitiva al epitelio gástrico de gangliotetraosylceramida y sulfátido. *Sacharomyces boulardii* produce neuraminidasa selectiva para remover ligandos de adhesina de *H. pylori*, inhibiendo la adhesión de éste a células (Zhang y col., 2023). El grupo MEIJI (Japón) produce un yogur con el agregado de la cepa *L. gasseri* LG21, con efectos demostrados sobre *H. pylori*. Se lo publicita como supresor de esta bacteria, como yogur «anti úlceras» y para reducir la inflamación estomacal (Meiji Group, www.meiji.com).

Metabolitos bacterianos: metabolitos derivados de probióticos se estudiaron extensivamente en la erradicación de *H. pylori*. Sobrenadantes libres de células de cultivos de bacterias lácticas redujeron el desarrollo de *H. pylori*, la actividad de ureasa, la movilidad mediada por flagelos y la secreción inducida por *H. pylori* de IL-8. Algunos probióticos producen bacteriocinas, tales como las Lactinas, que podrían antagonizar la proliferación de *H. pylori*, y ciertas cepas de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* producen sustancias inhibitorias parecidas a bacteriocinas que podrían inactivar cepas de *H. pylori* sensibles y resistentes a antibióticos.

Trasplante de microbiota fecal: esta estrategia ha sido usada para restaurar efectivamente la microbiota gastrointestinal al tratar problemas tales como infecciones por *Clostridium difficile* y la enfermedad inflamatoria intestinal. Sin embargo, para erradicar *H. pylori* se debe tener en cuenta que la microbiota fecal no es representativa de la microbiota de mucosas. El trasplante de microbiota gástrica requiere investigación adicional (Zhang y col., 2023; Zhou y col., 2023; Tian y col., 2024).

Vacunas: el desarrollo de vacunas efectivas podría representar una poderosa estrategia para reducir la prevalencia de infección por *H. pylori* y fallas en la

erradicación pero esto requiere elección de antígenos determinantes, un enfoque genómico y evaluación de la seguridad. Al día de hoy, no existe ninguna vacuna aprobada disponible (Dascalu y col., 2023).

Referencias bibliográficas

- Almashhadany D.A., Abdulmonam Zainel M. & Abdulmonam, T.T.** (2024). Review of food-borne helicobacteriosis. *Italian Journal of Food Safety* 13,12176. 104081/ijfs.2024.12176
- Ansari S. & Yamaoka, Y.** (2017). Survival of *Helicobacter pylori* in gastric acidic territory. *Helicobacter* 22 (4), e12386. <https://doi.org/10.1111/hel.12386>
- Chen Y., Xia S. (...) & Chen, J.** (2023). Gastric juice microbiota in pediatric chronic gastritis that clinically tested positive and negative for *Helicobacter pylori*. *Frontiers in Microbiology* 14: 1112709. 10.3389/fmicb.2023.1112709
- Dai D., Yang Y. (...) & Jiang, H.** (2021). Interactions between gastric microbiota and metabolites in gastric cancer. *Cell Death and Disease* 12, 1104.
- Dascalu, R.I., Bolocan A. (...) & Andronic O.** (2023). Multidrug resistance in *Helicobacter pylori* infection. *Frontiers in Microbiology* 14:1128497. 10.3389/fmicb.2023.1128497.
- Homan, M. & Orel, R. (2015).** Are probiotics useful in *Helicobacter pylori* eradication? *World Journal of Gastroenterology* 21(37), 10644-10653. 10.3748/wjg.v21.137.10644
- Ohno, H. & Satoh-Takayama, N.** (2020). Stomach microbiota, *Helicobacter pylori* and group 2 innate lymphoid cells. *Experimental & Molecular Medicine* 52, 1377-1382. <https://doi.org/10.1038/s12276-020-00485-8>
- Peng X., Yao S. (...) & Yu Z.** (2023). Alterations in bacterial community dynamics from noncancerous to gastric cancer. *Frontiers in Microbiology* 14: 1138928. 10.3389/fmicb.2023.1138928
- Ravikumara, M.** (2023). *Helicobacter pylori* in children: think beforekill the bug! *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 16, 1–10. 10.1177/17562848231177610
- Sampaio Soares, G.A., de Sousa Moraes, F. ... & Santiago Barbosa, M.** (2023). Dietary habits and *Helicobacter pylori* infections: is there an association? *Therapeutic Advances in Gastroenterology* 16, 1–13. 10.1177/17562848231160620
- Tian, Y., Zhao, M. & Fu, X.** (2024). Gastric microbiota dysbiosis and gastric diseases. *Frontiers in Microbiology* 15: 1390896. 10.3389/fmicb.2024.1390896
- Yang H., Wang L. (...) & Hu, B.** (2023). The role of adhesion in *Helicobacter pylori*. *Current Microbiology* 80, article number: 185.
- Zhang L., Zhao M. & Fu, X.** (2023). Gastric microbiota dysbiosis and *Helicobacter pylori* infection. *Frontiers in Microbiology* 14: 1153269. 10.3389/fmicb.2023.115.3269
- Zhou S., Li Ch. ... & Guan, W.** (2023). Gastric microbiota: an emerging player in gastric cancer. *Frontiers in Microbiology* 14: 1130001. 10.3389/fmicb.2023.1130001

Capítulo 7

La microbiota del ecosistema mamario humano

Juan M. Rodríguez y Ma. Florencia Zacarías

Introducción: la leche humana no es estéril

El conocimiento de que la leche fresca de mamíferos contiene microorganismos es tan antiguo como la teoría de los «gérmenes» de Pasteur. Numerosos estudios realizados entre la segunda mitad del siglo XIX y la primera del XX demostraron que las bacterias eran comunes en la leche de los rumiantes y que podían causar mastitis, deteriorar la leche o transmitir microbios patógenos a los consumidores. A mediados del siglo XX, se publicaron los primeros estudios sobre la composición bacteriológica de la leche humana (Dubois y col., 1954). La mayoría reportó un hecho inesperado: la abundante y generalizada «contaminación» bacteriana de la leche destinada a los bancos de leche humana, incluyendo estafilococos, estreptococos y enterobacterias. Dado que estas instituciones se estaban extendiendo rápidamente en los países occidentales, el número de estudios que proponían criterios bacterianos para la aceptación de la leche de donante, o procedimientos de recolección, almacenamiento y procesado para reducir la carga bacteriana de la leche, también aumentó rápidamente desde los años 50 hasta principios de los '80 (Eidelman y Szilagy, 1979).

En 1985, se publicó el primer caso de presunta transmisión madre-hijo del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) a través de la leche materna (Ziegler y col., 1985). En los años siguientes, el miedo a la transmisión del VIH provocó una fuerte crisis en los bancos de leche humana (Haiden y Ziegler, 2016). Como resultado, la mayoría de los estudios microbianos de la leche humana publicados en la segunda mitad de los 80 y a lo largo de los 90 estaban relacionados con su papel como vehículo del VIH, y con la búsqueda de los mejores métodos para el cribado de donantes y para la inactivación viral (Boyes, 1987). En esta etapa, la presencia de cualquier tipo de microbio (*gérmenes*) en la leche generalmente se consideraba una amenaza potencial para la salud infantil.

Esta visión negativa comenzó a cambiar en 2003 debido a la publicación de dos artículos que describían que la leche humana puede ser una fuente de bacterias lácticas (Heikkilä y Saris, 2003; Martín y col., 2003), microorganismos generalmente reconocidos como seguros y beneficiosos para la salud infantil. Un año después se publicó el primer artículo que proponía la existencia de una microbiota específica en la leche humana (Martín y col., 2004). Pronto se encontró que algunas cepas aisladas de este fluido biológico poseían propiedades potencialmente probióticas (Beasley y Saris, 2004; Martín y col., 2005; Martín y col., 2006). No obstante, la primera descripción de la presencia de lactobacilos (*Lactobacillus acidophilus*) y bifidobacterias (entonces denominadas *Lactobacillus bifidus*) en el calostro de mujeres sanas se realizó en 1947 (Cataldi y Müller, 1947); sin embargo, dicho trabajo fue (y sigue siendo) ignorado por la comunidad médica y científica, probablemente debido a que fue publicado en español en una revista argentina sin difusión internacional.

Desde aquellos primeros trabajos sobre la microbiota de la leche humana, todos los estudios posteriores han proporcionado evidencia de la presencia de microbios y/o ADN microbiano en la leche obtenida higiénicamente a partir de mujeres sanas. Por el contrario, ningún estudio ha encontrado evidencia de su ausencia. En consecuencia, actualmente se acepta que la leche humana contiene una microbiota propia, con un reconocimiento cada vez mayor de su papel en la colonización del intestino infantil.

Composición de la microbiota de la leche humana

En condiciones fisiológicas, la concentración de bacterias en la leche humana puede variar desde un nivel no detectable hasta aproximadamente $4 \log_{10}$ unidades formadoras de colonias (ufc)/mL cuando las muestras se obtienen higiénicamente mediante extracción manual o mediante dispositivos estériles de un solo uso. En contraste, la concentración puede ascender hasta $6 \log_{10}$ ufc/mL en casos de mastitis (Fernández y col., 2014) o si la leche se recolecta mediante el uso de bombas domésticas, en este caso debido al agua empleada para el lavado de estos dispositivos o a malas prácticas higiénicas (Rodríguez-Cruz y col., 2020).

Los métodos dependientes de cultivo han revelado que los estafilococos (*S. epidermidis* y otras especies coagulasa-negativas), los estreptococos (grupos *mitis* y *salivarius*), las corinebacterias, las propionibacterias y otras bacterias Gram-positivas afines suelen ser las bacterias dominantes en las muestras de

leche humana (Jiménez y col., 2008a,b; Ding y col., 2019). Con menor frecuencia, también se pueden aislar bacterias del ácido láctico (*Ligilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Weissella*, *Enterococcus*) y bifidobacterias (Martín y col., 2003; Martín y col., 2006; Martín y col., 2009; Arboleya y col., 2010; Solís y col., 2010). Las técnicas basadas en cultivos permiten el aislamiento, la conservación y la caracterización de cepas (el nivel taxonómico que brinda la mayor flexibilidad a cualquier ecosistema). El estudio de las cepas de leche humana mediante herramientas fenotípicas y genéticas adecuadas facilitará el conocimiento de las funciones y aplicaciones potenciales de dichas cepas.

La aplicación de técnicas moleculares independientes del cultivo, incluidos diferentes enfoques de PCR, combinados o no con la creación de bibliotecas de genes, la electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE) o la electroforesis en gel de gradiente de temperatura (TGGE), permitió una evaluación complementaria de las poblaciones bacterianas en la leche humana (Gueimonde y col., 2007; Martín y col., 2007a,b; Delgado y col., 2008). Estas técnicas fueron rápidamente reemplazadas por otras más potentes (NGS; del inglés, *Next Generation Sequencing*), incluyendo los análisis metataxonómicos (secuenciación de amplicones obtenidos a partir del gen 16S ARN) y los metagenómicos (secuenciación del ADN total o *shotgun*). Los abordajes metataxonómicos han sido mayoritarios hasta la fecha (Hunt y col., 2011; Cabrera-Rubio y col. 2012; Jost y col., 2013; Pannaraj y col., 2017; Lackey y col., 2019; Pace y col., 2021; Ruiz y col., 2021) y, aunque no proporcionan información sobre viabilidad o funcionalidad, han sido útiles para comprender la complejidad del ecosistema microbiano de la leche y su papel en la homeostasis mamaria y, especialmente, en la colonización intestinal durante las primeras etapas de la vida.

El bacterioma de la leche humana es dinámico y complejo y no está ensamblado de manera aleatoria, sino que forma redes y consorcios bien organizados (Ma y col., 2015; Drago y col., 2017). Globalmente, los estudios metataxonómicos han confirmado la presencia de ADN de los grupos bacterianos cultivables citados anteriormente. Además, también han detectado ADN de algunos anaerobios estrictos asociados al intestino y que no son cultivables o son muy difíciles de cultivar y/o conservar (*Bacteroides*, *Blautia*, *Clostridium*, *Coproccoccus*, *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Ruminococcus*, *Roseburia*, *Veillonella*).

Por otra parte, estos estudios también han descrito la frecuente presencia de ADN de bacterias relacionadas con el suelo y el agua (*Acinetobacter*, *Bradryrhizobium*, *Methylobacterium*, *Novosphingobium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Sphingopyxis*, *Sphingobium* *Sphingomonas*, *Stenotrophomonas*, *Xanthomonas*,

etc.) (Hunt y col., 2011; Cabrera-Rubio y col., 2012). Es posible que, en muchos casos, tales secuencias sean el resultado de artefactos técnicos. El ADN de estos géneros bacterianos suele estar presente en los reactivos de PCR, los kits de extracción de ADN y el agua de grado molecular (Grahn y col., 2003; Salter y col., 2014). Este hecho supone un gran desafío cuando se trabaja con muestras que contienen una biomasa microbiana baja, como la leche humana en condiciones fisiológicas, y puede conducir a conclusiones erróneas, incluyendo la consideración de meros contaminantes como miembros dominantes (*core*) del bacterioma (Laurence y col., 2014). Por ello, es necesario implementar medidas para reducir el impacto de los contaminantes en los estudios de la microbiota, desde la secuenciación de controles negativos o de comunidades con composición conocida hasta procedimientos de eliminación de contaminantes (Salter y col., 2014). Los estudios futuros requerirán análisis más complejos y controles de calidad más estrictos para determinar qué datos son realmente genuinos en una muestra procedente del ecosistema mamario.

Los estudios metagenómicos (*shotgun*) del ADN microbiano de la leche han sido muy escasos hasta la fecha, en gran parte debido a su mayor coste y complejidad, a pesar de que puede proporcionar datos taxonómicos y funcionales, no sólo de las bacterias sino también de otros componentes mucho más desconocidos del microbioma de la leche, incluyendo virus, arqueas, hongos y protozoos (Ward y col., 2013; Jiménez y col., 2015). De hecho, algunos estudios han revelado la presencia de células y/o ácidos nucleicos de virus (incluyendo fagos), arqueas, hongos y protozoos en la leche humana (Jiménez y col., 2015; Duranti y col., 2017; Pannaraj y col., 2018; Boix-Amorós y col., 2019). No obstante, se trata de un área aún por explorar.

En cualquier caso, la microbiota de la leche humana se caracteriza por un alto grado de variabilidad interindividual (Martín y col., 2007a,b; Hunt y col., 2011, Avershina y col., 2018). Las modificaciones en su composición podrían tener implicaciones biológicas desde los puntos de vista materno (salud mamaria) e infantil (metabolismo, desarrollo inmunológico y neuroendocrino). Sin embargo, el impacto de varios factores (genéticos, ubicación geográfica, dieta materna, edad gestacional, forma de nacimiento, tiempo posparto, ritmo circadiano, índice de masa corporal, tratamientos recibidos, estado de salud materno-infantil, muestreo, conservación, técnica de análisis, etc.) en las comunidades microbianas de la leche humana es prácticamente desconocido (Gómez-Gallego y col., 2016; Fernández y col., 2020)(figura 1).

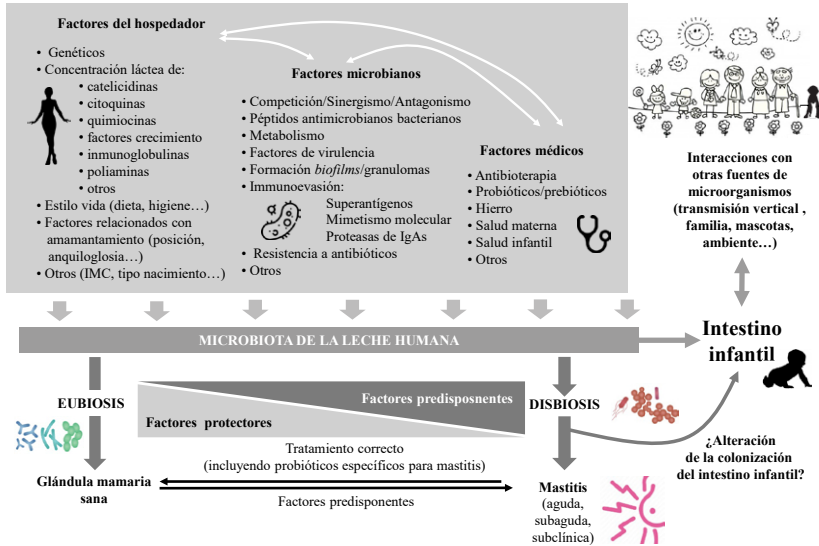


Figura 1. Factores que afectan a la composición de la microbiota de la leche humana. (Adaptado de Fernández y col., 2020)

Aunque algunos estudios han tratado de dilucidar la influencia de algunos de estos factores, la mayoría de ellos incluía un bajo número de muestras o mujeres; esta limitación, junto con el hecho de que los factores asociados con las variaciones en el microbioma de la leche humana son complejos y pueden interactuar entre ellos, dificulta evaluar su verdadero impacto en la microbiota de la leche. De hecho, en ocasiones se han obtenido resultados contradictorios cuando diferentes grupos de investigación han comparado el efecto del mismo factor en la microbiota de la leche humana.

Transferencia de microorganismos madre-hijo a través de la leche humana y posibles funciones

Algunos de los microorganismos existentes en el calostro y leche se encuentran entre los primeros colonizadores del intestino infantil y, por lo tanto, podrían desempeñar un papel clave en el desarrollo de una microbiota saludable. Varios estudios han descrito el papel de la leche humana en la transferencia vertical de microorganismos (Martín y col., 2003; Martín y col., 2006; Martín y col., 2009; Solís y col., 2010; Albesharat y col., 2011; Martín y col., 2012; Kozak y

col., 2015; Makino y col., 2015; Milani y col., 2015; Asnicar y col., 2017; Duranti y col. 2017; Murphy y col., 2017). De hecho, se ha estimado que un elevado porcentaje de la comunidad bacteriana presente durante los primeros meses de vida en el intestino de los niños amamantados procede de la leche humana (Murphy y col., 2017; Pannaraj y col., 2017). La microbiota de los bebés amamantados parece estar dominada por las bacterias de la leche materna en tanto que se mantenga la lactancia e independientemente de la introducción o no de otros alimentos (Bäckhed y col., 2015). Aun así, la importancia y la contribución de las bacterias en la leche humana a la colonización del intestino infantil sigue siendo una cuestión abierta.

En cualquier caso, la microbiota de la leche humana puede contribuir, al menos, a algunas de las propiedades funcionales y beneficios para la salud que los estudios epidemiológicos han asociado con la lactancia materna, incluida la protección contra infecciones, la programación metabólica, la inmunomodulación y la neuromodulación (Ma y col., 2016). Estos distintos mecanismos, al igual que los ensayos clínicos que han confirmado los efectos beneficiosos de algunas cepas aisladas de la leche humana han sido revisados por Fernández y col. (2020). El análisis del genoma de estas cepas está proporcionando pistas adicionales que pueden ayudar a explicar sus propiedades funcionales. A modo de ejemplo, las bacterias de la leche humana pueden brindar cierto grado de protección contra infecciones causadas por virus, bacterias u hongos a través de una variedad de mecanismos: (a) producción de compuestos antimicrobianos, incluidos ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, reuterina o bacteriocinas; (b) coagregación con patobiontes, impidiendo su acceso a las células epiteliales del intestino; (c) exclusión competitiva con patobiontes por nutrientes o receptores del huésped; (d) refuerzo de la barrera intestinal infantil al preservar y mejorar la permeabilidad intestinal y aumentar la biosíntesis de mucina; y (e) inmunomodulación.

Las bacterias aisladas de la leche de mujeres sanas son atractivas como candidatas a probióticos por su origen, ya que implica un historial de ingesta segura por parte de lactantes e interacciones simbióticas complejas desde que nacemos. Entre ellas, han recibido especial atención aquellas especies (bacterias lácticas y bifidobacterias) que disfrutaban del estatus GRAS (*Generally Recognized As Safe*) (FDA, EE. UU.) o QPS (Presunción Cualificada de Seguridad) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Por el contrario, los estafilococos coagulasa-negativos y los estreptococos de los grupos *mitis* y *salivarius* han recibido una atención marginal a pesar de ser las bacterias dominantes en la leche humana (Jiménez y col., 2008a; Martín y col., 2012) y un rasgo diferencial de las heces de los lactantes amamantados (Jiménez y col., 2008a). Sin

embargo, pueden proporcionar funciones probióticas relevantes en la práctica (Iwase y col., 2010; Park y col., 2011) y, por lo tanto, merece la pena estudiar sus posibles funciones para la fisiología materno-infantil.

Origen de la microbiota de la leche humana

En el pasado, cualquier bacteria aislada de la leche humana se consideraba como un mero contaminante derivado de la piel del ámbito mamario o de la boca del lactante. Sin embargo, este punto de vista no explica, entre otras cosas, el aislamiento y la detección de ADN de especies anaeróbicas asociadas al intestino que no se encuentran naturalmente en los lugares citados anteriormente (Rodríguez, 2014).

Parece obvio que, durante la lactancia, algunas bacterias orales de la boca o la nasofaringe del lactante pueden contaminar la leche; sin embargo, el calostro obtenido dentro de las 24 h posteriores al nacimiento ya contiene bacterias orales típicas, como *Leptotrichia*, *Prevotella* o *Veillonella* (Cabrera-Rubio y col., 2012); como consecuencia, su presencia puede preceder a la primera alimentación infantil. Cabe destacar que el precalostro que secretan algunas mujeres antes del parto ya contiene la microbiota que caracteriza a la leche humana (Martín y col., 2004). De hecho, también se han aislado bacterias asociadas a la boca en el precalostro recogido al final del primer embarazo y, por tanto, previo a cualquier contacto con el recién nacido (Ruiz y col., 2019).

Por lo que respecta a la piel, las superficies mamarias externas (pezón, areola mamaria, glándulas de Montgomery) son muy peculiares en relación con la piel de otras partes del cuerpo, sufriendo importantes cambios anatómicos y fisiológicos a lo largo del embarazo. Algunas especies y géneros comúnmente aislados de la leche humana, como *Corynebacterium*, *Propionibacterium acnes* o, particularmente, *Staphylococcus epidermidis*, también son habitantes de la piel humana. Los estafilococos, las corinebacterias y las propionibacterias se han considerado tradicionalmente como miembros de la microbiota cutánea; sin embargo, están muy extendidos en la mayoría, si no todas, las superficies mucosas humanas; de hecho, las poblaciones de tales bacterias alcanzan sus concentraciones más altas en los tractos digestivo y genitourinario. Globalmente, aunque la leche, la piel de la mama y la boca del lactante pueden compartir algunos filotipos, existen diferencias importantes entre sus respectivas comunidades microbianas (Hunt y col., 2011; Cabrera-Rubio y col., 2012; Jost y col., 2013; Jiménez y col., 2015; Pannaraj y col., 2017).

En este contexto, las superficies mucosas del tracto digestivo materno (cavidad oral, intestino) pueden ser una fuente de bacterias para la glándula mamaria (y, en consecuencia, para la leche) durante el final del embarazo y la lactancia (Martín y col., 2004; Rodríguez, 2014; Mira y Rodríguez, 2016; Fernández y Rodríguez, 2020). La existencia de tales vías oro- y entero-mamarias implica interacciones altamente reguladas entre bacterias, células epiteliales y células inmunitarias, incluidas las células dendríticas (DC) y los macrófagos. Estas interacciones impulsarían la translocación fisiológica de ciertas bacterias sin comprometer la integridad del epitelio intestinal (Rescigno y col., 2001). Tras la translocación, la glándula mamaria ejercería un fuerte efecto de reclutamiento sobre las células inmunitarias que actúan como portadores bacterianos.

La translocación bacteriana desde el tracto digestivo a ubicaciones extra-digestivas es un proceso fisiológico y común en huéspedes sanos, aunque de bajo nivel. Sin embargo, la intensidad de este proceso aumenta notablemente durante la gestación y la lactancia, como se ha observado en modelos animales (Perez y col., 2007; Treven y col., 2015; de Andrés y col., 2017; Azagra-Boronat y col., 2020). De hecho, la existencia de un intenso tráfico entero-mamario de células inmunitarias durante el final del embarazo y la lactancia es conocida desde hace mucho tiempo. Dicho flujo es responsable de la integración de las glándulas mamarias (pre)lactantes en el sistema inmunológico asociado a las mucosas (MALT). Más recientemente, se ha demostrado el transporte de células bacterianas viables, incluyendo estreptococos, lactobacilos y bifidobacterias, por células mononucleares presentes en la sangre y la leche de mujeres gestantes y lactantes (Langa, 2006; Perez y col., 2007, Langa y col., 2012). De hecho, varios estudios han demostrado la transferencia entero-mamaria de cepas específicas tras su administración por vía oral a ratonas lactantes (Treven y col., 2015; de Andrés y col., 2017; Azagra-Boronat y col., 2020), mujeres lactantes (Jiménez y col., 2008c; Arroyo y col., 2010; Kordy y col., 2020) o mujeres embarazadas (Fernández y col., 2016). En estudios humanos, la presencia de las cepas específicas en la leche no se puede explicar en base a la contaminación fecal, ya que las muestras de leche recogidas higiénicamente mediante extracción manual no contienen enterobacterias fecales (Mediano 2017). Igualmente se ha observado que madres que habían ingerido las cepas *L. rhamnosus* GG, *L. acidophilus* La-5 y *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 transfirieron dichas cepas a sus hijos a través de la lactancia (Avershina y col., 2018; Simpson y col., 2018). Los mecanismos y factores que favorecen esta translocación fisiológica durante el embarazo y la lactancia y sus posibles consecuencias para la salud materno-infantil son aspectos que han sido revisados por Rodríguez (2014) y Mira y Rodríguez (2016).

Disbiosis mamaria: de la fisiología a la mastitis de la lactancia y viceversa

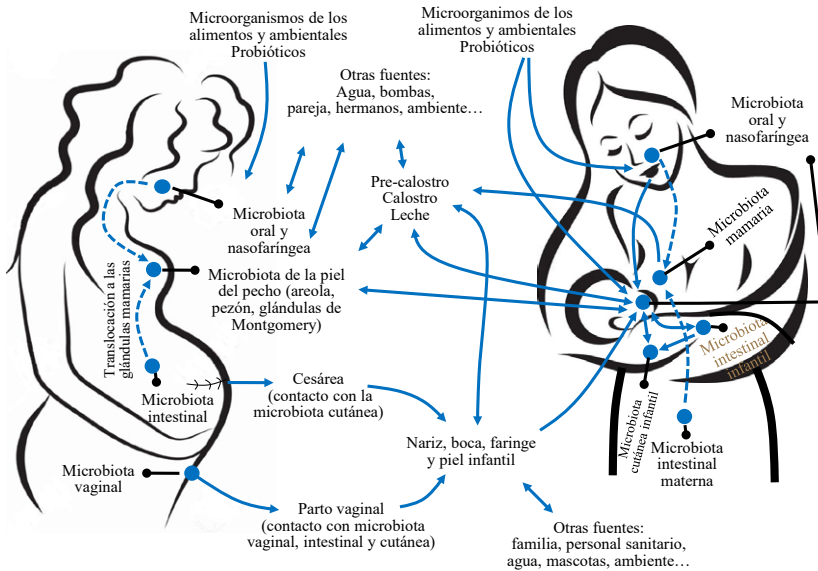


Figura 2. Fuentes potenciales de microbios para la leche humana e interacciones con otras microbiotas materno-infantiles. Las flechas discontinuas significan una posible translocación a través de una vía endógena. (Adaptado de Fernández y col., 2020)

La mastitis representa la primera causa médica de destete no deseado y debe ser considerada como un problema de Salud Pública relevante ya que impide que los lactantes y sus madres reciban los beneficios para la salud asociados a la lactancia materna.

Como se indicó anteriormente, la glándula mamaria está habitada por una amplia variedad de microorganismos durante una lactancia saludable, incluidas especies bacterianas que tienen el potencial de causar mastitis; sin embargo, si existe una alteración de este estado de equilibrio, se puede presentar una situación de disbiosis que, eventualmente, conducirá a una mastitis (Delgado y col., 2008; Fernández y col., 2014) (figura 2). La etiología y patogénesis de las mastitis agudas y subagudas han sido revisadas por Fernández y col. (2014), Rodríguez y Fernández (2016) y Fernández y col. (2020). La diversidad bac-

teriana en casos de mastitis, ya sean agudas o subagudas, se reduce drásticamente en comparación con la existente en la leche de mujeres sanas (Patel y col., 2017). Más concretamente, se enriquecen significativamente en patógenos oportunistas, como *Staphylococcus*, mientras que se produce una depleción en anaerobios obligados comensales, como *Ruminococcus*, *Faecalibacterium* o *Eubacterium*.

El uso empírico de antibióticos ha sido, y sigue siendo, el enfoque más común para tratar las mastitis. Sin embargo, muchos casos no responden a dicha terapia ya que los agentes de la mastitis se están volviendo cada vez más resistentes a los antimicrobianos a través de diferentes mecanismos, incluidas las resistencias intrínsecas, la presencia de genes transmisibles de resistencia a los antibióticos y/o la formación de biopelículas. Las altas tasas de resistencia a los antimicrobianos entre las bacterias que causan mastitis tienen relevancia clínica en relación con las opciones de tratamiento. Además, los antibióticos de amplio espectro pueden alterar la microbiota de la leche, perjudicando la transmisión vertical de microbios a través de la lactancia (Soto y col., 2014). Por lo tanto, se necesitan nuevas estrategias para el manejo de la mastitis y, en este contexto, las basadas en la modulación de la microbiota mamaria a través de la selección y aplicación de cepas probióticas aisladas originalmente de la leche humana parecen particularmente adecuadas para este objetivo (Fernández y col., 2014).

En los últimos años, varios ensayos en humanos han revelado que la administración oral de algunas cepas de leche humana específicamente diseñadas para la diana «mastitis» provocan cambios relevantes en una variedad de parámetros clínicos, microbiológicos, bioquímicos e inmunológicos de la leche, siendo un excelente abordaje para el tratamiento y prevención de las mastitis (Jiménez y col., 2008c; Espinosa-Martos y col., 2016; Jiménez y col., 2021; Rodríguez-Sojo y col., 2021). De hecho, este enfoque puede resultar más eficaz que la antibioterapia empírica para el tratamiento de esta afección (Arroyo y col., 2010). Estudios metabolómicos han revelado que el impacto del tratamiento con probióticos también se puede observar en la orina de las mujeres tratadas (Vázquez-Fresno y col., 2014). Por ejemplo, la lactosa estaba presente en las muestras de orina antes del tratamiento, pero no se detectó después del tratamiento con probióticos, lo que indica una restauración de la integridad del epitelio mamario. La evaluación de los cambios transcriptómicos en las células somáticas de la leche asociados a la ingesta de otra cepa por parte de mujeres con mastitis también ha proporcionado información valiosa sobre los posibles mecanismos responsables de la eficacia de probióticos específicos en el tratamiento de la mastitis (de Andrés y col., 2018). Algunas cepas se han

aplicado con éxito como estrategia preventiva en una población de mujeres con antecedentes de mastitis tras embarazos anteriores cuando se administran ya sea al final del embarazo o durante la lactancia (Fernández y col., 2016). Finalmente, otro ensayo ha mostrado su eficacia para reducir el riesgo de mastitis entre la población general de mujeres embarazadas (Jiménez y col., 2021).

Desarrollo de probióticos a partir de cepas aisladas de leche humana

Algunas cepas aisladas originalmente de muestras de leche humana han sido objeto de patentes y, subsiguientemente, se han comercializado en distintos productos dirigidos a la salud materna y/o infantil. La patente WO 2004/003235 A2 (fecha de prioridad 28 de junio de 2002) contenía 4 cepas procedentes de dicho origen, que se habían aislado en el Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos de la Universidad Complutense de Madrid en el año 2001 (Martín y col., 2003; Martín y col., 2006): *Ligilactobacillus salivarius* CECT5713, *Lactobacillus gasseri* CECT5174 y 5175, y *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716.

Entre ellas, *L. salivarius* CECT5713 ha sido objeto de numerosos estudios (Langa y col., 2012), incluyendo ensayos clínicos para evaluar su seguridad y eficacia en mujeres lactantes (Jiménez y col., 2008c; Arroyo y col., 2010). Inicialmente esta cepa se comercializó en Alemania y países limítrofes para uso médico especial en mujeres embarazadas y lactantes (para la prevención y tratamiento de las mastitis) bajo el nombre de Aptamil ProFutura Mama Probiotikum® (grupo Nutricia). En 2020, Nutricia/Danone sustituyó ese producto por otro que contenía *L. salivarius* PS2, otra cepa con las que se han realizado diversos ensayos clínicos (Vázquez-Fresno y col., 2014; Espinosa-Martos y col., 2016; Fernández y col., 2016; de Andrés y col., 2018) y protegida por la patente PCT/NL2013/050924 (fecha de prioridad: 19 de diciembre de 2013). En este caso, el producto se empezó a comercializar en China con el nombre de Aptamamai® y, más recientemente (mayo 2023), en España, bajo el nombre de Almimama®. Se espera que en los próximos meses se comercialice en otros países a pesar de los retos que implica el escalado y estabilidad de las cepas de esta especie (Guerrero Sánchez y col., 2022).

Por lo que respecta a *L. fermentum* CECT5716, otra cepa muy estudiada (Rodríguez-Sojo y col., 2021), se ha incluido en fórmulas infantiles comercializadas por algunas empresas, como HiPP o Puleva, debido a su capacidad para reducir la incidencia de infecciones gastrointestinales en la población

infantil (Pastor-Villaescusa y col., 2021). Esa misma cepa también se ha comercializado en productos dirigidos a la salud mamaria, como Lactanza[®] (Angelini), Qiara[®] (Puremedic Health Pty Ltd) u Optilac[®] (Nestlé). *L. gasseri* CECT5174 se comercializa en forma de leche fermentada dirigida a la población infantil; inicialmente, la comercializó Puleva (MaxDefensas[®]) pero, poco después, la empresa española llegó a un acuerdo con Alpina (Colombia) que desde entonces la emplea en un producto similar denominado Yox Defensis[®].

Actualmente existen diversas cepas de *Limosilactobacillus reuteri* en el mercado; sin embargo, la primera cepa de *L. reuteri* comercializada para uso humano fue *L. reuteri* DSM 17938 (*L. reuteri* Protectis[®], Reuteri[®], BioGaia), una cepa aislada de una muestra de leche materna obtenida de una mujer peruana en 1990. Esa misma empresa también (BioGaia) posee en su cartera otra cepa aislada de leche humana (*L. reuteri* ATCC PTA 6475), en este caso aislada a partir de una mujer finlandesa (patente US7344867B2, fecha de prioridad: 15 de abril de 2005).

En Argentina, el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN, UNL-CONICET) comenzó a trabajar en el año 2008 en el aislamiento de cepas de leche materna humana, a través de una metodología tradicional dependiente de cultivo. A partir de una primera ronda de muestreos (16 madres participantes) se obtuvieron 4 cepas de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (Zacarías y col., 2011), y de una segunda ronda de muestreos realizada en 2011 (10 madres participantes) se obtuvo una cepa de *B. longum* y 4 cepas de lactobacilos (Zacarías y col., 2019). En particular uno de los aislamientos, *B. lactis* INLI, fue estudiado exhaustivamente tanto desde un punto de vista tecnológico como funcional. Se evaluó la producción de biomasa bajo distintas condiciones de cultivo y su resistencia frente a diversas tecnologías de conservación, como liofilización, secado spray, secado al vacío y por microondas, y también microencapsulación en diferentes matrices (Vinderola y col. 2012; Loyeau y col., 2018; Zacarías y col. 2011, 2017, 2019, 2020). En cuanto a su seguridad y caracterización funcional, se evaluó resistencia a antibióticos, capacidad antagonista frente a diversos patógenos y resistencia a la digestión gastrointestinal simulada mediante ensayos *in vitro*, además de ensayos *in vivo* de inmunomodulación, de protección en dos modelos de Salmonelosis y en modelos experimentales de colitis aguda y crónica inducida por TNBS (Burns y col. 2017; Zacarías y col., 2011, 2014, 2017, 2019). Esto derivó en la firma de un Acuerdo de Transferencia de Material Biológico (MTA) entre CONICET y la empresa francesa Pileje SAS para el estudio de las propiedades funcionales y tecnológicas de la cepa para su potencial transferencia y aplicación como probiótico en suplementos dietarios (2018-2020; N° Expediente REC-1029333-

20). En 2016 comenzó una tercera etapa de muestreos de leche humana, utilizándose tanto metodologías tradicionales como de análisis metagenómico. A partir de 164 muestras donadas por 104 madres, se obtuvieron 15 aislamientos de interés: 14 lactobacilos y una bifidobacteria (Oddi y col., 2020a). En este caso, se evaluó la capacidad de los aislamientos de inducir la secreción de IL-10 en cultivos de macrófagos murinos y la resistencia a liofilización, además de estudios *in vivo* de inmunomodulación y protección frente a *Salmonella* para los aislamientos *L. gasseri* 70C, *L. plantarum* 73a y *L. plantarum* 73b. Además, *L. plantarum* 73a y *B. lactis* INLI fueron estudiados en un simulador SHIME® (*Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem*), utilizándose la microbiota fecal de un niño obeso, obteniéndose resultados alentadores para la administración del lactobacilo o de ambas cepas en simultáneo (Oddi y col., 2020b). A fines de 2021 se firmó un acuerdo de asistencia técnica y licencia de cepas entre la UNL y la empresa española Biopolis, S.L. (ADM) en el que se licenciaron 19 aislamientos de leche materna de la colección de cultivos de INLAIN por un período de 5 años (ampliable a 15 años), convirtiéndose en el primer acuerdo de este tipo en la historia de la UNL.

Referencias bibliográficas

- Albesharat, R.; Ehrmann, M. A. (...) & Vogel, R. F.** (2011). Phenotypic and genotypic analyses of lactic acid bacteria in local fermented food, breast milk and faeces of mothers and their babies. *Systematic and Applied Microbiology*, 34, 148–55.
- Arbolea, S.; Ruas-Madiedo, P., (...) & Gueimonde, M.** (2011). Characterization and *in vitro* properties of potentially probiotic *Bifidobacterium* strains isolated from breast-milk. *International Journal of Food Microbiology*, 149, 28–36.
- Arroyo, R.; Martin, V. (...) & Rodríguez, J.M.** (2010). Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. *Clinical Infectious Diseases*, 50, 1551-8.
- Asnicar, F.; Manara, S. (...) & Segata, N.** (2017). Studying vertical microbiome transmission from mothers to infants by strain-level metagenomics profiling. *mSystems*, 2, e00164.
- Avershina, E.; Angell, I. L. (...) & Rudi, K.** (2018). Low maternal microbiota sharing across gut, breast milk and vagina, as revealed by 16S rRNA gene and reduced metagenomic sequencing. *Genes*, 9, pii: E231.
- Azagra-Boronat, I.; Tres, A. (...) & Rodríguez-Lagunas, M. J.** (2020). *Lactobacillus fermentum* CECT5716 supplementation in rats during pregnancy and lactation affects mammary milk composition. *Journal of Dairy Science*, 103, 2982–2992.
- Bäckhed, F.; Roswall, J. (...) & Wang J.** (2015). Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. *Cell Host & Microbe*, 17, 690-703.

- Beasley, S. S. & Saris, P. E. J.** (2004). Nisin-producing *Lactococcus lactis* strains isolated from human milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 5051-3.
- Boix-Amorós, A.; Puente-Sánchez, F. (...) & Collado, M. C.** (2019). Mycobiome profiles in breast milk from healthy women depend on mode of delivery, geographic location, and interaction with bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 85, pii: e02994-18.
- Boyes, S. M.** (1987). AIDS virus in breast milk: a new threat to neonates and donor breast milk banks. *Neonatal Network*, 5, 37-9.
- Burns, P.; Alard J. (...) & Grangette C.** (2017). Spray-drying process preserves the protective capacity of a breast milk-derived *Bifidobacterium lactis* strain on acute and chronic colitis in mice. *Scientific Reports*, 7, 43211.
- Cabrera-Rubio, R.; Collado, M. C. (...) & Mira, A.** (2012). The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *American Journal of Clinical Nutrition*, 96, 544-51.
- Cataldi, M. S. & Müller, A.** (1947). Microflora del calostro y de la superficie cutánea del seno materno en relación con la del tubo digestivo del recién nacido. *El Día Médico*, 7 de abril de 1945, 473-5.
- de Andrés, J.; Jiménez, E. (...) & García-Conesa, M. T.** (2018). An exploratory search for potential molecular targets responsive to the probiotic *Lactobacillus salivarius* PS2 in women with mastitis: gene expression profiling vs. interindividual variability. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2166.
- de Andrés, J.; Jiménez, E. (...) & Rodríguez, J. M.** (2017). Physiological translocation of lactic acid bacteria during pregnancy contributes to the composition of the milk microbiota in mice. *Nutrients*, 10, pii: E14.
- Delgado, S.; Arroyo, R. (...) & Rodríguez, J.M.** (2008). PCR-DGGE assessment of the bacterial diversity of breast milk in women with lactational infectious mastitis. *BMC Infectious Diseases*, 8, 51.
- Ding, M.; Qi, C. (...) & Sun, J.** (2019). Geographical location specific composition of cultured microbiota and *Lactobacillus* occurrence in human breast milk in China. *Food & Function*, 10, 554-564.
- Drago, L.; Toscano, M. (...) & Peroni, D. G.** (2017). Microbiota network and mathematic microbe mutualism in colostrum and mature milk collected in two different geographic areas: Italy versus Burundi. *ISME Journal*, 11, 875-884.
- Dubois, M.** (1954). [Role of contamination by breast milk in *Staphylococcus* infection of newborn]. *La Revue du Praticien*, 4, 493-5.
- Duranti, S.; Lugli, G.A. (...) & Ventura, M.** (2017). Maternal inheritance of bifidobacterial communities and bifidophages in infants through vertical transmission. *Microbiome*, 5, 66.
- Eidelman, A. I. & Szilagyi, G.** (1979). Patterns of bacterial colonization of human milk. *Obstetrics & Gynecology*, 53, 550-2.
- Espinosa-Martos, I.; Jiménez, E. (...) & Rodríguez, J.M.** (2016). Milk and blood biomarkers associated to the clinical efficacy of a probiotic for the treatment of infectious mastitis. *Beneficial Microbes*, 7, 305-18.
- Fernández, L.; Arroyo, R. (...) & Rodríguez, J.M.** (2014). Probiotics for human lactational mastitis. *Beneficial Microbes*, 5, 169-183.

- Fernández, L.; Cardenas, N. (...) & Rodríguez, J.M.** (2016). Prevention of infectious mastitis by oral administration of *Lactobacillus salivarius* PS2 during late pregnancy. *Clinical Infectious Diseases*, 62, 568-73.
- Fernández, L.; Langa, S. (...) & Rodríguez, J.M.** (2013). The Human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*, 69, 1-10.
- Fernández, L.; Pannaraj, P.S. (...) & Rodríguez, J. M.** (2020). The microbiota of the human mammary ecosystem. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 586667.
- Gomez-Gallego, C.; Garcia-Mantrana, I. (...) & Collado, M. C.** (2016). The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*, 21, 400-5.
- Grahn, N.; Olofsson, M. (...) & Jonasson, J.** (2003). Identification of mixed bacterial DNA contamination in broad-range PCR amplification of 16S rDNA V1 and V3 variable regions by pyrosequencing of cloned amplicons. *FEMS Microbiology Letters*, 219, 87-91.
- Gueimonde, M.; Laitinen, K. (...) & Isolauri, E.** (2007). Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology*, 92, 64-6.
- Guerrero Sanchez, M.; Passot, S. (...) & Fonseca, F.** (2022). *Ligilactobacillus salivarius* functionalities, applications, and manufacturing challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 57-80.
- Heikkilä, M.P. & Saris, P.E.J.** (2003). Inhibition of *Staphylococcus aureus* by the commensal bacteria of human milk. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 471-8.
- Hunt, K. M.; Foster, J. A. (...) & McGuire, M. K.** (2011). Characterization of the diversity and temporal stability of bacterial communities in human milk. *PLoS One*, 6, e21313.
- Iwase, T.; Uehara, Y. (...) & Mizunoe, Y.** (2010). *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. *Nature* 465, 346-9.
- Jiménez, E.; de Andrés, J. (...) & Rodríguez, J. M.** (2015). Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. *Journal of Human Lactation*, 31, 406-15.
- Jiménez, E.; Delgado, S. (...) & Rodríguez, J. M.** (2008a). *Staphylococcus epidermidis*: A differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiology*, 8, 143.
- Jiménez, E.; Delgado, S. (...) & Rodríguez, J. M.** (2008b). Assessment of the bacterial diversity of human colostrum and screening of staphylococcal and enterococcal populations for potential virulence factors. *Research in Microbiology*, 159, 595-601.
- Jiménez, E.; Fernández, L. (...) & Rodríguez, J. M.** (2008c). Oral administration of *Lactobacillus* strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 4650-5.
- Jiménez, E.; Manzano, S. (...) & Premium Study Group** (2021). *Ligilactobacillus salivarius* PS2 supplementation during pregnancy and lactation prevents mastitis: a randomised controlled trial. *Microorganisms*, 9, 1933.
- Jost, T.; Lacroix, C. (...) & Chassard, C.** (2013). Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches. *British Journal of Nutrition*, 110, 1253-62.
- Kordy, K.; Gaufin, T. (...) & Aldrovandi, G. M.** (2020). Contribution to human breast milk microbiome and enteromammary transfer of *Bifidobacterium breve*. *PLoS One*, 15, e0219633.

- Kozak, K.; Charbonneau, D. (...) & Klaenhammer, T.** (2015). Characterization of bacterial isolates from the microbiota of mothers' breast milk and their infants. *Gut Microbes*, 6, 341.
- Lackey, K.A.; Williams, J.E. (...) & McGuire, M. K.** (2019). What's Normal? Microbiomes in human milk and infant feces are related to each other but vary geographically: The INSPIRE study. *Frontiers in Nutrition*, 6, 45.
- Langa, S.** (2006). *Interactions between lactic acid bacteria, intestinal epithelial cells and immune cells. Development of in vitro models*. PhD Thesis. Complutense University of Madrid: Madrid.
- Langa, S.; Maldonado-Barragán, A. (...) & Rodríguez, J. M.** (2012). Characterization of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a strain isolated from human milk: from genotype to phenotype. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94, 1279-87.
- Laurence, M.; Hatzis, C. & Brash, D. E.** (2014). Common contaminants in next-generation sequencing that hinder discovery of low-abundance microbes. *PLoS One*, 9, e97876.
- Loyeau, P. A.; Spotti, M. J. (...) & Carrara, C. R.** (2018). Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 using whey proteins and dextrans conjugates as wall materials. *Food Hydrocolloids*, 85, 129-135.
- Ma, Z. S.; Guan, Q. (...) & Forney, L. J.** (2015). Network analysis suggests a potentially 'evil' alliance of opportunistic pathogens inhibited by a cooperative network in human milk bacterial communities. *Scientific Reports*, 5, 8275.
- Ma, Z. S.; Li, L. (...) & Chen, H.** (2016). Integrated network-diversity analyses suggest suppressive effect of Hodgkin's lymphoma and slightly relieving effect of chemotherapy on human milk microbiome. *Scientific Reports*, 6, 28048.
- Makino, H.; Martin, R. (...) & Kushi, A.** (2015). Multilocus sequence typing of bifidobacterial strains from infant's faeces and human milk: are bifidobacteria being sustainably shared during breastfeeding? *Beneficial Microbes*, 6, 563-72.
- Martín, R.; Heilig, G. H. J. (...) & Rodríguez, J. M.** (2007a). Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk among healthy women. *Research in Microbiology*, 158, 31-7.
- Martín, R.; Heilig, G. H. J. (...) & Rodríguez, J. M.** (2007b). Diversity of the *Lactobacillus* group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 2638-44.
- Martín, R.; Jiménez, E. (...) & Rodríguez, J. M.** (2006). *Lactobacillus salivarius* CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 35-43.
- Martín, R.; Jiménez, E. (...) & Rodríguez, J. M.** (2009). Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-DGGE and qRTi-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 965-9.
- Martin, R.; Langa, S. (...) & Rodríguez, J. M.** (2003). Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *Journal of Pediatrics*, 143, 754-8.
- Martín, R.; Langa, S. (...) & Rodríguez, J. M.** (2004). The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 121-7.
- Martín, R.; Olivares, M. (...) & Rodríguez, J. M.** (2005). Probiotic potential of 3 lactobacilli strains isolated from breast milk. *Journal of Human Lactation*, 21, 8-17.

Martín, V.; Maldonado, A. (...) & Jiménez E. (2012). Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *Journal of Human Lactation*, 28, 36-44.

McGuire, M. K. & McGuire, M. A. (2017). Got bacteria? The astounding, yet not-so-surprising, microbiome of human milk. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 63-68.

Mediano, P.; Fernández, L. (...) & Marín, M. (2017). Microbial diversity in milk of women with mastitis: potential role of coagulase-negative staphylococci, viridans group streptococci, and corynebacteria. *Journal of Human Lactation*, 33, 309-18.

Mira, A. & Rodríguez, J. M. (2017). The origin of human milk bacteria. En McGuire, M. A., McGuire M. K. & Bode, L. (Eds.). *Prebiotics and Probiotics in Human Milk: Origins and Functions of Milk-Borne Oligosaccharides and Bacteria*. Londres: Academic Press, 349-64.

Murphy, K.; Curley, D. (...) & Stanton, C. (2017). The composition of human milk and infant fecal microbiota over the first three months of life: A pilot study. *Scientific Reports*, 7, 40597.

Oddi, S. L.; Binetti, A. (...) & Vinderola, G. (2020a). Occurrence of bacteria with technological and probiotic potential in Argentinian human breast-milk. *Beneficial Microbes*, 11 (7), 685-702.

Oddi, S. L.; Huber, M. P. (...) & Sivieri, K. (2020b). Breast-milk derived potential probiotics as strategy for the management of childhood obesity. *Food Research Microbiology*, 137, 109673.

Pace, R. M.; Williams, J. E. (...) & McGuire, M. K. (2021). Variation in human milk composition is related to differences in milk and infant fecal microbial communities. *Microorganisms*, 9, 1153.

Pannaraj, P. S.; Li, F. (...) & Aldrovandi, G. M. (2017). Association between breast milk bacterial communities and establishment and development of the infant gut microbiome. *JAMA Pediatrics*, 171, 647-654.

Pannaraj, P. S.; Ly, M. (...) & Pride D. T. (2018). Shared and distinct features of human milk and infant stool viromes. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1162.

Park, B.; Iwase, T. & Liu, G.Y. (2011). Intranasal application of *S. epidermidis* prevents colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in mice. *PLoS One*, 6, e25880.

Pastor-Villaescusa, B.; Blanco-Rojo, R.; Olivares, M. (2021). Evaluation of the effect of *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716 on gastrointestinal infections in infants: A systematic review and meta-analysis. *Microorganisms*, 9, 1412.

Patel, S.H.; Vaidya, Y.H. (...) & Kunjadiya, A.P. (2017). Culture independent assessment of human milk microbial community in lactational mastitis. *Scientific Reports*, 7, 7804.

Perez, P. F.; Doré, J. (...) & Schiffrin, E. (2007). Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? *Pediatrics*, 119, e724-32.

Rescigno, M.; Urbano, M. (...) & Ricciardi-Castagnoli, P. (2001). Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature Immunology*, 2, 361-7.

Rodríguez, J. M. & Fernández L. (2017). Infectious mastitis during lactation: a mammary dysbiosis model. En McGuire, M. A., McGuire M. K. & Bode, L. (Eds.). *Prebiotics and Probiotics in Human Milk: Origins and Functions of Milk-Borne Oligosaccharides and Bacteria*. Londres: Academic Press, 401-28.

Rodríguez, J.M. (2014). The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation? *Advances in Nutrition*, 5, 779-84.

- Rodríguez-Cruz, M.; Alba, C. (...) & Rodríguez, J. M.** (2020). Effect of sample collection (manual expression vs. pumping) and skimming on the microbial profile of human milk using culture techniques and metataxonomic analysis. *Microorganisms*, 8, 1278.
- Rodríguez-Sojo, M.J.; Ruiz-Malagón, A.J.; (...) & Rodríguez-Nogales, A.** (2021). *Limosilactobacillus fermentum* CECT5716: mechanisms and therapeutic insights. *Nutrients*, 13, 1016.
- Ruiz, L.; Alba, C. (...) & Rodríguez, J. M.** (2021). Comparison of two approaches for the metataxonomic analysis of the human milk microbiome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 622550.
- Ruiz, L.; Bacigalupe, R. (...) & Rodríguez, J. M.** (2019). Microbiota of human precolostrum and its potential role as a source of bacteria to the infant mouth. *Scientific Reports*, 9, 8435.
- Salter, S. J.; Cox, M. J. (...) & Walker, A. W.** (2014). Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. *BMC Biology*, 12, 87.
- Simpson, M. R.; Avershina, E. (...) & Øjen, T.** (2018). Breastfeeding-associated microbiota in human milk following supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus acidophilus* La-5, and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. *Journal of Dairy Science*, 101, 889-99.
- Solís, G.; de Los Reyes-Gavilan, C. G. (...) & Gueimonde, M.** (2010). Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. *Anaerobe*, 16, 307-10.
- Soto, A.; Martín, V. (...) & Fernández, L.** (2014). Lactobacilli and bifidobacteria in human breast milk: influence of antibiotherapy and other host and clinical factors. *Journal of Pediatric and Gastroenterology Nutrition*, 59, 78-88.
- Treven, P.; Mrak, V. (...) & Rogelj, I.** (2015). Administration of probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus gasseri* K7 during pregnancy and lactation changes mouse mesenteric lymph nodes and mammary gland microbiota. *Journal of Dairy Science*, 98, 2114-28.
- Vazquez-Fresno, R.; Llorach, R. (...) & Andres-Lacueva, C.** (2014). Urinary metabolomic fingerprinting after consumption of a probiotic strain in women with mastitis. *Pharmacology Research*, 87, 160-165.
- Vinderola, G.; Zacarías, M.F. (...) & Heller, K.** (2012). Preservation of functionality of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1 after incorporation of freeze-dried cells into different food matrices. *Food Microbiology*, 30 (1), 274-280.
- Ward, T. L.; Hosid, S. (...) & Altosaar, I.** (2013). Human milk metagenome: a functional capacity analysis. *BMC Microbiology*, 13, 116.
- Zacarías, M. F.; Binetti, A. (...) & Vinderola, G.** (2011). Preliminary technological and potential probiotic characterisation of bifidobacteria isolated from breast milk for use in dairy products. *International Dairy Journal*, 21 (8), 548-555.
- Zacarías, M. F.; Binetti, A. (...) & Vinderola, G.** (2019). Safety, functional properties and technological performance in whey-based media of probiotic candidates from human breast milk. *International Microbiology*, 22 (2), 265-277.
- Zacarías, M. F.; Reinheimer, J. A. (...) & Ambros, S.** (2020). Effects of conventional and nonconventional drying on the stability of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* INL1. *International Journal of Dairy Technology*, 73 (3), 625-633.

Zacarias, M. F.; Reinheimer, J. (...) & Vinderola, G. (2014). Mortality and translocation assay to study the protective capacity of *Bifidobacterium lactis* INL1 against *Salmonella Typhimurium* infection in mice. *Beneficial Microbes*, 5 (4), 427-436.

Zacarias, M. F.; Souza, T. C. (...) & Vinderola, G. (2017). Influence of technological treatments on the functionality of *Bifidobacterium lactis* INL1, a breast milk-derived probiotic. *Journal of Food Science*, 82 (10), 2462-2470.

Ziegler, J. B.; Cooper, D. A. (...) & Gold, J. (1985). Postnatal transmission of AIDS-associated retrovirus from mother to infant. *Lancet*, 1 (8434), 896-8.

Capítulo 8

La microbiota vaginal

Patricia Burns y Emilia Hick

La vagina es un órgano muy versátil, con un ecosistema microbiano dinámico, que afecta profundamente la salud de la mujer y del recién nacido. Las bacterias que colonizan la microbiota vaginal juegan un papel importante en la salud y la homeostasis y, por lo tanto, influyen en las propiedades bioquímicas e inflamatorias del ambiente vaginal. La alteración de la proporción de bacterias (disbiosis) predispone a infecciones como vaginosis bacteriana, candidiasis o afecciones ginecológicas graves incluyendo parto prematuro, enfermedad pélvica inflamatoria y enfermedades de transmisión sexual. En los últimos años, se logró un mayor conocimiento acerca de la composición de una microbiota vaginal «normal y anormal». Con las técnicas tradicionales de cultivo se han podido aislar y describir muchas especies bacterianas y, paralelamente, con el desarrollo de métodos moleculares (ómicos) se demostró que la vagina es un ecosistema complejo y dinámico que contiene una amplia gama de bacterias no cultivables o difíciles de identificar (Ravel y col., 2011; Diop y col., 2019; Verstraelen y col., 2022).

Una mujer en edad fértil produce aproximadamente 1-4 ml de flujo vaginal que contiene de 10^6 a 10^8 células bacterianas por ml. Si bien las bacterias son los microorganismos predominantes del microbioma vaginal, las comunidades fúngicas (micobioma) y las poblaciones víricas (viroma) también son una parte importante de éste (Diop y col., 2019).

A lo largo del presente capítulo se desarrollarán tópicos relacionados con la composición y las características de la microbiota vaginal en las distintas etapas de la vida de una mujer, su rol en la protección de la salud femenina y las posibles causas de su alteración. Además, veremos la potencialidad que ofrece este nicho microbiano como fuente de lactobacilos probióticos y de sustancias postbióticas, para ser aplicadas en la prevención y el tratamiento de enfermedades urogenitales frecuentes. Adicionalmente, realizaremos un repaso sobre los antecedentes de investigación relativos a la microbiota vaginal y los nuevos enfoques en los que se encuentra la ciencia en esta temática. Por último, indagaremos acerca del estado de avance del desarrollo tecnológico y comercial relacionado con los «bióticos» para la salud femenina.

Composición de la microbiota vaginal

La composición de la microbiota vaginal varía a lo largo de la vida de la mujer. Algunos de los factores de los que depende son: la edad, la etnia, el ciclo menstrual y las fluctuaciones hormonales asociadas, los comportamientos sexuales, y también el uso de fármacos o antibióticos que la pueden afectar, causando un desequilibrio.

En este apartado profundizaremos en los cambios fisiológicos y fisicoquímicos que ocurren en el ambiente vaginal a través de las diferentes etapas de la vida de una mujer, y en cómo estas transformaciones modulan la composición y diversidad de la microbiota local.

Variaciones fisiológicas y del pH a lo largo de la vida

En la tabla 1 se observan algunos de los cambios en la microbiota, el nivel hormonal y el pH del ambiente vaginal y la microbiota local según la edad o estado fisiológico de la mujer (Amabebe y Anumba, 2020).

Tabla 1. Cambios en la composición de la microbiota vaginal según el estado fisiológico de la mujer

Infancia y niñez	Pubertad tardía y edad reproductividad	Ciclo menstrual	Embarazo (tercer trimestre)	Postmenopausia
- Estrógenos maternos - Glucógeno pH neutro o alcalino - <i>Lactobacillus</i> + <i>Bacteriodes</i> + <i>Fusobacterium</i> + <i>Veillonella</i> + <i>Bifidobacterium</i> + <i>Actinomyces</i> + <i>Propionibacterium</i> + <i>Peptococcus</i> + <i>Peptostreptococcus</i> + <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Staphylococcus epidermidis</i> + <i>Enterococcus faecalis</i> + <i>Escherichia coli</i>	+ Estrógenos * Glucógeno - pH + <i>Lactobacillus</i> - Bacterias anaerobias	<u>Menstruación</u> + Estrógenos + Glucógeno + pH - <i>Lactobacillus</i> + Diversidad + <i>Provatella</i> + <i>Anaerococcus dialister</i> + <i>Peptostreptococcus</i> + <i>Staphylococcus</i> <u>Fase proliferativa</u> + Estrógenos + Glucógeno - pH + <i>Lactobacillus</i> - Diversidad + <i>Ureaplasma</i> + <i>Streptococcus</i> + <i>Finegoldia</i>	+ Estrógenos + Glucógeno + Progesterona +++ <i>Lactobacillus</i> - pH - Diversidad + <i>Gardnerella</i>	- Estrógenos - Glucógeno - <i>Lactobacillus</i> + pH + Diversidad + <i>Gardnerella</i> + <i>Atopobium</i> + <i>Megasphaera</i> + <i>Anaerococcus</i> + <i>Provatella</i> + <i>Streptococcus</i> + <i>Peptoniphilus</i>

+ : aumento; - : descenso; * : cambios cíclicos en el contenido de glucógeno intracelular. Adaptado de Amabebe y Aumba, 2020.

En niñas premenárquicas, la microbiota está compuesta por cocos y bacilos anaerobios y aerobios, en su mayoría similares a los de la piel y el área periuretral, y el pH vaginal es alcalino o neutro. Luego, cuando los niveles de estrógenos comienzan a aumentar, se produce un cambio gradual de esta microbiota; el epitelio vaginal se engrosa y aumenta la cantidad de glucógeno que, mediante degradación endógena, dará un pH cercano a 5,3. La acidez y la alta concentración de glucógeno en el epitelio vaginal estratificado favorece que los lactobacilos rectales, en su mayoría provenientes de la microbiota intestinal, colonicen la vagina y alcancen cantidades de 10^7 - 10^8 por ml de fluido vaginal. En mujeres en edad reproductiva, el pH vaginal puede oscilar entre 3,8 y 4,4, mientras que, en mujeres postmenopáusicas, éste se incrementa a 6,5-7,0 si la mujer no recibe terapia de reemplazo hormonal, o puede reducirse a 4,5-5,0 en caso de recibir terapia (Danielsson y col., 2011). Estas variaciones en el pH vaginal y su consecuente modulación sobre la composición de la microbiota local, pueden influir en la salud vaginal y en la susceptibilidad a ciertas infecciones y condiciones patológicas. En la figura 1 se observan estos cambios en niñas, mujeres adultas en edad reproductiva y postmenopáusicas (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, 2022).

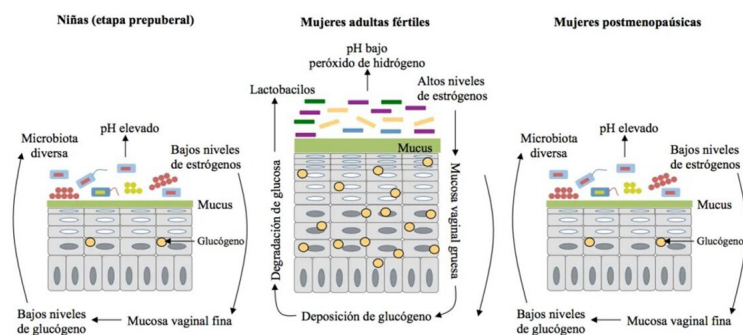


Figura 1. Cambios en la mucosa vaginal durante las etapas de la vida de una mujer

Predominio de lactobacilos y su rol en la salud vaginal

Si bien la microbiota vaginal está compuesta por una gran comunidad de microorganismos comensales y potenciales patógenos, en mujeres sanas predominan bacterias del género *Lactobacillus*, que constituyen una microbiota vaginal saludable (Diop y col., 2019; Amabebe y Anumba, 2020). En especial, se han identificado principalmente especies de lactobacilos homofermentantes como *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus iners*, que producen ácido láctico como producto final de la fermentación de la glucosa, acidificando el ambiente vaginal (Danielsson y col., 2011; Petrova y col., 2015; Zheng y col., 2015; Mendling, 2016; Pendharkar y col., 2023). Estudios realizados en mujeres sanas, no embarazadas y en edad reproductiva, han establecido que existen cinco tipos de microbiota vaginal, denominados «tipos de estado comunitario» (*community state types*), cuatro de los cuales suelen estar dominados por una de las 4 especies de *Lactobacillus* arriba mencionadas (Ravel y col., 2011); esta clasificación puede observarse en la figura 2. Aunque las especies mencionadas anteriormente son las que se aíslan con mayor frecuencia, también se han encontrado otras especies como *Lactobacillus acidophilus*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Limosilactobacillus brevis*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lactobacillus vaginalis* y *Lacticaseibacillus rhamnosus* (Borges y col., 2014).

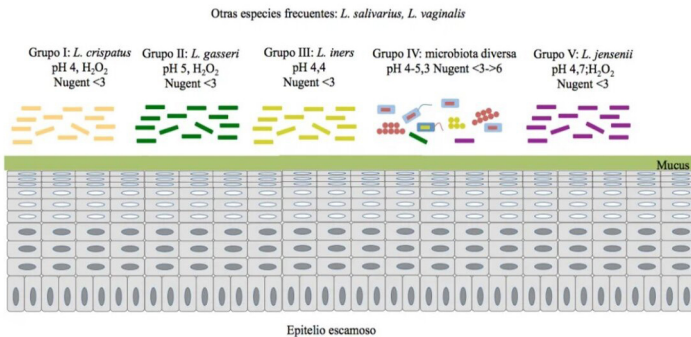


Figura 2. Tipos de estado comunitario de la microbiota vaginal en mujeres en edad reproductiva

Cuando la cantidad de lactobacilos en el ambiente vaginal disminuye, especies anaerobias comensales como *Gardnerella*, *Prevotella*, *Megasphaera*, *Atopobium*, *Streptococcus*, *Mobiluncus*, *Mycoplasma* y *Peptoniphilus* pueden reproducirse.

cirse y convertirse en potenciales patógenos. Es decir que existe una relación inversa entre la cantidad de lactobacilos y de otros microorganismos, siendo la prevalencia de los primeros un mecanismo de control poblacional y, por lo tanto, de mantenimiento de la homeostasis del ambiente vaginal (Amabebe y Anumba, 2020; Zheng y col., 2021). Entre las infecciones más comúnmente desarrolladas se encuentran la candidiasis vulvovaginal sintomática (cvv) producida por levaduras del género *Candida* (principalmente *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis*) (Rodríguez-Cedeira y col., 2019) y la vaginosis bacteriana (vb) (Amabebe y Anumba, 2022). En la vb se produce un aumento del pH vaginal y crecimiento excesivo de bacterias patógenas Gram negativas o positivas, anaerobias facultativas u obligadas, como *Gardnerella vaginalis* (cocobacilo facultativo Gram variable, no móvil, catalasa negativo), *Atopobium*, *Bacteroides*, *Mobiluncus*, *Prevotella*, *Mycoplasma*, *Peptostreptococcus* y *Anaerococcus*. No obstante, la composición bacteriana vaginal de la vb puede variar de una mujer a otra (Amabebe y Anumba, 2022).

El predominio de lactobacilos y el bajo pH del ecosistema vaginal de la mujer son características únicas en comparación con otros mamíferos, en los cuales los lactobacilos apenas representan más del 1 % de la microbiota vaginal, y presentan una mezcla de especies bacterianas y un pH neutro (Verstraelen y col., 2022).

El rol protector de los lactobacilos en la vagina se ejerce mediante varios mecanismos que contrarrestan el crecimiento excesivo de microorganismos no deseados como *Candida albicans* (Jang y col., 2019), *Escherichia coli* (Gamba y col., 2020) y *Gardnerella vaginalis* (Zhang y col., 2022). Estos mecanismos son la competencia por nutrientes y la adherencia a los tejidos, la reducción del pH vaginal mediante la producción de ácidos orgánicos (principalmente ácido láctico), la modulación del sistema inmunológico local, la promoción de la integridad del epitelio y la producción de sustancias antimicrobianas, como las bacteriocinas, u otros metabolitos (Petrova y col., 2015; Koirala y col., 2020; Zheng y col., 2021). De esta manera, la microbiota vaginal constituye una barrera de defensa permitiendo el mantenimiento de un ambiente vaginal saludable y promoviendo la capacidad reproductiva normal.

En la figura 3 se observan diversos mecanismos, ya sean mediados por los lactobacilos como por otras células (por ejemplo, del sistema inmune), que contribuyen a mantener un estado de eubiosis en un ecosistema vaginal saludable. Cuando ocurre una disrupción de las uniones estrechas, los neutrófilos del torrente sanguíneo (debajo de la membrana basal) pueden ser atraídos frente al ingreso de microorganismos patógenos; el epitelio escamoso vaginal está conectado a través de uniones estrechas que inhiben la entrada de pató-

genos en las capas epiteliales basales y contiene células presentadoras de antígenos y células T, que constituyen un mecanismo de defensa del sistema inmune. En el moco, hay un pH ácido que sirve como mecanismo fisiológico de defensa para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas al permeabilizar las membranas celulares e inducir estrés osmótico al provocar la desestabilización de la membrana externa en bacterias Gram negativas, y potencialmente incrementar el efecto de otras propiedades inmunomoduladoras y antimicrobianas. Los lactobacilos también pueden proteger al ambiente vaginal a través de la producción de diferentes compuestos como son los péptidos antimicrobianos (PAMs) o bacteriocinas, los biosurfactantes y el peróxido de hidrógeno (Pendharkar y col., 2023).

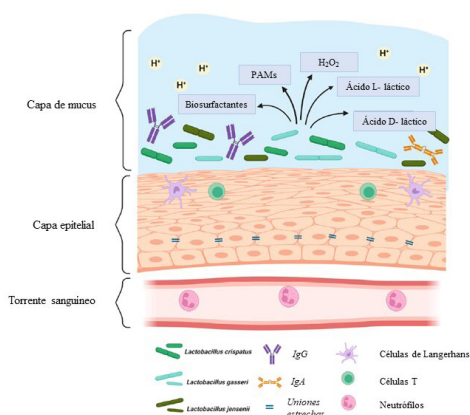


Figura 3. Mecanismos de defensa del ambiente vaginal

La microbiota vaginal como hábitat de microorganismos probióticos

Actualmente, los microorganismos probióticos más utilizados pertenecen a los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*. Algunas de las fuentes más convencionales de las cuales son aislados son las heces de recién nacidos, la leche y los derivados lácteos (Granato y col., 2010), y la leche materna humana (Zacarías y col., 2011; Oddi y col., 2019). No obstante, diversos estudios pro-

ponen el aislamiento y caracterización de cepas probióticas a partir de fuentes no convencionales como fluidos corporales animales (Sarquis y col., 2019) o humanos (Bazireh y col., 2020).

A continuación, ahondaremos en definiciones importantes dentro del área de los «bióticos» y analizaremos por qué la microbiota vaginal resulta un nicho prometedor para el aislamiento, el estudio y la aplicación de microorganismos probióticos.

Lactobacilos vaginales: potenciales probióticos y fuente de posbióticos

Los probióticos se definen como «microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, otorgan beneficios a la salud del huésped». Además, estos microorganismos deben cumplir, entre otros, los siguientes criterios: ser cepas definidas, tener un recuento viable apropiado al final de la vida útil del alimento o suplemento y contar con evidencia científica adecuada (estudios en humanos) de los beneficios para la salud (Hill y col., 2014).

Por otro lado, la definición de la Asociación Científica Internacional para Probióticos y Prebióticos (ISAPP; *International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics*) del término postbiótico hace referencia a «una preparación de microorganismos inanimados y/o sus componentes que confiere un beneficio para la salud del huésped» (Salminen y col., 2021). El término «microorganismos inanimados» hace referencia a células que no se encuentran vivas al momento de su administración (a diferencia de los probióticos), pudiendo estar inactivadas o lisadas mediante distintos métodos: tratamientos térmicos, agentes químicos, irradiación, altas presiones y ultrasonido (Guimarães y col., 2019; Nataraj y col., 2020; Rad y col., 2020).

Como se mencionó anteriormente, los metabolitos producidos por los lactobacilos vaginales confieren protección al ambiente vaginal mediante diversos mecanismos y, por lo tanto, presentan una interesante potencialidad para su estudio y utilización como compuestos en preparaciones postbióticas. Adicionalmente, varios estudios confirman la estimulación positiva del sistema inmunológico producida por la administración de bacterias probióticas inactivadas o de sus componentes celulares (Kóscik y col., 2018; Rad y col., 2020; Żółkiewicz y col., 2020).

Lactobacilos como estrategia preventiva y terapéutica

Si bien el tratamiento de infecciones urogenitales con antibióticos o antimicrobicos tiene como objetivo detener la proliferación de microorganismos dañinos, puede afectar el equilibrio normal del ecosistema vaginal, y también generar resistencia microbiana a los agentes administrados. Autores como Borges y col. (2014) proponen el uso de lactobacilos vaginales (administrados tanto por vía oral como vaginal) como una alternativa útil o complementaria a la terapia con antimicrobianos. No solo se sugiere su utilización en formulaciones farmacéuticas sino también adicionados a alimentos (Patrignani y col., 2019).

Los probióticos se presentan como un método alternativo o complementario que puede prevenir o tratar una amplia variedad de afecciones clínicas. Los lactobacilos probióticos se consideran un medio natural y seguro para equilibrar la composición de la microbiota vulvovaginal, colaborando durante el tratamiento antimicrobiano y ayudando en la recuperación de la disbiosis. La investigación está acumulando pruebas de su papel en el apoyo a la salud de la mujer durante toda la vida. En obstetricia y ginecología, las especies de lactobacilos se utilizan principalmente para restablecer la microbiota vaginal fisiológica con el fin de tratar la vaginosis bacteriana y la candidiasis vulvovaginal y prevenir los partos prematuros (Buggio y col., 2019).

Los probióticos destinados a la salud vaginal están disponibles como suplementos dietéticos, geles y óvulos vaginales. Mediante geles u óvulos, los probióticos se aplican directamente en el lugar de acción, mientras que aquellos probióticos administrados por vía oral deben pasar primero por el tracto gastrointestinal antes de migrar al nicho vaginal (Lehtoranta y col., 2022). En este sentido, los probióticos orales pueden proporcionar efectos beneficiosos adicionales para la salud vaginal a través del llamado «eje intestino-vagina», equilibrando la microbiota intestinal y previniendo el ascenso de patógenos del recto al tracto vaginal, así como estimulando el sistema inmunológico intestinal y sistémico. La investigación muestra que ambas vías de administración son seguras y eficaces (Li y col., 2019; Wang y col., 2019).

Hoy en día es cada vez mayor el interés por comprender cómo los probióticos favorecen la salud de la mujer a lo largo de la vida y cómo tener en cuenta estas condiciones específicas (especialmente las fluctuaciones hormonales) a la hora de diseñar productos probióticos para mujeres.

En el futuro, los consorcios de lactobacilos vaginales autóctonos y/o los trasplantes de microbiota de mujeres sanas pueden ser soluciones eficaces para quienes sufren disbiosis vaginal e infecciones asociadas (Lehtoranta y col.,

2022). En relación con este último punto, el estado del arte es aún joven pero prometedor. Lev-Sagie y col. (2019) llevaron a cabo un ensayo clínico donde 5 pacientes con vaginosis bacteriana recurrente recibieron trasplante de microbiota vaginal de donantes sanas, posterior a la administración local de antibióticos; 4 de las 5 mujeres tratadas mostraron remisión a largo plazo de los criterios diagnósticos y la sintomatología asociada. Más recientemente, Wrønding y col. (2023) evaluaron la eficacia del trasplante de microbiota vaginal sobre la disbiosis y la concepción. Una paciente con antecedentes de infecciones vaginales recurrentes y tres pérdidas de embarazo recibió trasplante de microbiota de una donante sana, como tratamiento sustitutivo a los antibióticos. Como resultado, se observó una normalización de la microbiota vaginal, con predominancia de lactobacilos, y luego de 5 meses, la mujer logró un embarazo exitoso a término. En ambos estudios, no se observaron efectos adversos del trasplante, ya fuera como estrategia complementaria o sustitutiva al tratamiento antibiótico convencional.

Estos primeros ensayos clínicos presentan un panorama muy favorable para continuar investigando las potencialidades del trasplante vaginal, teniendo como antecedente alentador los ya demostrados beneficios del trasplante de microbiota intestinal (Ma y col., 2019).

Investigaciones vigentes relativas a la microbiota vaginal y sus aplicaciones

En los últimos años, paralelamente al desarrollo de las técnicas «ómicas» y al incremento del conocimiento de la microbiota intestinal, se ha observado un auge en las investigaciones relacionadas con los distintos nichos microbiológicos que habitan nuestro organismo, entre ellos: la microbiota vaginal. Tanto a nivel global como local, son incontables los trabajos que profundizan en la composición y el comportamiento de los microorganismos que habitan el tracto urogenital, particularmente de los lactobacilos vaginales. La bibliografía científica ha acumulado información que apoya los beneficios que el aislamiento, estudio y aprovechamiento de estas bacterias podrían ofrecer en la profilaxis de la salud femenina.

A lo largo del presente capítulo se han citado numerosos trabajos que dilucidan la composición de la microbiota vaginal y el comportamiento de los lactobacilos. Nuestro grupo de investigación del INLAIN actualmente se encuentra trabajando en este tema y ha podido aislar e identificar 50 cepas de lactobacilos a partir de exudados vaginales de mujeres sanas. Estas cepas per-

tenecen a las especies: *Lactobacillus gasseri* (18 cepas), *L. crispatus* (15), *L. jensenii* (14), *L. fermentum* (2) y *L. mucosae* (1). Adicionalmente, se ha evaluado su performance funcional mediante ensayos de producción de compuestos antimicrobianos e inhibición de patógenos urogenitales (*Escherichia coli*, *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*) y su respuesta frente a factores tecnológicos de interés (pH y temperatura). Al momento, hemos obtenido resultados favorables que posicionan a estas cepas como prometedoras para su aplicación futura en alimentos o suplementos.

En relación con este último punto, diferentes autores han estudiado el desempeño de lactobacilos aislados de muestras vaginales, adicionados a distintas matrices alimentarias o farmacéuticas.

Como ejemplo de aplicaciones en alimentos, Laue y col. (2018) evaluaron el efecto del consumo (durante 4 semanas) de un yogur con cepas de *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii* y *L. rhamnosus* sobre los síntomas y la recuperación de la vaginosis bacteriana. Los resultados mostraron una mejora significativa de los criterios diagnósticos y la sintomatología de las mujeres que consumieron el yogur en estudio (paralelamente al tratamiento antibiótico), respecto a un grupo control. Patrignani y col. (2020) desarrollaron un queso tipo «Squacquerone» adicionado con una cepa vaginal de *L. crispatus* y estudiaron su tolerancia al proceso digestivo a través de técnicas de vanguardia (*Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem*). La cepa utilizada cuenta con estudios previos de potencialidad probiótica (Parolin y col., 2015; Siroli y col., 2017) y mostró viabilidad satisfactoria al ser adicionada en esta matriz láctea. D'Alessandro y col. (2021) microencapsularon 3 cepas pertenecientes a las especies *L. crispatus* y *L. gasseri* utilizando una bebida de soja y evaluaron su resistencia al proceso tecnológico. Los resultados obtenidos presentan a esta matriz alimentaria como una opción a los productos lácteos (apta para personas veganas o con intolerancias) que resulta promisoria para la diversificación de la industria de alimentos probióticos. Recientemente, el mismo grupo de investigadores desarrolló y caracterizó bebidas de soja fermentadas con lactobacilos vaginales (*Lactobacillus crispatus* BC4 y *Lactobacillus gasseri* BC9) encapsulados y no encapsulados. Los lactobacilos fueron capaces de crecer en la bebida y mantuvieron su viabilidad en 7 log UFC/ml en el producto refrigerado durante 28 días (independientemente de si las cepas estaban o no encapsuladas). Por un lado, las bacterias encapsuladas resultaron más activas, como se demostró por la producción de ácido láctico, la reducción del pH y su tolerancia a esta matriz alimentaria. Además, sobrevivieron mejor a las condiciones *in vitro* del tracto gastrointestinal y presentaron mejor actividad inhibitoria contra patógenos intestinales. Sin embargo, su presencia durante

el almacenamiento redujo la aceptabilidad sensorial de los productos. En conclusión, *L. crispatus* BC4 y *L. gasseri* BC9 resultaron cepas prometedoras para ser utilizadas como co-iniciadores para producir bebidas de soja fermentadas, que podrían utilizarse para el tratamiento de la disbiosis vaginal (D'Alessandro y col. 2023).

Respecto a las formulaciones de aplicación vaginal, Vitali y col. (2016) desarrollaron un gel simbiótico, conteniendo una cepa probiótica de *L. crispatus* y el sustrato prebiótico fructooligosacárido (FOS). Sobre esta formulación se evaluó la supervivencia de la cepa, la capacidad de adhesión a la mucosa vaginal y la actividad antimicrobiana contra patógenos. Los resultados sugieren que este gel simbiótico podría ser aplicable para la prevención y el tratamiento de infecciones vaginales. Más recientemente, Shen y col. (2023) llevaron a cabo un ensayo clínico, donde evaluaron el desempeño de un gel postbiótico sobre el alivio de los síntomas en 50 pacientes con vaginosis bacteriana. La formulación en estudio contenía 2 cepas probióticas pertenecientes a las especies *L. paracasei* y *L. rhamnosus*, inactivadas por calor. Los resultados de la aplicación de este gel durante una semana mostraron el incremento relativo de la abundancia de lactobacilos en la microbiota vaginal y la consecuente mejora en la sintomatología de las pacientes. Los presentados son solo algunos ejemplos de las líneas de investigación relativas al aislamiento de cepas a partir de la microbiota vaginal y su aprovechamiento para el abordaje de la salud femenina mediante la incorporación en distintas formulaciones «bióticas».

Productos comerciales con lactobacilos vaginales

A nivel mundial, existen variedad de opciones comerciales en forma de suplementos orales o de aplicaciones vaginales con lactobacilos probióticos para la prevención de la salud femenina y el tratamiento de afecciones urogenitales. Algunos ejemplos de estos productos se presentan en la tabla 2.

En Argentina, las opciones aún son escasas, pudiendo acceder sólo a cápsulas orales con lactobacilos, destinadas a la salud femenina (Urosedac Probiotic y Urosedac *Candida* con *Lactobacillus sporogenes*). Es importante tener en cuenta que la definición de probiótico exige la declaración de la/s cepa/s utilizadas, por lo que algunos de estos productos no cumplirían con los requerimientos.

En cuanto a óvulos vaginales, solo se encuentra disponible un producto que presenta ácido láctico (Lactibón) y se ofrece como regulador del pH vaginal; sin embargo, luego de la postulación de la definición consenso de probióticos (Salminen y col., 2021), un compuesto químico aislado no se incluye dentro de este grupo de «bióticos».

Tabla 2. Productos comerciales con lactobacilos. Resultados de búsqueda en la web (diciembre de 2023)

Nombre y marca del producto	Forma de administración	País de producción	Especies / cepas	Concentración (UFC/cápsula)
Protector íntimo. Lactoflora®	Cápsulas orales	España	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> Lcr 35®	1×10^9
Candilactom®, Laborest®	Cápsulas orales	Italia	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> TOM 22.8	1×10^{10}
Probio3 Vaginal. Laboratorios Tegor*	Comprimidos orales	España	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus gasseri</i>	1×10^9
ISDIN® Woman	Óvulos vaginales	España	<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> LRH020	¿?
GineCanesflor®	Cápsulas vaginales	Italia	<i>Lactocaseibacillus plantarum</i> P17630	1×10^8

* Este producto no puede ser considerado probiótico, debido a que no declara las cepas incluidas en su composición.

Conclusiones

Una microbiota vaginal saludable constituye un nicho muy interesante para el aislamiento y estudio de lactobacilos potencialmente probióticos. Éstos, o sus preparaciones postbióticas, son prometedores debido a su aplicación industrial ya sea como formulaciones farmacéuticas, suplementos dietarios e incluso alimentos. Los antecedentes bibliográficos mencionados en este capítulo configuran un panorama muy alentador para profundizar en el conocimiento de este área, que pueda ser transferido al desarrollo tecnológico de estrategias más naturales y sustentables para la salud femenina.

Referencias bibliográficas

- Amabebe, E. & Anumba, D.** (2020). Female gut and genital tract microbiota-induced crosstalk and differential effects of short-chain fatty acids on immune sequelae. *Frontiers in Immunology*, 11, 2184.
- Amabebe, E. & Anumba, D.** (2022). Mechanistic insights into immune suppression and evasion in bacterial vaginosis. *Current Microbiology*, 79, 84.
- Bazireh, H., Shariati, P. (...) & Boroumand, M. A.** (2020). Isolation of novel probiotic *Lactobacillus* and *Enterococcus* strains from human salivary and fecal sources. *Frontiers in Microbiology*, 11, 597946.
- Beltrán, D.** (2015). Centro de Diagnóstico Médico, Ayuntamiento de Madrid. Microbiota vaginal: composición por edades, factores de mantenimiento y factores alteradores. <http://t.ly/5uUv>
- Borges, S., Silva, J. & Teixeira, P.** (2014) The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 289 (3), 479-89.
- Buggio, L., Somigliana, E. (...) & Vercellini, P.** (2019). Probiotics and vaginal microecology: fact or fancy? *BMC Womens Health*, 19 (1), 25.
- D'Alessandro, M., Gottardi, D. (...) & Patrignani, F.** (2023). Development and characterization of fermented soy beverages containing encapsulated or non-encapsulated vaginal probiotics. *LWT Food Science and Technology*, 180, 114713.
- D'Alessandro, M., Pisanu, F. & Patrignani, F.** (2021). Unravelling the functional and technological potential of soy milk based microencapsulated *Lactobacillus crispatus* and *Lactobacillus gasseri*. *Journal of Functional Foods*, 87, 104745.
- Danielsson, D., Teigen, P. K. & Moi, H.** (2011). The genital econiche: focus on microbiota and bacterial vaginosis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1230, 48-58.
- Diop, K., Dufourb, J.C., (...) & Fenollar, F.** (2019). Exhaustive repertoire of human vaginal microbiota. *Human Microbiome Journal*, 11, 100051.
- Granato, D., Branco, G. (...) & Faria J.** (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9 (3), 292-302.
- Guimarães, J., Balthazar, C. (...) & Cruz, A.** (2019) High-intensity ultrasound: A novel technology for the development of probiotic and prebiotic dairy products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57, 12-21.
- Hill, C., Guarner, F. (...) & Sanders, M. E.** (2014). The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11(8), 506-14.
- Jang, S. J., Lee, K. (...) & Ko, G.** (2019). Vaginal lactobacilli inhibit growth and hyphae formation of *Candida albicans*. *Scientific Reports*, 9, 8121.
- Koirala, R., Gargari, G. (...) & Guglielmetti, S.** (2020). Effect of oral consumption of capsules containing *Lactobacillus paracasei* LPC-S01 on the vaginal microbiota of healthy adult women: a randomized, placebo-controlled, double-blind crossover study. *FEMS Microbiology Ecology*, 96 (6), fiae084.
- Kóscik, R., Reid, G. (...) & Bocking, A.** (2018). Effect of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 supernatant on cytokine and chemokine output from human amnion cells treated with lipoteichoic acid and lipopolysaccharide. *Reproductive Sciences*, 25 (2), 239-245.

- Laue C, Papazova E. (...) & Schrezenmeir J.** (2018) Effect of a yoghurt drink containing *Lactobacillus* strains on bacterial vaginosis in women - a double-blind, randomised, controlled clinical pilot trial. *Beneficial Microbes*, 9 (1), 35-50.
- Lehtoranta, L., Ala-Jaakkola, R. (...) & Maukonen, J.** (2022). Healthy vaginal microbiota and influence of probiotics across the female life span. *Frontiers in Microbiology*, 13, 819958.
- Lev-Sagie, A., Goldman-Wohl, D. (...) & Elinav, E.** (2019). Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nature Medicine*, 25(10), 1500-1504.
- Li C., Wang, T. (...) & Fang, Y.** (2019). Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *European Journal of Pharmacology*, 864, 172660.
- Ma, D. , Chen, Y. & Chen, T.** (2019). Vaginal microbiota transplantation for the treatment of bacterial vaginosis: a conceptual analysis. *FEMS Microbiology Letter*, 366(4), fnz025.
- Mendling, W.** (2016). Vaginal microbiota. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 902, 83-93.
- Nataraj, B., Ali, S. (...) & Yadav, Hariom** (2020). Postbiotics-parabiotics: the new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial Cell Factories*, 19 (1), 168.
- Oddi, S., Binetti, A. (...) & Vinderola, G.** (2020). Occurrence of bacteria with technological and probiotic potential in Argentinian human breast-milk. *Beneficial Microbes*, 11(7), 685-702.
- Parolin, C., Marangoni, A. (...) & Vitali, B.** (2015). Isolation of vaginal lactobacilli and characterization of anti-*Candida* activity. *PLoS ONE*, 10 (6), e0131220.
- Patrignani, F., Parolin, C. (...) & Lanciotti, R.** (2020). Evaluation of the fate of *Lactobacillus crispatus* BC4, carried in Squacquerone cheese, throughout the simulator of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME). *Food Research International*, 137, 109580.
- Patrignani, F., Siroli, L. (...) & Lanciotti, R.** (2019). Use of *Lactobacillus crispatus* to produce a probiotic cheese as potential gender food for preventing gynaecological infections. *PLoS ONE*, 14 (1), e0208906.
- Petrova M., Lievens, E. (...) & Lebeer, S.** (2015). *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health. *Frontiers in Physiology*, 6, 81.
- Pendharkar, S., Skafte-Holm, A. (...) & Haahr, T.** (2023). Lactobacilli and their probiotic effects in the vagina of reproductive age women. *Microorganisms*, 11(3), 636.
- Rad, A. H., Aghebati-Maleki, L. (...) & Abbasi, A.** (2020). Molecular mechanisms of postbiotics in colorectal cancer prevention and treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(11), 1787-1803.
- Ravel, J., Gajer, P. (...) & Forney, L.** (2011). Vaginal microbiome of reproductive-age women. *The Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 108(1), 4680-4687.
- Rodríguez-Cerdeira, C., Gregorio, M. C. (...) & Hernandez-Castro, R.** (2019). Biofilms and vulvovaginal candidiasis. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 174, 110–25.
- Salminen, S., Collado, M. C. (...) & Vinderola, G.** (2021). The international scientific association of probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(9), 649-667.
- Sarquis, M. Ag., Siroli, L. (...) & Burns, P.** (2019). Novel bifidobacteria strains isolated from non conventional sources. Technological, antimicrobial and biological characterization for their use as probiotics. *Journal of Applied Microbiology*, 127(4), 1207-1218.

- Shen, X., Xu, L. & Sun, Z.** (2023). Postbiotic gel relieves clinical symptoms of bacterial vaginitis by regulating the vaginal microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1114364.
- Siroli, L., Patrignani, F., (...) & Lanciotti, R.** (2017). Determination of antibacterial and technological properties of vaginal lactobacilli for their potential application in dairy products. *Frontiers in Microbiology*, 8, 166.
- Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia** (2022). Diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 65, 61-75.
- Verstraelen, H., Vieira-Baptista, P. (...) & Lev-Sagie, A.** (2022). The vaginal microbiome: i. research development, lexicon, defining «normal» and the dynamics throughout women's lives. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, 26 (1), 73-78.
- Vitali, B., Abruzzo, A. (...) & Luppi, B.** (2016). Association of *Lactobacillus crispatus* with fructo-oligosaccharides and ascorbic acid in hydroxypropyl methylcellulose vaginal insert. *Carbohydrate Polymers*, 136, 1161-9.
- Wang Z., He Y. & Zheng Y.** (2019). Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis: a meta-analysis. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(20), 3859.
- Wrønding, T., Vomstein, K. (...) & Svarre N.** (2023). Antibiotic-free vaginal microbiota transplant with donor engraftment, dysbiosis resolution and live birth after recurrent pregnancy loss: a proof of concept case study. *Clinical Medicine*, 102070.
- Zacarias, M. F., Binetti, A. (...) & Vinderola, G.** (2011). Preliminary technological and potential probiotic characterisation of bifidobacteria isolated from breast milk for use in dairy products, *International Dairy Journal*, 21 (8), 548-555.
- Zhang, Q., Cheng, Q. (...) & Zhang, H.** (2022). Inhibitory effect of *Lactobacillus gasseri* CCFM1201 on *Gardnerella vaginalis* in mice with bacterial vaginosis. *Archives of Microbiology*, 204, 315.
- Zheng, J., Ruan, L. (...) & Gänzleb, M.** (2015). A genomic view of lactobacilli and pediococci demonstrates that phylogeny matches ecology and physiology. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(20), 7233–7243.
- Zheng, N., Guo, R. (...) & Ling, Z.** (2021). Contribution of *Lactobacillus* inners to vaginal health and diseases: a systematic review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11:792787.
- Żółkiewicz, J., Marzec, A. (...) & Feleszko, W.** (2020). Postbiotics-a step beyond pre- and probiotics. *Nutrients*, 12 (8), 2189.

Capítulo 9

La microbiota de la piel

Luciana Gerez, Melisa Puntillo, Elisa Ale, Ana Binetti y Julio Villena

Los avances en los métodos basados en la secuenciación del material genético para identificar y examinar microorganismos de comunidades específicas han permitido caracterizar la gran diversidad de especies de la microbiota de la piel. Un estudio pionero de veinte lugares anatómicos diferentes de la piel reveló diferencias únicas de composición microbiana en los distintos sitios del cuerpo (Grice y col., 2009). Los microorganismos que componen la microbiota de la piel están adaptados para la vida en estos distintos microhábitats con condiciones fisiológicas diferenciadas (Flowers y Grice, 2020). Las relaciones entre los microorganismos y las células de la piel se han forjado y desafiado durante millones de años de coevolución. Por lo tanto, no sorprende que estos microorganismos sean participantes importantes en la configuración y el mantenimiento de procesos fisiológicos esenciales. Los microorganismos comensales que conforman la microbiota de piel, interactuando entre sí y a través de interacciones mutualistas con las células del hospedador, son capaces de promover los mecanismos de defensa, modular las respuestas inmunitarias, inhibir la colonización y la infección por organismos oportunistas o patógenos, y promover la reparación del tejido y las funciones de barrera. Incluso y, a la luz de la evidencia científica más reciente, se considera que estos microorganismos pueden alterar la actividad de órganos distantes, como el tracto digestivo o el cerebro, a través de los conocidos hoy en día como ejes «piel-intestino» o «piel-cerebro», entre otros (Chen y col., 2023). En este capítulo se presenta la estructura anatómica y las funciones de la piel, incluyendo sus propiedades inmunológicas. Además, se revisarán los avances realizados en el entendimiento de la composición de la microbiota de la piel, su efecto en el mantenimiento de la salud del hospedador y la contribución de su desbalance en el desarrollo y/o progresión de enfermedades de la piel.

Piel: generalidades, estructura, funciones

La piel es la barrera epitelial más extensa de nuestro cuerpo (representa alrededor del 15 % del peso corporal total) que actúa como la primera línea de defensa frente a agresiones del medioambiente, como la radiación UV (RUV), las sustancias tóxicas o los agentes patogénicos. Es un órgano muy diverso formado por microambientes que difieren en las condiciones de pH, temperatura, humedad, contenido sebáceo y topografía (Nakatsuji y col., 2013). Asimismo, su espesor varía dependiendo de la zona del cuerpo (desde aproximadamente 0,5 mm en los párpados a 1,5-2,0 mm en la cara o 4,0 mm en los talones) (Chen y col., 2023). Anatómicamente, se compone de tres capas: epidermis, dermis y capa subcutánea o hipodermis (figura 1).

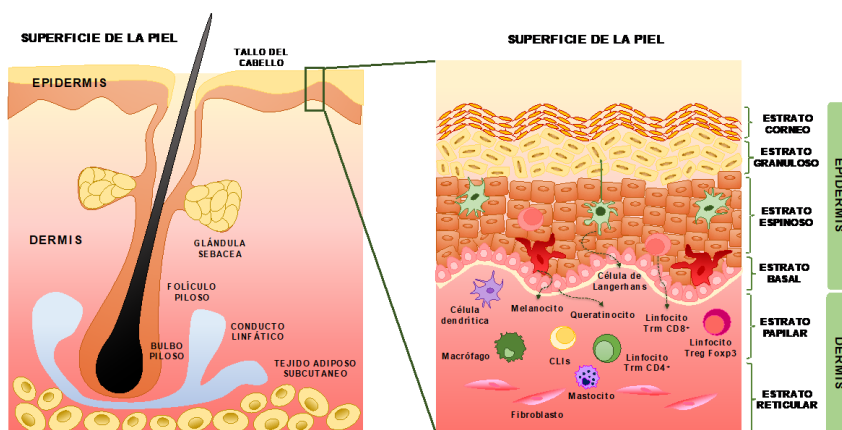


Figura 1. Estructura de la piel y su sistema inmunológico

La epidermis es un epitelio estratificado cuya célula primaria es el queratinocito, que constantemente se genera en la lámina basal (donde se produce la mitosis), madura, se diferencia y migra hacia la superficie, donde pasa a formar parte de alguna de las 3 capas que se encuentran sobre la lámina basal (estrato espinoso, estrato granuloso y estrato córneo). La tasa normal de renovación de la epidermis es de unos 28 días. El estrato córneo está en contacto directo con el medio ambiente y es el responsable de la barrera cutánea, evitando la pérdida de agua, manteniendo la hidratación y evitando la sobrehidratación, además de otras muchas funciones protectoras. La finalidad de la epidermis es crear un estrato córneo totalmente funcional (Fore-Pfiffer, 2004).

Otros componentes de la epidermis son los melanocitos (células de la cresta neural que producen el pigmento de la piel, melanina), las células de Langerhans (células dendríticas móviles presentadoras de antígenos) y las células de Merkel (células con características neuroendócrinas y epiteliales que se encuentran en sinapsis con los axones sensoriales dérmicos y las células epiteliales adyacentes y que son sensibles a los estímulos mecánicos, especialmente a la presión). Existen tres apéndices epidérmicos: las glándulas sudoríparas, los folículos pilosebáceos que producen el pelo y las excreciones sebáceas, y las uñas que cubren las falanges distales (Kanitakis, 2002). Las glándulas sudoríparas actúan como termorreguladoras y, a través de la síntesis de péptidos antimicrobianos, como defensa frente a patógenos (Marakami y col., 2002).

La dermis, situada entre la unión subcutánea y dérmico-epidérmica, mide desde 0,3 mm en los párpados hasta 3,0 mm en la espalda y sus componentes celulares incluyen fibrocitos, monocitos, histiocitos, células de Langerhans, linfocitos y eosinófilos, junto con las células vasculares y linfáticas. Principalmente se trata de una matriz de tejido conectivo compuesta por aproximadamente un 90 % de colágeno (principalmente de tipo I) junto con fibras elásticas, vasos sanguíneos y vasos linfáticos, con algunas fibras musculares y glándulas pilosebáceas y sudoríparas que se originan en la dermis profunda y la capa subcutánea. Todas estas estructuras, en general, son responsables de regular la temperatura corporal, mantener la humedad, actuar como barrera frente a agentes extraños y renovar la epidermis dañada. La dermis y su riego sanguíneo se encargan de suministrar nutrientes a la piel mediante una continua comunicación con la epidermis, que no tiene riego propio. La unión entre la epidermis y la dermis se ondula para formar invaginaciones conocidas como *rete pegs* o *papillae* y los capilares nutritivos y las vénulas circulan cerca de la unión dermoepidérmica, en la parte superior de dicha red (Braverman, 2000). Las terminaciones del sistema nervioso se encuentran en la membrana basal y cerca de ella, e incluso penetran en la epidermis, donde se conectan con todos los tipos de células, afectando la respuesta de la piel a los estímulos nerviosos desde múltiples neurotransmisores (Oaklander y Siegel, 2005).

La capa subcutánea (o hipodermis) es la capa más profunda que ayuda a aislar el cuerpo y a almacenar energía, proporcionando un relleno protector a partir de las células grasas o adipocitos, unidas entre sí por un tejido fibroso.

El estrato córneo y la piel, en general, tienen actividad biosensora. Cualquier alteración de la barrera cutánea/estrato córneo o de las capas más profundas pone en marcha mecanismos de reparación que activan respuestas sintéticas e inflamatorias en la piel, disparando la actividad mitótica en la capa basal, la

segregación de gránulos laminares en el espacio intercelular e inician una respuesta inmune (Rassner y col., 2000).

En similitud con el epitelio veloso del intestino humano, la piel tiene aproximadamente cinco millones de folículos pilosos (poros) y conductos sudoríparos cuya estructura cóncava y profundidad aumentan su complejidad. Las densidades de estos microorganismos hacen que los microambientes cutáneos puedan agruparse, a grandes rasgos, en tres categorías: sebáceo/graso (frente, cuero cabelludo, pecho y espalda), húmedo (piel alrededor de la nariz y la boca, axilas, pliegue del codo, abdomen, parte inferior de las nalgas, parte posterior de la rodilla y pie) y seco (antebrazos, parte posterior del codo, nalgas y parte anterior de la rodilla/piernas) (Cundell, 2018).

El sistema inmunológico de la piel

La piel humana es un tejido rico en células inmunes que contribuyen a mediar las interacciones con el entorno externo. Si bien no es una superficie mucosa en el sentido más estricto, la biología cutánea se parece en muchos aspectos a la de otros tejidos de barrera como el intestino. El paralelo más importante es que el sistema inmunológico de la piel ha evolucionado para integrarse y responder a estas diversas señales del ambiente externo, aprendiendo a tolerar los microorganismos y antígenos inocuos y a reaccionar contra aquellos que representan un peligro (Zhang y col., 2022). La piel está protegida por tres barreras: a) la barrera física, b) la barrera química y, c) la barrera inmunológica (Harris-Tryon y Grice, 2022). Esta última está mediada tanto por células inmunes como por células no inmunes residentes de la piel (figura 1) (Chambers y Vukmanovic-Stejic, 2020).

Los queratinocitos expresan receptores de reconocimiento de patrones (RRPs) como los receptores de tipo Toll (TLR), los cuales son receptores inmunes cruciales en el reconocimiento de patrones moleculares asociados a microorganismos (MAMPs). La interacción RRPs-MAMPs activa las funciones inmunológicas de los queratinocitos y conduce a la producción de citoquinas inflamatorias que inician las respuestas inmunes. Los queratinocitos también poseen la capacidad de detectar señales de daño y producir citoquinas y quimioquinas inflamatorias como la interleucina-1 β (IL-1 β), IL-8 y CCL20 para inducir el reclutamiento de leucocitos al sitio de lesión. Por otro lado, aunque la función principal de los fibroblastos dérmicos es sintetizar la matriz extracelular, también expresan TLRs, incluso en niveles más altos que los encontrados en los queratinocitos (Chambers y Vukmanovic-Stejic, 2020).

Esto les permite a los fibroblastos de la dermis participar activamente en el reconocimiento de microorganismos y gatillar la producción de factores como IL-6, IL-8 y CCL2 para reclutar y activar células inmunes. De este modo, las células no inmunes de la piel participan activamente en la generación de respuestas inmunológicas (Zhang y col., 2022).

La piel contiene una red de células inmunitarias mieloides que incluye a las células de Langerhans, células dendríticas (DCs) y macrófagos (figura 1), las cuales contribuyen a la homeostasis de la piel mediante la secreción de factores de crecimiento necesarios para la supervivencia de los queratinocitos, fibroblastos y células endoteliales. Además, mantienen una función tisular óptima al fagocitar los desechos y las células apoptóticas, respaldar la integridad de la vasculatura y promover la tolerancia. En condiciones inflamatorias, estas células mieloides responden de inmediato y producen mediadores proinflamatorios que impulsan la activación de las células inmunes locales y el reclutamiento de células inflamatorias en el sitio afectado. Las células mieloides de la piel también sirven como enlace entre el sistema inmune innato y el adaptativo por su capacidad para presentar antígenos (Nguyen y Soulika, 2019). Una de las células que primero entra en contacto con antígenos que alcanzan la piel, son las células de Langerhans, localizadas en la epidermis y con la capacidad de extender sus dendritas para capturar antígenos cerca de la superficie (Zhang y col., 2022). Estas células provienen de precursores de macrófagos y adquieren la propiedad de fagocitar y presentar antígenos una vez que alcanzan la epidermis. Aunque generalmente es una población que se auto renueva en condiciones normales, se ha observado que los monocitos derivados de médula ósea ayudan a aumentar el nicho de células de Langerhans durante la inflamación de la piel. Las células de Langerhans pueden presentar antígenos a las células T tanto en la epidermis como en los ganglios linfáticos e iniciar respuestas inmunitarias, promoviendo tanto respuestas efectoras como reguladoras (Chambers y Vukmanovic-Stejić, 2020).

Dentro de la dermis, se localiza una población más diversa de células fagocíticas y presentadoras de antígenos incluyendo a las DCs y los macrófagos dérmicos. Al igual que los macrófagos en otras regiones del cuerpo, los macrófagos de la piel están preparados tanto para detectar patógenos y señales de daño e iniciar respuestas inmunitarias efectoras, así como para participar en el mantenimiento de la homeostasis de los tejidos mediante la producción de factores reguladores que contribuyen a la cicatrización de heridas luego de la lesión tisular.

La piel también contiene mastocitos, los cuales poseen gránulos que contienen mediadores preformados como histamina, proteoglicanos sulfatados,

serotonina y triptasa y quimasa. Los mastocitos son clásicamente conocidos por su participación en las reacciones alérgicas, ya que producen y liberan grandes cantidades de histamina cuando sus receptores Fcε se activan a través de complejos de antígeno-IgE. Asimismo, contiene además poblaciones de células inmunes de origen linfoide, que incluyen a las células linfoides innatas (CLIs) y linfocitos T (figura 1). Las células B son bastante escasas en la piel en estado normal por lo que no está claro si realmente residen en la piel. Sin embargo, el número de los linfocitos B aumenta significativamente en las afecciones inflamatorias (Nguyen y Soulika, 2019). Las CLIs están presentes en la piel donde contribuyen a coordinar las respuestas inmunitarias, pudiendo desempeñar un papel fundamental en el mantenimiento de la tolerancia hacia la microbiota de la piel (Hepworth y col., 2013).

La piel también posee un gran número de células T, con aproximadamente 2×10^{10} en toda su superficie (Zhang y col., 2022), varias veces la cantidad que se encuentra en la circulación sanguínea. Se ha demostrado que la mayoría (80-90 %) de estas células T corresponden a poblaciones residentes de memoria (Trm) que pasan la mayor parte de su tiempo en la piel. Estas células Trm se generan después de la exposición al antígeno, proporcionan memoria en el sitio de exposición inicial, y son células efectoras más potentes en comparación con las células T circulantes (Chambers y Vukmanovic-Stejic, 2020). Por otro lado, las células T reguladoras (Treg) con fenotipo de memoria residente comprenden del 10-30 % de la población de células T CD4+ cutáneas en la piel humana adulta sana (Zhang y col., 2022). Células Treg Foxp3+ con un fenotipo de memoria residente se han observado en la dermis y en particular cerca de los folículos pilosos en condiciones homeostáticas (Sánchez Rodríguez y col., 2014). De manera análoga a los linfocitos intraepiteliales que se encuentran en el revestimiento intestinal, la piel contiene subconjuntos de células T epidermotróficas.

Microbiota de piel y sus modificaciones durante el desarrollo humano

En los 1,8 m² de superficie cutánea y en sus apéndices asociados (folículos pilosos y glándulas sebáceas y sudoríporas, que prolongan la superficie a un total de 25 m²) residen millones de organismos (bacterias, hongos y ácaros microscópicos) y virus que constituyen el microbioma de la piel, uno de los tantos componentes del sistema holobionte (Grice y col., 2008; Grice y Segre, 2011) y que hacen de la piel la superficie más extensa de interacción microbiana. De este modo, se reconoce a la microbiota cutánea como «la cuarta

capa de la piel», ya que desempeña un papel fundamental en la salud, estableciendo complejas interacciones con el sistema inmune del hospedador. Esta comunidad microbiana, que contiene entre 4 y 6 unidades logarítmicas por cm² con más de 200 géneros caracterizados, es sorprendentemente estable, a pesar de las frecuentes perturbaciones a la que están sometidos los microorganismos de la piel (Flowers y Grice, 2020). Los cuatro filos bacterianos más importantes son: *Actinobacteria* (36-51 %), *Firmicutes* (24-34 %), *Proteobacteria* (11-16 %) y *Bacteroidetes* (6-9 %) (McLoughlin y col., 2021). Los géneros de hongos incluyen *Malassezia*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Aspergillus* y *Epicoccum*; *Malassezia* spp. comprenden alrededor del 80 % de toda la flora fúngica (Lunjani y col., 2019; McLoughlin y col., 2021). Los virus han sido los menos estudiados en el microbioma de la piel; sin embargo, los virus del papiloma humano β y γ cutáneos se encuentran comúnmente en la superficie de la piel. Además, *Demodex* spp. son diminutos ácaros que viven en los folículos pilo-sebáceos (Boxberger y col., 2021).

La microbiota cutánea tiene una gran complejidad y variabilidad dependiendo de diferentes factores como edad, origen étnico, topografía de la piel (características fisiológicas de zonas sebáceas, húmedas y secas), genética, clima y cuidado de la piel (Kim y col., 2019). Algunos estudios han demostrado la evolución de la microbiota en el huésped a lo largo de la vida (Shibagaki y col., 2017; Kim y col., 2022) y cómo las alteraciones en la composición microbiana se asocian a enfermedades cutáneas y al envejecimiento (Li y col., 2020) (figura 2).

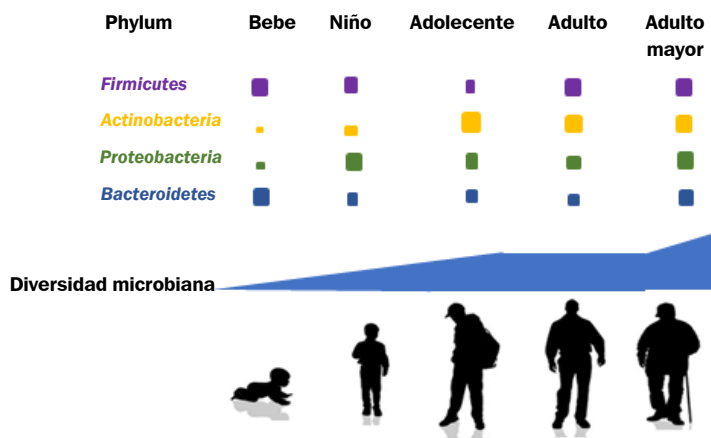


Figura 2. Modificaciones de la microbiota de la piel en las diferentes etapas de la vida

La colonización de la microbiota comienza en el nacimiento y su composición está influenciada por la vía de parto. El nacimiento marca un momento de cambio drástico para la piel del recién nacido, ya que experimenta una transición repentina de un entorno acuoso al medio ambiente con una exposición constante a microorganismos. Aunque se cree que el primer contacto microbiano comienza en el útero (Pérez-Muñoz y col., 2017), la colonización microbiana se incrementa exponencialmente al nacer con la exposición al medio ambiente (Gensollen y col., 2016). Existen diferencias entre la colonización microbiana que ocurre en el canal de parto (predominio de *Lactobacillus*, *Prevotella* y *Candida albicans*) con los perfiles microbianos de los bebés nacidos por cesárea (predominio de *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Cutibacterium*). Por otro lado, la primera exposición del recién nacido a la microbiota vaginal cumpliría un papel importante en la consolidación de la microbiota cutánea inicial, la colonización bacteriana de otros hábitats corporales (Domínguez-Bello y col., 2010) y el desarrollo de la inmunidad infantil (Gómez de Aguero y col., 2016). Los microorganismos comensales de la piel pueden influenciar tanto positiva como negativamente las respuestas inmunológicas de este tejido. Se ha observado, por ejemplo, que la microbiota comensal de la piel cumple una función moduladora en los primeros años de vida, ya que la exposición reducida a los microorganismos aumenta la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades alérgicas como la dermatitis atópica en la primera infancia (Koh y col., 2022).

En los bebés prematuros, las diferencias físicas y funcionales de la piel inmadura pueden alterar la microbiota en comparación con la de los bebés nacidos a término. Pammi y col. (2017) informaron que la riqueza bacteriana de la piel (variedad de especies) de bebés prematuros tendía a ser más baja que la de bebés nacidos a término. Las comparaciones de la composición bacteriana revelaron que *Firmicutes* (género predominante *Staphylococcus*) era más abundante y *Proteobacteria* menos abundante en los recién nacidos prematuros, posiblemente a causa de la exposición a los antibióticos.

Independientemente de la modalidad de nacimiento y en contraste con los adultos, se ha demostrado que los recién nacidos albergan comunidades bacterianas que no están diferenciadas en los múltiples hábitats corporales —piel, oral, nasofaríngea, intestino, vagina, etc.— (Domínguez-Bello y col., 2010), pero los cambios específicos del sitio comienzan a ocurrir dentro de los tres meses de edad, y la diversidad microbiana se estabiliza durante el primer año de vida (Russell y col., 2012).

La piel infantil es sensible y más propensa a afecciones inflamatorias como la dermatitis atópica, dermatitis del pañal y a infecciones como la candidiasis.

Se ha sugerido que una comunidad diversa de bacterias comensales de la piel al inicio de la vida es importante para educar al sistema inmunológico y permitir que el hospedador pueda desarrollar mecanismos eficientes, tanto de tolerancia como de defensas, para responder adecuadamente a los estímulos ambientales (Flowers y Grice, 2020; Koh y col., 2022). Otros ejemplos de la modulación de la inmunidad de la piel por microorganismos comensales se revisarán en detalle más adelante.

La diversidad de la microbiota de la piel continúa adaptándose a lo largo de la niñez y en la adolescencia y está moldeada por el microambiente cambiante de diferentes sitios de la piel durante la maduración sexual. Durante la transición a través de la pubertad, la microbiota cutánea cambia notablemente de un predominio de *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* (beta y gamma-proteobacteria) a *Actinobacteria* más lipofílica (*Corynebacterium* y *Cutibacterium*) (Zhu y col., 2019). Tanto *Cutibacterium acnes* (reclasificación de *Propionibacterium acnes*) como *S. epidermidis* aumentan de manera específica al alcanzar la madurez sexual en hombres y mujeres, mientras que *C. acnes* lipofílico y *Malassezia restricta* se correlacionan positivamente con concentraciones más altas de ciertas hormonas sexuales en niñas (estrona, 17β -estradiol y testosterona) (Park y col., 2022). Es probable que estas alteraciones estén influenciadas por los efectos de las hormonas en la piel, como los andrógenos que aumentan la actividad de las glándulas sebáceas (Makrantonaki y col., 2011). Además, se considera que ciertas cepas de *C. acnes* producen un exceso de porfirina, lo que puede causar inflamación de la piel y contribuir al desarrollo del acné vulgar (Schneider y col., 2023). Estos hallazgos quizás puedan arrojar luz sobre por qué ciertas patologías de la piel vinculadas a la microbiota dependen de la etapa de la vida. Por lo tanto, los cambios en las condiciones fisiológicas en la pubertad pueden conducir a un desequilibrio entre los diferentes miembros de la comunidad cutánea. También se ha sugerido que las diferencias fisiológicas y anatómicas más pronunciadas entre hombres y mujeres que surgen en la adolescencia, como el sudor, el sebo y la producción de hormonas, explican las diferencias microbianas cutáneas observadas entre sexos en adultos (Grice y Segre, 2011).

En los adultos, la microbiota cutánea se mantiene relativamente estable, por lo que se ha sugerido que podría usarse para predecir la edad cronológica de un individuo (Huang y col., 2020). La piel adulta muestra niveles más altos de *Cutibacterium* y *Corynebacterium*, mientras que los niños muestran un predominio de *Gammaproteobacteria* y *Streptococcaceae* en múltiples sitios. La microbiota cutánea de un individuo adulto si bien es estable, depende en gran medida de la topografía de la piel (Oh y col., 2016). Las condiciones de tem-

peratura, humedad, densidad de las glándulas sebáceas y pH de la piel en los distintos sitios corporales crean diferentes nichos ecológicos donde pueden prosperar bacterias, hongos, virus, arqueas y ácaros (Lunjani y col., 2019). Los sitios sebáceos están dominados por especies lipofílicas de *Propionibacterium* y *Cutibacterium* (*Actinobacteria*), mientras que las especies de *Staphylococcus* (*Firmicutes*) y *Corynebacterium* (*Actinobacteria*), abundaban preferentemente en áreas húmedas, incluidos los pliegues de los codos y los pies. Las áreas secas de la piel muestran la mayor diversidad con una colonización variada de los cuatro filos bacterianos (*Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*) (McLoughlin y col., 2021) (figura 3).

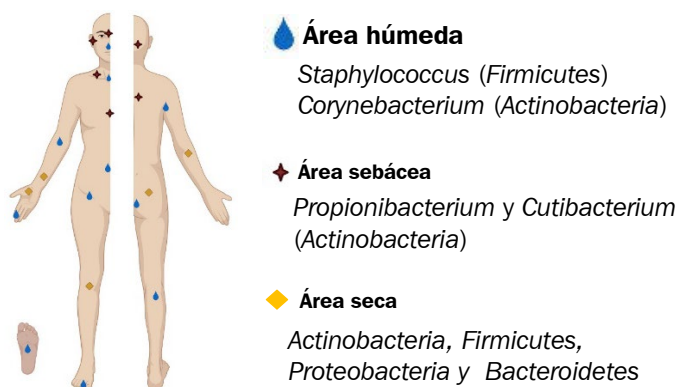


Figura 3. Microbiota cutánea según las características fisiológicas de la piel

En contraste con las comunidades bacterianas, la composición de la comunidad fúngica es similar en todos los sitios centrales del cuerpo, independientemente de la fisiología (Findley y col., 2013; Oh y col., 2014). Los hongos del género *Malassezia* predominan en los sitios centrales del cuerpo y los brazos, mientras que los sitios de los pies son colonizados por una combinación más diversa de *Malassezia*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula* y *Epicoccum*, entre otros (Findley y col., 2013).

A diferencia de las bacterias y los hongos, la colonización por virus de ADN eucariótico es específica del individuo más que del sitio anatómico (Oh y col., 2014). Dado que ningún gen marcador se comparte universalmente entre los virus, la diversidad de la comunidad viral solo se puede capturar con partículas

similares a virus purificadas o secuenciación metagenómica de escopeta (Oh y col., 2014; Hannigan y col., 2015). Entre los bacteriófagos, predominan aquellos asociados a *Propionibacterium* y *Staphylococcus* (Hannigan y col., 2015).

La microbiota de la piel en los diferentes nichos se mantiene relativamente estable en los adultos hasta el envejecimiento, etapa en la cual se ha observado una marcada modificación en la estructura y composición (Oh y col., 2012), particularmente en las mujeres (Shibagaki y col., 2017). Estos cambios se asocian a las modificaciones fisiológicas y estructurales de la piel (Wilantho y col., 2017; Kim y col., 2019). Podemos distinguir dos tipos de envejecimiento en la piel, el intrínseco influenciado por cambios genéticos, metabólicos y hormonales; y el extrínseco que se desencadena por factores ambientales, principalmente por la exposición a la RUV. Las zonas del cuerpo protegidas del sol (por ejemplo, los glúteos) experimentan en gran medida procesos de envejecimiento intrínsecos que se caracterizan por una función reducida de las glándulas sebáceas, disminución del flujo sanguíneo y degradación de las matrices extracelulares (MEC) fibrosa y colágenas, lo que conduce a atrofia, contenido reducido de lípidos y líneas finas (Wilkinson y Hardman, 2021). Por el contrario, la piel extrínsecamente envejecida se encuentra comúnmente en las partes del cuerpo expuestas al sol (rostro y manos) y se caracteriza por telangiectasias, hiper-pigmentación, arrugas profundas y una apariencia coriácea (Fang y col., 2016). La piel de un adulto envejecida tanto intrínseca como extrínsecamente tiene un pH más alto, menos hidratación y una expresión reducida de proteínas de unión estrecha en comparación con la piel de un adulto joven. Pero a diferencia del envejecimiento intrínseco, el fotoenvejecimiento provoca una proliferación elevada y un aumento del sebo (Wilkinson y Hardman, 2021). La abundancia general de bacterias aumenta con la edad, pero esto no es directamente proporcional ya que ciertas bacterias se vuelven más dominantes (ej., *Corynebacterium*) mientras que otras disminuyen en número (ej., *Cutibacterium* y *Lactobacillus*), de manera independiente del sitio (Kim y col., 2022). Algunas investigaciones han intentado asociar las alteraciones en las bacterias relacionadas con la edad con la inmunidad del hospedador (Liu y col., 2017; Jugé y col., 2018). Así, la disbiosis en la piel por alteraciones fisiológicas y/o envejecimiento se refiere a la falta de equilibrio entre las comunidades microbianas dentro de ciertas áreas del cuerpo que pueden provocar la aparición o progresión de enfermedades (McLoughlin y col., 2021). Varias enfermedades de la piel como la dermatitis atópica y seborreica, el acné y la psoriasis pueden resultar de la disbiosis. Asimismo, es indudable que el mantenimiento de la barrera cutánea es fundamental para prevenir las infecciones patógenas (Boxberger y col., 2021).

El papel de la microbiota de la piel en las enfermedades infecciosas

La microbiota de la piel protege este tejido de microorganismos invasores, patógenos u oportunistas a través del proceso denominado «resistencia a la colonización» (Flowers y Grice, 2020), y esto lo logra por su capacidad de influir en las tres barreras de protección: física, química e inmunológica (figura 4) (Harris-Tryon y Grice, 2022).

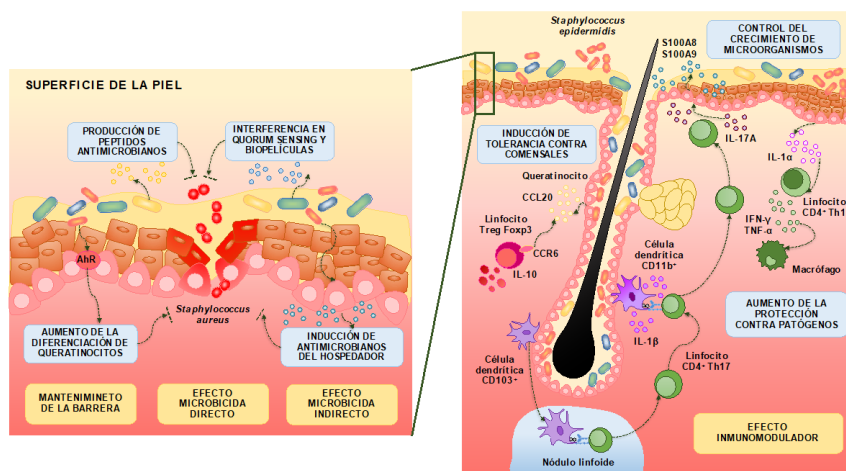


Figura 4. Mecanismos empleados por la microbiota de la piel para incrementar la protección contra patógenos y mantener la tolerancia a microorganismos comensales

La microbiota de la piel es necesaria para mantener la función y la estructura de la barrera cutánea normal, ya que es capaz de promover la diferenciación y la integridad epitelial a través de la señalización del receptor de hidrocarburo arilo (AhR) en los queratinocitos (Uberoi y col., 2021). Dos formas eficientes en que las bacterias comensales de la piel pueden eliminar la competencia es a través de la inducción directa de la muerte de los microorganismos competidores, y a través de la modulación de las defensas del hospedador. En este sentido, uno de los ejemplos más estudiados es la capacidad de los estafilococos coagulasa negativos para inhibir a su pariente cercano, el patógeno *S. aureus* (O'Sullivan y col., 2019). Los estafilococos coagulasa negativos están ampliamente distribuidos en la piel humana y comprenden las especies *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. caprae*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, y *S. haemolyticus* (Flowers y Grice, 2020), que

ayudan a regular la colonización de *S. aureus* a través de su acción microbicida directa mediada por péptidos antimicrobianos bacterianos (Nakatsuji y col., 2017; O'Neill y col., 2020) e indirectamente por su capacidad para incrementar la producción de sustancias antimicrobianas producidas por las células de la piel (Cogen y col., 2010). Para colonizar la piel y causar infección, *S. aureus* necesita establecer la comunicación célula-célula a través de «*quorum sensing*» y formar biopelículas. Se ha demostrado que algunos estafilococos coagulasa negativos tienen la capacidad para interferir en estos dos procesos a través de diferentes mecanismos (modulación del sistema *quorum sensing agr*, síntesis de proteínas, etc.). Especies del género *Corynebacterium* también son miembros frecuentes y abundantes de la microbiota de la piel, en particular en zonas húmedas y ocluidas del cuerpo. Estos microorganismos Gram positivos han sido implicados en la producción de compuestos volátiles olorosos característicos del sudor axilar, aunque evidencia más reciente sugiere que *S. lugdunensis*, *S. hominis* y *S. haemolyticus* son más eficientes en la biotransformación del sudor y la liberación de tioalcohol causante del mal olor (Flowers y Grice, 2020). Las especies de *Corynebacterium* comensales de la piel como *C. striatum*, también pueden limitar la virulencia de *S. aureus* mediante la modulación del sistema de *quorum sensing agr*, reduciendo la actividad hemolítica del patógeno y su capacidad para adherirse a la piel (Ramsey y col., 2016).

S. epidermidis ha sido ampliamente empleado como un modelo de bacteria comensal de la piel, lo que ha permitido evidenciar sus efectos beneficiosos en la salud. Se ha demostrado que moléculas producidas por *S. epidermidis* pueden activar TLR2 en la piel induciendo la liberación del péptido antimicrobiano LL-37 y el incremento de las defensas antibacterianas de la piel (Lai y col., 2010). Este microorganismo puede influir en morfogénesis del folículo piloso en la vida neonatal. También se ha asociado a *S. epidermidis* con la regulación beneficiosa de la inmunidad de la piel en la vida adulta.

La bacteria de la piel *C. acnes* produce lipasas que descomponen los lípidos del sebo de la piel, lo que le permite utilizar los ácidos grasos resultantes como nutrientes. Estos ácidos grasos, principalmente ácido propiónico, también acidifican la superficie de la piel, creando así un entorno inhibitorio de la colonización por microorganismos exógenos (Flowers y Grice, 2020). Con una abundancia mínima en la piel prepuberal, *C. acnes* comienza a aparecer en la microbiota de la piel humana concomitantemente con la maduración de la glándula sebácea y la secreción de sebo durante la pubertad. Esta bacteria ha sido asociada al acné, un trastorno inflamatorio crónico del folículo pilosebáceo que afecta a más del 85 % de los adolescentes y jóvenes en el mundo y que se caracteriza por un aumento de la producción de sebo, hiperqueratinización

folicular, y alteraciones de la microbiota de la piel (Hazarika, 2021). Se ha postulado que el comportamiento de *C. acnes*, como comensal o patógeno, depende de las condiciones del microambiente así como de las características genómicas específicas de cepa. *C. acnes* puede producir ácidos grasos de cadena corta (AGCC) con capacidad de inhibir histona-desacetilasas y actuar de este modo como reguladores epigenéticos del sistema inmunológico (Chang y col., 2014). Sin embargo, a diferencia del tracto gastrointestinal donde los AGCC tienen efectos antiinflamatorios, en la piel se comportan como proinflamatorios (Sanford y col., 2019). El análisis genómico comparativo de aislados de *C. acnes* provenientes de muestras de piel normal y de acné mostró que los genomas recuperados de la piel con acné resultan diferentes a los genomas de *C. acnes* de controles sanos (Fitz-Gibbon y col., 2013). Se observó que los pacientes con acné albergan cepas de *C. acnes* que codifican factores de virulencia, los cuales rara vez están presentes en los genomas de las bacterias de controles sanos. Además, se han reportado acciones antagonicas de microorganismos beneficiosos contra *C. acnes* patógenos. Por ejemplo, *S. epidermidis* inhibe la proliferación de *C. acnes* al favorecer la fermentación de glicerol y liberar ácido succínico (Claudel y col., 2019). Algunas bacterias comensales de la piel puede reducir la inflamación inducida por *C. acnes* a través de su ácido lipoteicoico, el cual regula la interacción de TLR2-miR-143 y la producción de IL-6 y TNF- α por parte de los queratinocitos (Xia y col., 2016). La administración tópica de *Weissella viridescens* UCO-SMC3, originalmente aislada de la baba del caracol de jardín *Helix aspersa* Müller, puede mejorar la respuesta inmune inducida por *C. acnes* en la piel de ratones así como de reducir las lesiones del acné en voluntarias (Espinoza-Monje y col., 2021). Estos estudios sugieren que la modulación local de las respuestas inmunológicas por bacterias beneficiosas de la piel en el sitio del acné podría ser una estrategia terapéutica para el manejo de la inflamación inducida por *C. acnes*.

Enfermedades de la piel y microbiota

Dermatitis atópica

La dermatitis atópica es una enfermedad inflamatoria que afecta al 10-20 % de niños y 2-10 % de adultos en países desarrollados (Edslev y col., 2020). La patogenia de la enfermedad es compleja e incluye el daño de la barrera epitelial y el desbalance del sistema inmunológico con incrementos de las respues-

tas Th2, Th17, y Th22 (Edslev y col., 2020; Koh y col., 2022). Usualmente los pacientes que padecen esta enfermedad presentan una microbiota con menor diversidad bacteriana y mayor diversidad de microbiota fúngica, con respecto a la microbiota de la piel de personas sanas (Koh y col., 2018; Edslev y col., 2020). Se ha reportado que *Streptococcus* es el género bacteriano más abundante en piel de casos de dermatitis atópica moderada, excediendo el 40 % de abundancia relativa. Por otro lado, en los casos de dermatitis atópica más severos, la abundancia de *Streptococcus* disminuye y es remplazado por *Staphylococcus*, especialmente por *S. aureus* (Zheng y col., 2019). Los pacientes con dermatitis atópica con predominio de *S. aureus* exhiben una enfermedad más grave que aquellos con una alta prevalencia de otros estafilococos como *S. epidermidis* (Smythe y Wilkinson, 2023). Las alteraciones de la barrera cutánea aumentan la susceptibilidad a la colonización por *S. aureus* (Feuillie y col., 2018). Los pacientes con dermatitis atópica evidencian un aumento del pH de la piel que favorece la proliferación y colonización de *S. aureus* (Koh y col., 2018). Tras la colonización, los factores de virulencia de *S. aureus* impulsan la patogénesis de la dermatitis provocando una mayor ruptura de la barrera cutánea y la sobreestimulación del sistema inmunitario. Todavía no se ha podido dilucidar con claridad si la infección/colonización por esta bacteria patógena es una causa o una consecuencia de este ciclo.

Asimismo, el crecimiento excesivo de especies de *Malassezia* como *M. furfur* o *M. sympodialis* se ha asociado a la patogenia de la dermatitis atópica (Prohic y col., 2016; Nowicka y Nawrot, 2019). Usualmente los pacientes que padecen esta enfermedad presentan niveles elevados de IgE específica contra *Malassezia*, y se ha detectado una correlación entre la gravedad de la enfermedad y la cantidad de especies de *Malassezia* presentes (Koh y col., 2018). Llamativamente, al contrario del papel que desempeña en la dermatitis atópica, en la piel sana *Malassezia* puede actuar como un comensal que brinda protección contra *S. aureus*. Se reportó que *M. globosa* puede secretar proteasas capaces de inhibir el crecimiento y formación de biopelículas por *S. aureus* (Li y col., 2018). Se encontró que las personas que presentan niveles disminuidos de *M. globosa* son más susceptibles a desarrollar dermatitis atópica, ya que esa disminución suele estar acompañada de incrementos en los niveles de *M. sympodialis* y/o *S. aureus*. (Chang y col., 2016). De manera similar, análisis genómicos de la microbiota de la piel seguidos de cultivo dirigidos pudieron detectar que las roseomonas, bacterias rosadas Gram negativas, son parte de la microbiota de la piel humana, siendo las especies dominantes *Roseomonas gilardii*, *R. cervicalis* y *R. mucosa* (Han y col., 2003). *R. mucosa* inhibe la colonización de *S. aureus* y modula la respuesta inflamatoria (Myles y col., 2016).

Más aún, la administración de *R. mucosa* en la piel de pacientes con dermatitis atópica resultó en una disminución de la abundancia de *S. aureus* y una reducción significativa de los síntomas clínicos (Myles y col., 2018). Estos roles antagónicos de algunas bacterias y hongos comensales ilustran la importancia del mantenimiento del balance de la microbiota en la piel sana y las dificultades para desarrollar tratamientos tendientes a restaurar este balance en las dermatitis atópicas.

Psoriasis

La psoriasis es una enfermedad autoinmune de gran prevalencia en seres humanos, afectando al 2-5 % de la población mundial. Se trata de un trastorno inflamatorio crónico multiorgánico, con una patología bien caracterizada en piel, principalmente, y con menor frecuencia en articulaciones, agrupándose en distintas clases según su fenotipo. Esta enfermedad está asociada a la hiperplasia de los queratinocitos epidérmicos, la desregulación de la diferenciación de los queratinocitos, el aumento de la vascularización y la hiperactividad de las células inmunitarias epidérmicas. Todo esto se manifiesta en la inflamación de la dermis y epidermis, resultando en la formación de placas eritematosas delimitadas, cubiertas por capas blancas plateadas denominadas escamas, que producen picazón (Vilas Nikam y col., 2023). Aunque aún no se conoce con exactitud la etiología de la psoriasis, se considera que es multifactorial, resultando de una interacción compleja entre factores genéticos y ambientales, la alteración de la barrera cutánea y la disfunción inmunológica. Así, factores ambientales como la exposición a RUV, algunos medicamentos como ciertos agentes inmunomoduladores (imiquimod), antivirales, antidepresivos (litio), antihipertensivos (bloqueadores beta), tabaquismo, obesidad, alcoholismo, estrés e infecciones, combinados con factores genéticos, pueden iniciar y exacerbar la inflamación epidérmica (Hsu y col., 2020). La patogénesis de la enfermedad involucra interacciones entre células del sistema inmune innato, del sistema inmune adaptativo y queratinocitos, probablemente por la interacción entre la red de células dendríticas de la piel, los queratinocitos y los linfocitos T (principalmente Th17), que da lugar a una vía inmunitaria e inflamatoria responsable del inicio, progresión y persistencia de la enfermedad. Las lesiones escamosas de la psoriasis se caracterizan por una infiltración marcada de células T activadas, las cuales producen citoquinas inflamatorias. Particularmente, la IL-17A está muy asociada a la patogénesis de la enfermedad, la cual activa numerosas vías de inflamación en piel, conduciendo a la hiper-

proliferación de los queratinocitos y formación de las lesiones. Asimismo, en el contexto de la inflamación, los cambios en la permeabilidad de la barrera y el mayor contacto con los microorganismos comensales podrían promover aún más el proceso inflamatorio local (Belkaid y col., 2014).

No hay un tratamiento establecido para la cura de esta enfermedad, pero teniendo en cuenta el impacto negativo de la misma en la calidad de vida de los pacientes, las investigaciones están centrándose en nuevos enfoques, entre ellos, la regulación de la microbiota para mejorar las condiciones de la enfermedad. Al igual que otros desórdenes comunes de piel, como acné o dermatitis atópica, la psoriasis estaría asociada a la disbiosis de la microbiota de la piel (Chen y col., 2020). Numerosos trabajos han estudiado la estructura de las poblaciones bacterianas superficiales, en muestras obtenidas por hisopado de piel de pacientes con psoriasis y de individuos sanos, utilizando técnicas de secuenciación masiva, observando, en general, diferencias en los filos bacterianos dominantes en piel. Gao y col. (2008) informaron un aumento en la abundancia relativa de *Firmicutes* y *Bacteroidetes* y una disminución de *Actinobacteria* y *Proteobacteria* en pacientes enfermos con respecto a sanos. Asimismo, las principales diferencias observadas a nivel de género fueron el aumento de *Streptococcus* (*Firmicutes*) y la disminución de *Propionibacterium* (*Actinobacteria*) en la piel de individuos con psoriasis. Por otro lado, Martin y col. (2015) han informado un aumento de la abundancia relativa de *Xanthomonadaceae* (*Proteobacteria*), bacterias conocidas por ser queratolíticas, tras la mejoría clínica luego de un tratamiento de balneoterapia. Chang y col. (2018) informaron un aumento relativo de *S. aureus* en lesiones y piel no lesionada, y una disminución en la abundancia de *S. epidermis* y *C. acnes* en pacientes enfermos con respecto a controles sanos, sugiriendo que la disminución de estas dos bacterias inmunorreguladoras podrían conducir a una mayor colonización por patógenos como *S. aureus*, el cual podría exacerbar la inflamación cutánea a través de la polarización de los linfocitos Th17 observado en un modelo murino. Asimismo, proponen que la variación de la diversidad microbiana (diversidad alfa) dependería de las zonas del cuerpo, ya que observaron un aumento en piel de pacientes con psoriasis en las zonas secas, con una mayor tendencia en zonas sebáceas (cuero cabelludo), y una menor variación en la diversidad (o sin aumento) en las zonas húmedas.

Dos especies bacterianas propuestas como de gran relevancia y, cuya disminución estaría relacionada al desarrollo de la enfermedad son *Akkermansia muciniphila* (Tan y col., 2018) y *Faecalibacterium prausnitzii* (Eppinga y col., 2016). Estas bacterias son consideradas beneficiosas debido a la producción de AGCC, que ejercen funciones antiinflamatorias y protegen contra enferme-

dades inflamatorias sistémicas, como enfermedad inflamatoria intestinal, aterosclerosis y obesidad, y son vitales para el mantenimiento de la integridad de la barrera intestinal. Más allá de la microbiota bacteriana, algunos virus y hongos han sido relacionados a la enfermedad, aunque su estudio no está incluido en el presente capítulo.

Existe una variedad de tratamientos para la psoriasis, desde tópicos hasta sistémicos. Para las formas más graves de la enfermedad se utilizan tratamientos biológicos dirigidos, como inhibidores de $TNF\alpha$, IL-23 e IL-17, con distintos grados de eficacia y efectos secundarios. La literatura sugiere que estos tratamientos pueden afectar a la composición de la microbiota, y algunos pacientes hasta pueden no mostrar respuesta al tratamiento debido a diferencias en la microbiota (Jiraskova Zakolztelzka y col., 2023). La profundización de los estudios sobre los mecanismos patogénicos de la enfermedad, así como del rol de la microbiota intestinal y cutánea en el desarrollo de la psoriasis, llevará a una mejor comprensión de la patología. Esto abre caminos a nuevos tratamientos potenciales a través, por ejemplo, de la modulación de la microbiota mediante prebióticos, probióticos y otros bióticos, en búsqueda de una mejor calidad de vida de los pacientes.

Carcinoma

Los diferentes tipos de cáncer de piel representan el grupo de cánceres más comúnmente diagnosticados a nivel mundial, con más de 1,5 millones de nuevos casos estimados en 2020. Además del estrés genotóxico de la RUV, otros elementos como la inmunosupresión y la inflamación crónica sugieren que la microbiota cutánea es un factor de riesgo adicional aún inexplorado y un biomarcador potencial de esta enfermedad (Arnold y col., 2020).

Dentro de los diferentes tipos de carcinomas, el cáncer de piel no melanoma (NMSC, *Non-Melanoma Skin Cancer*), que incluye el carcinoma de células basales y de células escamosas (SCC, *Squamous Cell Carcinoma*) es el más frecuente, representando una gran preocupación sanitaria (Voigt y col., 2022). Por su parte el melanoma (cáncer que se genera en los melanocitos) es el carcinoma de piel más letal, con una estimación de 325 000 nuevos casos y 57 000 muertes a nivel mundial (Arnold y col., 2020). En las poblaciones de piel clara, las exposiciones a RUV actúan como un factor de riesgo tanto para NMSC como para melanoma, ya que provoca daños a nivel de ADN, genera especies reactivas de oxígeno y desencadena un aumento de citoquinas inflamatorias que causan inmunosupresión, con la consiguiente oncogénesis (Didona y col, 2018).

Debido a que la disbiosis de la microbiota se halla vinculada a la patogénesis de la enfermedad a través de la inmunosupresión y la inflamación crónica, sería posible establecer cómo la microbiota de la piel contribuye a las vías de carcinogénesis mediadas por inflamación. Si bien es un área de estudio incipiente, existen numerosos estudios que sugieren una posible relación entre estas patologías y los microbios que habitan la piel.

El melanoma maligno presenta diferentes subtipos en base al patrón de mutación somática y a la histopatología de los tejidos y, entre los diferentes componentes de la microbiota de la piel, algunos estudios sugieren que cepas específicas de *S. epidermidis* (coagulasa positivo) inhiben el desarrollo de células tumorales (Nakatsuji y col., 2018) mediante la síntesis de 6-N-hidroxi-aminopurina, sustancia que interfiere en la replicación de ADN de dichas células (Vergara y col., 2019). Por otro lado, los ácidos lipoteicoicos de *S. epidermidis* favorecen la supervivencia de melanocitos con daño por RUV-B mientras que *P. acnes* puede inhibir la supervivencia de melanocitos dañados por RUV-B mediante vías de apoptosis, secreción de coproporfirina y aumento de los niveles de TNF- α (Nakatsuji, y col., 2018). Esta especie bacteriana también ha sido relacionada a la reducción de tumores en estudios preclínicos, mediante la producción de citoquinas proinflamatorias del tipo Th1, como IL-12, TNF- α e TNF- γ (Ridaura y col., 2018). Por su parte, *Fusobacterium* (en particular, *F. nucleatum*) está asociada a la progresión de melanoma, ya que inhibe la citotoxicidad de células NK mediada por la proteína Fap2 (Gur y col., 2015). Otros géneros bacterianos como *Corynebacterium* también se han vinculado al progreso del melanoma en sus estadios avanzados, ya que parecen afectar su desarrollo a partir de un mecanismo dependiente de IL-17. Asimismo, dentro de los miembros del viroma de la piel, los virus de papiloma humano (VPH, *Human Papilloma Virus*) pueden considerarse un cofactor en el desarrollo de melanoma (Tsuda y col., 2011).

En cuanto a NMSC y, del mismo modo que para melanomas malignos, *S. epidermidis* también se ha relacionado a un efecto preventivo, evitando el aumento de *S. aureus* en pacientes con SCC (Nakatsuji y col., 2018). Cuando la barrera de la piel permanece intacta, *S. aureus* parece no infectar a un individuo inmunodeprimido, pero se detecta su predominio en algunas condiciones particulares donde la integridad de la piel está perturbada. *S. aureus* segrega diferentes factores de virulencia incluyendo la proteína PSM α , que causa la disrupción de la barrera e inflamación (Williams y col., 2019). Esto indicaría que la disfunción de la barrera en casos de SCC promueve la colonización efectiva de la piel por *S. aureus*, aunque la relación causal aún no ha sido dilucidada. Algunos estudios sugieren que el aumento de los niveles de *S.*

aureus va acompañado de una reducción en los niveles de la bacteria lipolítica *C. acnes* (Voigt y col., 2022), un habitante normal de las zonas sebáceas de la piel, reduciendo la secreción de péptidos antimicrobianos que evitan la invasión por patógenos, generando así un estado de disbiosis en la microbiota de la piel. En relación con la incidencia de diferentes cepas de VPH en NMSC, algunos trabajos asocian más de 200 subclases de VPH a daños en la piel y las mucosas y a SCC (Rollison y col., 2019), generando daño celular frente a la exposición a UVR. En particular, SCC está también asociado a una reducción en los niveles de *Malassezia* (Madhusudhan y col., 2020), un moho lipofílico comensal en que, a similitud de *C. acnes*, reduce sus niveles debido a la menor disponibilidad de sebo y al deterioro de la barrera cutánea, y que también inhibe el desarrollo de biofilms de *S. aureus* a partir de la secreción de proteasas (Li y col., 2018).

Por su parte, la variedad más prevalente de linfoma cutáneo es el de células T (CTCL, *Cutaneous T Cell Lymphoma*). Se trata de un linfoma no Hodgkin extranodal que se caracteriza por una acumulación de células T malignas restringidas a la piel, siendo la micosis fungoide y el síndrome de Sezary las formas más frecuentes. Diversos estudios asocian CTCL a *S. aureus*, determinando en 63 y 54 % de los pacientes la presencia de esta especie bacteriana en piel y nariz, respectivamente (Talpur y col., 2008). Asimismo, estreptococos β -hemolíticos, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas* son bacterias muy comúnmente detectadas en lesiones de CTCL (Zoschke y col. 2016), así como *Chlamydophila pneumoniae* y *Borrelia burgdorferi* (Mirvish y col., 2013). Un estudio reciente de secuenciación metagenómica puso en evidencia la presencia de *Corynebacterium* asociada a una reducción de *Cutibacterium* como una modificación de la microbiota cutánea asociada a esta patología (Harkins y col., 2021). Otro estudio usando secuenciación de 16S y metagenómica reveló una abundancia diferencial de ciertas bacterias, siendo *Staphylococcus argenteus* la especie más preponderante en lesiones de CTCL (Salava y col., 2019). Por último, también se observó la incidencia de ciertos virus (Epstein Barr, HTLV y herpesvirus) en la etiología del linfoma de células T (Pancake y col., 1995). Los resultados científicos sugieren una asociación de la microbiota con la carcinogénesis de la piel, pero la investigación es aún incipiente y, en parte, contradictoria. Se requieren estudios clínicos que hagan uso de las herramientas de secuenciación masiva para asegurar un conocimiento integral de esta compleja relación entre la microbiota humana y el hospedador. Este conocimiento permitirá el desarrollo de métodos efectivos de diagnóstico y detección precoz de cáncer de piel, así como el diseño de nuevos tratamientos, incluyendo el uso de probióticos específicos.

La salud de la piel y la microbiota intestinal (vía intestino–piel)

Tanto la piel como el intestino son órganos inmunológicos y neuroendocrinos activos y complejos que están expuestos al ambiente y albergan una amplia variedad de microorganismos. En particular, el intestino consta de billones de microorganismos que se asocian con la salud y la longevidad del hospedador (Mahmud y col., 2022) ejerciendo esta microbiota impactos tanto beneficiosos como adversos en la fisiología normal y la homeostasis de los tejidos intestinales y de la piel (O'Neill y col., 2016). De hecho, la existencia de una interacción bidireccional intestino-piel es cada vez más evidente, aunque los mecanismos que intervienen no han sido del todo elucidados.

Restringir el contacto entre microorganismos y la membrana epitelial intestinal para minimizar las respuestas inflamatorias y la translocación microbiana es crucial en la preservación de la homeostasis. Para lograrlo, la capa mucosa, células T, IgA y las células dendríticas participan activamente en la formación de esta barrera, limitando la translocación de bacterias comensales a los tejidos linfoides, previniendo la inflamación del intestino y la entrada de bacterias intestinales en el torrente sanguíneo, manteniendo al mismo tiempo la homeostasis de la piel (Macpherson y col., 2009). Estos tejidos linfoides se conocen generalmente como tejidos linfoides asociados al intestino (GALTs, por sus siglas en inglés *Gut-Associated Lymphoid Tissues*), y forman parte de los tejidos linfoides asociados a mucosas (MALTs, *Mucosa-Associated Lymphoid Tissues*), los cuales funcionan como una barrera entre el hospedador y el medio ambiente. Las células inmunes innatas de los GALT se encargan de la defensa de la mucosa intestinal mediante el reconocimiento de infecciones no específicas y la activación tanto del sistema inmune innato como el adaptativo.

Las placas de Peyer forman parte de los GALTs y son tejidos linfoides organizados que recubren interiormente las paredes del intestino delgado, conocidos como el sitio inductivo primario para la respuesta inmune de la mucosa (Ahluwalia y col., 2017). Tanto las citoquinas y células inmunes de las placas de Peyer pueden transportarse a través de la circulación a la piel, donde podrían modular el sistema inmunológico y mejorar los mecanismos de defensa, proporcionando un posible vínculo en la comunicación intestino-piel (Szántó y col., 2019).

La microbiota intestinal también interactúa con la piel regulando procesos inflamatorios locales y sistémicos a través del sistema inmune (Polkowska-Pruszyńska y col., 2020), y mantiene la integridad de la barrera intestinal mediante la producción de vitaminas (especialmente K y B12) y AGCC (ácidos grasos de cadena corta) a partir de polisacáridos complejos no digeribles

(LeBlanc y col., 2013; Scott y col., 2013). Los AGCC (propionato, butirato, acetato) son producidos por bacterias intestinales de los géneros *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Cutibacterium*, *Eubacterium*, *Lactobacillus* y *Prevotella*, entre otros, a partir de la fermentación de polisacáridos complejos (Cumplings y Macfarlane, 1997). Entre ellos, el butirato disminuye la permeabilidad y mejora la integridad de la barrera epitelial (De Pessemier y col., 2021). Los AGCC suprimen las respuestas inmunes al inhibir la proliferación de células inflamatorias y producción de citoquinas. Además regulan tanto la activación como la apoptosis de células inmunes (Salem y col., 2018), lo que promueve la proliferación de células reguladoras implicadas en la diferenciación de células madre del folículo piloso y la cicatrización de heridas (Meijer y col., 2010).

Otra teoría postula el aumento de la permeabilidad intestinal y la migración directa de bacterias desde el intestino hacia la circulación y otros órganos (Maguire y Maguire, 2017). Varios estudios encontraron un aumento del ADN bacteriano intestinal en el torrente sanguíneo de pacientes con enfermedades crónicas de la piel, lo que contribuye aún más a la respuesta inflamatoria (Codoñer y col., 2018). De manera similar, los subproductos metabólicos de las bacterias intestinales también pueden ingresar a la circulación y acumularse en la piel (Sinha y col., 2021). Así, los compuestos similares a hormonas que produce la microbiota intestinal, tales como ácidos biliares secundarios, cortisol, neurotransmisores como ácido γ -aminobutírico (GABA), serotonina, dopamina, y triptófano se liberan en el torrente sanguíneo y pueden actuar en órganos y sistemas distantes, como la piel (Clarke y col., 2014).

Otro mecanismo fue propuesto a principios del siglo XX por los dermatólogos Stokes y Pillsbury, quienes fueron los primeros en sugerir que el intestino y la piel se comunican con el cerebro (O'Neill y col., 2016). El GABA, la acetilcolina, la dopamina y la serotonina se encuentran entre los neurotransmisores producidos por los microorganismos del intestino, y pueden modular la función de la piel a través del sistema nervioso y generar efectos sistémicos al ingresar al torrente sanguíneo a través del epitelio intestinal (Lyte, 2014). La relación neuroendocrina entre el intestino y la microbiota de la piel entonces está impulsada por la capacidad de los microorganismos intestinales para estimular las vías neuronales a través de la producción de neurotransmisores, como la norepinefrina, la serotonina y la acetilcolina. Esto desencadena la liberación de hormonas de las células enteroendocrinas que conducen a efectos sistémicos generalizados e inflamación que impactan en la piel. En esta dirección, se ha observado que el aumento de serotonina puede desencadenar una respuesta de picazón y rascado, que es importante en la fisiopatología de la dermatitis atópica (Afzal y Shim, 2017). Sin embargo, existen otros neuro-

transmisores que desencadenan efectos negativos, como la dopamina, que inhibe el crecimiento capilar (Langan y col., 2013).

Asimismo, otros factores como los antibióticos, prebióticos, probióticos, estilos de vida, determinadas dietas, enfermedades y la edad pueden influir en la microbiota intestinal. Cambios en el balance de esta microbiota pueden llevar a un estado de disbiosis, inducir inflamación de la piel y provocar enfermedades como el acné, alopecia areata, dermatitis atópica, psoriasis, rosácea e hidradenitis supurativa (Mahmud y col., 2022).

Por otro lado, también se han descrito mecanismos que sugieren que cambios en la piel tienen efectos sobre enfermedades intestinales. La irradiación de la piel con RUV-B induce la expresión de β -endorfinas que tienen efectos analgésicos y pigmentarios (Juzeniene y Moan, 2012). La síntesis de vitamina D (reducida en enfermedades intestinales inflamatorias o IBD, por sus siglas en inglés, *Inflammatory Bowel Disease*) y ácido urocánico (suprime la inflamación en modelos de IBD) también se produce en respuesta a la irradiación de la piel (Kammeyer y col., 2012). Por lo tanto, la manipulación selectiva de la piel mediante agentes aplicados tópicamente o RUV, con su capacidad secretora y metabólica a menudo subestimada, puede ofrecer nuevas terapias adyuvantes en enfermedades gastrointestinales (O'Neill y col., 2016). La exposición de la piel a RUV y, por lo tanto, indirectamente a los niveles séricos de vitamina D, también aumentan la diversidad α y β de la microbiota intestinal (Bosman y col., 2019). Se vieron enriquecidas familias de bacterias y los niveles séricos de vitamina D se correlacionaron con la abundancia relativa de los géneros *Lachnospira* y *Fusicatenibacter*. Además, las alergias alimentarias pueden deberse a una barrera cutánea deteriorada: la dermatitis atópica sensibiliza a la alergia al maní debido a la exposición epicutánea a la proteína del maní en el polvo doméstico, lo que en última instancia conduce a la expansión de los mastocitos mediada por IgE en el intestino (Brough y col., 2015).

Asimismo, se encontró que *Malassezia restricta*, un hongo comensal común miembro de la microbiota de la piel, está asociado con la enfermedad de Crohn y se correlaciona con el aumento de la gravedad y exacerbación de la colitis (Limon y col., 2019).

A partir de todo lo expuesto, la relación bidireccional entre la microbiota del intestino y la piel resulta evidente, pero se requieren más estudios para conocer los mecanismos de acción que entran en juego en las condiciones de salud como de enfermedad. De esta manera, se podrían proponer nuevas intervenciones terapéuticas que permitan, por ejemplo, tratar procesos inflamatorios de la piel a través de tratamientos a nivel intestinal, y viceversa.

Proyecciones del conocimiento de la microbiota cutánea y su implicancia en salud

Los estudios evidencian que la microbiota cutánea está estrechamente relacionada con la salud y la patología de la piel. Estos estudios frecuentemente se limitan al análisis correlativo y resolución taxonómica; por lo tanto, es primordial que las investigaciones futuras utilicen métodos de secuenciación de vanguardia y modelos experimentales que permitan proporcionar una visión funcional de las interacciones hospedador–microorganismos en la piel. El desarrollo de modelos de microbiota cutánea adecuados es arduo debido a la complejidad y diversidad microbiana y a las interacciones dinámicas que existen entre ella y el hospedador. A pesar de que nuestra comprensión del papel fisiológico de la microbiota de la piel es limitada, se han propuesto estrategias para modular esta microbiota y mejorar la salud de la piel. Por analogía con el trasplante fecal, que podría ser una poderosa herramienta terapéutica para los trastornos digestivos, los estudios de trasplante de microbiota cutánea (Perin y col., 2019) podrían proporcionar un enfoque prometedor para el tratamiento de enfermedades, como la dermatitis atópica. Nakatsuji y col. (2017) probaron con éxito la transferencia de bacterias seleccionadas por su capacidad para inhibir *S. aureus* en pacientes con dermatitis atópica.

La aplicación del conocimiento en microbiota cutánea es de especial interés en la industria de la cosmeceútica. Esta industria está expectante a la generación de formulaciones que contengan prebióticos, probióticos, posbióticos, o ingredientes fitoquímicos amigables con la microbiota de la piel y capaces de restituir su homeostasis ante una disbiosis. Algunas patentes reportan cepas bacterianas que podrían mejorar el bienestar de la piel y con propiedades antienvjecimiento (*Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus thermophilus*, patentes KR20180121269 y KR20180121268; *Epidermidibacterium keratini*, patente WO201804224, y *Pseudoalteromonas antartica*, patente JP2018500279A). Sin embargo, los datos científicos que respaldan su eficacia no están disponibles. Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* se han estudiado por sus propiedades probióticas relacionadas con la homeostasis de la piel. Las especies evaluadas incluyeron *L. reuteri* (Khmaladze y col., 2019), *L. acidophilus* (Im y col., 2019), *L. plantarum* (Nam y col., 2019; Ong y col., 2019), *L. helveticus* (Rong y col., 2018), *L. rhamnosus* combinada con extracto de *Agastache rugosa* (Shin y col., 2018) y *Bifidobacterium breve* (Satoh y col., 2015).

Los fitoquímicos también han sido evaluados como moduladores de la microbiota cutánea. Formulaciones con extracto del fruto de *Hylocereus undatus* influyen positivamente en el equilibrio de la microbiota de la piel (*Liki*

Von Oppen-Bezalel y col., patente WO2016147189A1). De manera similar, Banerjee y col., (2019) controlaron la formulación de una emulsión en crema para aplicación tópica y consideraron su impacto en la flora comensal de la piel. También se estudiaron como moduladores de la microbiota cutánea los extractos bacterianos, como un extracto de *Shingomonas hydrophobicum* (Gervason y col., 2019), de *Pseudomonas taetrolens* (Goderska, 2019), de *Lactobacillus* (Skinolance®), péptidos prebióticos (ACTIBIOME™, FENSEBIOME™) o vitaminas, como niacinamida (patente de Univerler WO2019086327) con actividad prebiótica. En la práctica estos hallazgos podrían permitir diseñar tratamientos biológicos personalizados con bacterias que modulen la microbiota en condiciones de disbiosis microbiana. Sin embargo, la información sobre los posibles moduladores de la microbiota cutánea sigue siendo escasa a nivel mundial y sin conclusiones científicas tangibles.

Conclusiones

La microbiota de la piel alberga diversas especies microbianas que crean un rico y complejo ecosistema que proporciona muchos beneficios al hospedador, como se ha resaltado en este capítulo. Estos beneficios se derivan de sus interacciones con los diferentes componentes de la piel incluyendo otros microorganismos así como con células inmunes y no inmunes del hospedador. Es importante recalcar que los atributos beneficiosos de los microorganismos comensales de la piel son en muchos casos específicos de cepas. De este modo, la aplicación de microorganismos beneficiosos con el potencial de proporcionar mejoras en la prevención y tratamiento de enfermedades y trastornos de la piel debe investigarse a nivel de cepas específicas.

Referencias bibliográficas

- Afzal, R. & Shim, W.-S.** (2017). Glucosylsphingosine activates serotonin receptor 2a and 2b: implication of a novel itch signaling pathway. *Biomolecules & Therapeutics*, 25(5):497–503. 10.4062/biomolther.2016.207
- Ahluwalia, B., Magnusson, M.K. & Öhman, L.** (2017). Mucosal immune system of the gastrointestinal tract: maintaining balance between the good and the bad. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 52(11):1185–1193. 10.1080/00365521.2017.1349173
- Arnold, M., Singh, D. (...) & Bray, F.** (2022). Global burden of cutaneous melanoma in 2020 and projections to 2040. *JAMA Dermatology*, 158(5):495-503. 10.1001/jamadermatol.2022.0160

- Banerjee, K., Thiagarajan, N. & Thiagarajan P.** (2019). Formulation and characterization of a *Helianthus annuus* - alkyl polyglucoside emulsion cream for topical applications. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 18:628–637. 10.1111/jocd.12756
- Belkaid, Y. & Segre, J.A.** (2014). Dialogue between skin microbiota and immunity. *Science*. 346(6212):954-959. 10.1126/science.1260144
- Bosman, E.S., Albert, A.Y. (...) & Vallance, B.A.** (2019). Skin exposure to narrow band ultraviolet (UVB) light modulates the human intestinal microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 10:2410. 10.3389/fmicb.2019.02410
- Boxberger, M., Cenizo, V., Cassir, N., La Scola, B.** (2021). Challenges in exploring and manipulating the human skin microbiome. *Microbiome*. 9: 125. doi: 10.1186/s40168-021-01062-6
- Braverman, I.M.** (2000). The cutaneous microcirculation. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 5:3–9. 10.1046/j.1087-0024.2000.00010.x
- Brough, H.A., Liu, A.H. (...) & Lack, G.** (2015). Atopic dermatitis increases the effect of exposure to peanut antigen in dust on peanut sensitization and likely peanut allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135(1):164-170.e4. 10.1016/j.jaci.2014.10.007
- Chambers, E.S. & Vukmanovic-Stejic, M.** (2020). Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*, 160(2):116-125. 10.1111/imm.13152
- Chang, H.W., Yan, D. (...) & Liao, W.** (2018). Alteration of the cutaneous microbiome in psoriasis and potential role in Th17 polarization. *Microbiome*, 6(154). 10.1186/s40168-018-0533-1
- Chang, K.R., Tay, A.S. (...) & Nagarajan, N.** (2016). Whole metagenome profiling reveals skin microbiome-dependent susceptibility to atopic dermatitis flare. *Nature Microbiology*, 1(9):16106. 10.1038/nmicrobiol.2016.106
- Chang, P.V., Hao, L., Offermanns, S. & Medzhitov, R.** (2014). The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. *PNAS*, 111(6):2247-52. 10.1073/pnas.1322269111
- Chen, P., He, G. (...) & Xiao, R.** (2020). Potential role of the skin microbiota in inflammatory skin diseases. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 20(2):400-409. 10.1111/jocd.13538
- Chen, Y., Knight, R. & Gallo, R.L.** (2023). Evolving approaches to profiling the microbiome in skin disease. *Frontiers Immunology*, 14:1151527. 10.3389/fimmu.2023.1151527
- Clarke, G., Stilling, R.M. (...) & Dinan, T.G.** (2014). Minireview: Gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Molecular Endocrinology*, 28(8):1221–1238. 10.1210/me.2014-1108
- Claudel, J.P., Auffret, N. (...) & Dreno, B.** (2019). *Staphylococcus epidermidis*: a potential new player in the physiopathology of acne? *Dermatology*, 235(4):287-294. 10.1159/000499858
- Codoñer, F.M., Ramírez-Bosca, A. (...) & Chenoll, E.** (2018). Gut microbial composition in patients with psoriasis. *Scientific Reports* 8:3812. 10.1038/s41598-018-22125-y
- Cogen, A.L., Yamasaki, K. (...) & Gallo, R.L.** (2010). Selective antimicrobial action is provided by phenol-soluble modulins derived from *Staphylococcus epidermidis*, a normal resident of the skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 130:192-200. 10.1038/jid.2009.243
- Cummings, J.H. & Macfarlane, G.T.** (1997). Role of intestinal bacteria in nutrient metabolism. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 21(6):357–365. 10.1177/0148607197021006357.
- Cundell, A.M.** (2018). Microbial ecology of the human skin. *Microbial Ecology*, 76(1):113–20. 10.1007/s00248-016-0789-6

- De Pessemier, B., Grine, L. (...) & Callewaert, C.** (2021). Gut–Skin Axis: Current knowledge of the interrelationship between microbial dysbiosis and skin conditions. *Microorganisms*, 9(2):353. 10.3390/microorganisms9020353
- Didona, D., Paolino, G. (...) & Cantisani, C.** (2018). Non melanoma skin cancer pathogenesis overview. *Biomedicines*, 6(1):6. 10.3390/biomedicines6010006
- Dominguez-Bello, M.G., Costello, E.K. (...) & Knight, R.** (2010). Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *PNAS*, 107:11971–11975. 10.1073/pnas.1002601107
- Edslev, S.M., Agner, T. & Andersen, P. S.** (2020). Skin microbiome in atopic dermatitis. *Acta Dermato–Venereologica*, 100(12), 358–366. 10.2340/00015555-3514
- Eppinga, H., Sperna Weiland, C.J. (...) & Konstantinov, S.R.** (2016). Similar depletion of protective *Faecalibacterium prausnitzii* in psoriasis and inflammatory bowel disease, but not in hidradenitis suppurativa. *Journal of Crohn's and Colitis*. 10(9):1067–1075. 10.1093/ecco-jcc/jjw070
- Espinoza-Monje, M., Campos, J. (...) & García-Cancino, A.** (2021). Characterization of *Weissella viridescens* UCO-SMC3 as a potential probiotic for the skin: its beneficial role in the pathogenesis of acne vulgaris. *Microorganisms*, 9(7):1486. 10.3390/microorganisms9071486.
- Fang, J.Y., Wang, P.W. (...) & Pan, T.L.** (2016). Skin aging caused by intrinsic or extrinsic processes characterized with functional proteomics. *Proteomics*, 16: 2718–2731. 10.1002/pmic.201600141
- Feuillie, C., Vitry, P. (...) & Dufrière YF.** (2018). Adhesion of *Staphylococcus aureus* to corneocytes from atopic dermatitis patients is controlled by natural moisturizing factor levels. *mBio*, 9:e01184e18. 10.1128/mBio.01184-18
- Findley, K., Oh, J. (...) & Segre J.A.** (2013). Topographic diversity of fungal and bacterial communities in human skin. *Nature*, 498: 367–370. 10.1038/nature12171
- Fitz-Gibbon, S., Tomida, S. (...) & Li, H.** (2013). *Propionibacterium acnes* strain populations in the human skin microbiome associated with acne. *Journal of Investigative Dermatology*, 133:2152–2160. 10.1038/jid.2013.21
- Flowers, L. & Grice, E.A.** (2020). The skin microbiota: balancing risk and reward. *Cell Host Microbe*, 28(2):190–200. 10.1016/j.chom.2020.06.017.
- Fore-Pfliger, J.** (2004). The epidermal skin barrier: Implications for the wound care practitioner, part 1. *Advances in Skin & Wound Care*, 17:417–425. 10.1097/00129334-200410000-00011
- Gao, Z., Tseng, C. (...) & Blaser, M.J.** (2008). Substantial alterations of the cutaneous bacterial biota in psoriatic lesions. *PLoS ONE*, 3(7): e2719. 10.1371/journal.pone.0002719
- Gensollen, T., Iyer, S.S., Kasper, D.L. & Blumberg, R.S.** (2016). How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science*, 352: 539–544. 10.1126/science.aad9378
- Gervason, S., Napoli, M. (...) & Filaire E.** (2019). Attenuation of negative effects of senescence in human skin using an extract from *Shingomonas hydrophobicum*: development of new skin care solution. *International Journal of Cosmetic Science*, 41(4):391–397. 10.1111/ics.12534
- Goderska, K.** (2019). The antioxidant and prebiotic properties of lactobionic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103:3737–3751. 10.1007/s00253-019-09754-7

- Gómez de Agüero, M., Ganal-Vonarburg, S.C. (...) & Macpherson A.J.** (2016). The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. *Science*, 351:1296–1302. 10.1126/science.aad2571
- Grice, E.A. & Segre, J.A.** (2011). The skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 9(8):626. 10.1038/nrmicro2537
- Grice, E.A., Kong, H.H. (...) & Segre, J.A.** (2008). A diversity profile of the human skin microbiota. *Genome Research*, 18(7):1043-50. 10.1101/gr.075549.107
- Grice, E.A., Kong, H.H. (...) & Segre, J.A.** (2009). Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*, 324(5931):1190-1192. 10.1126/science.1171700
- Gur, C., Ibrahim, Y. (...) & Mandelboim, O.** (2015). Binding of the Fap2 protein of *Fusobacterium nucleatum* to human inhibitory receptor TIGIT protects tumors from immune cell attack. *Immunity*, 42(2):344–355. 10.1016/j.immuni.2015.01.010
- Han, X.Y., Pham, A.S. (...) & Levett, P.N.** (2003). Bacteriologic characterization of 36 strains of *Roseomonas* species and proposal of *Roseomonas mucosa* and *Roseomonas gilardii* subsp. *rosea*. *American Journal of Clinical Pathology* 120:256–264. 10.1309/731V-VGVC-KK35-1Y4J
- Hannigan, G.D., Meisel J.S. (...) & Grice E.A.** (2015). The human skin double-stranded dna virome: topographical and temporal diversity, genetic enrichment, and dynamic associations with the host microbiome. *mBio*, 6:e01578-15. 10.1128/mBio.01578-15
- Harkins, C. P., MacGibeny, M. A. (...) & Rozati, S.** (2021). Cutaneous T-cell lymphoma skin microbiome is characterized by shifts in certain commensal bacteria but not viruses when compared with healthy controls. *Journal of Investigative Dermatology*, 141(6):1604–1608. 10.1016/j.jid.2020.10.021
- Harris-Tryon, T.A. & Grice, E.A.** (2022). Microbiota and maintenance of skin barrier function. *Science*, 376(6596):940-945. 10.1126/science.abo0693
- Hepworth, M.R., Monticelli, L.A. (...) & Sonnenberg, G.F.** (2013). Innate lymphoid cells regulate CD4(+) T-cell responses to intestinal commensal bacteria. *Nature*, 498(7452):113–117. 10.1038/nature12240
- Hsu, D.K., Fung, M.A. & Chen, H.-L.** (2020). Role of skin and gut microbiota in the pathogenesis of psoriasis, an inflammatory skin disease. *Medicine in Microecology*, 4, <https://doi.org/10.1016/j.medmic.2020.100016>
- Huang, S., Haiminen, N. (...) & Xu Z.Z.** (2020). Human skin, oral, and gut microbiomes predict chronological age. *mSystems*, 5: e00630-19. 10.1128/mSystems.00630-19
- Im, A., Lee, B., Kang, D. & Chae S.** (2019). Protective effects of tyndallized *Lactobacillus acidophilus* IDCC 3302 against UVB-induced photodamage to epidermal keratinocytes cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 43(6):2499-2506. 10.3892/ijmm.2019.4161
- Jiraskova Zakostelska, Z., Reiss, Z. (...) & Rob, P.** (2023). Paradoxical reactions to anti-TNF α and anti-IL-17 treatment in psoriasis patients: are skin and/or gut microbiota involved? *Dermatologic Therapy*, 13, 911–933. 10.1007/s13555-023-00904-4
- Jugé, R., Rouaud-Tinguely, P. (...) & Closs, B.** (2018). Shift in skin microbiota of Western European women across aging. *Journal of Applied Microbiology*, 125: 907–916. 10.1111/jam.13929
- Juzeniene, A. & Moan, J.** (2012). Beneficial effects of UV radiation other than via vitamin D production. *Dermato-Endocrinology*, 4(2):109–117. 10.4161/derm.20013

Kammeyer, A., Peters, C.P. (...) & te Velde, A.A. (2012). Anti-inflammatory effects of urocanic acid derivatives in models *ex vivo* and *in vivo* of inflammatory bowel disease. *ISRN Inflammation*, 2012:1–8. 10.5402/2012/898153

Kanitakis, J. (2002). Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology*, 12:390–401.

Khmaladze, I., Butler, É., Fabre, S. & Gillbro, J.M. (2019). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938—a comparative study on the effect of probiotics and lysates on human skin. *Experimental Dermatology*, 28:822–828. 10.1111/exd.13950

Kim, H.J., Kim, J.J. (...) & Sul, W.J. (2019). Segregation of age-related skin microbiome characteristics by functionality. *Scientific Reports*, 9:16748. 10.1038/s41598-019-53266-3

Kim, H.J., Oh, H.N. (...) & Sul, W.J. (2022). Aged related human skin microbiome and mycobium in Korean women. *Scientific Reports*, 12: 2351. 10.1038/s41598-022-06189-5

Koh, L.F., Ong, R.Y. & Common, J.E. (2022). Skin microbiome of atopic dermatitis. *Allergology International* 71(1):31-39. 10.1016/j.alit.2021.11.001

Lai, Y., Cogen, A.L. (...) & Gallo, R.L. (2010). Activation of TLR2 by a small molecule produced by *Staphylococcus epidermidis* increases antimicrobial defense against bacterial skin infections. *Journal of Investigative Dermatology*, 130:2211-2221.

Langan, E.A., Lisztes, E. (...) & Paus, R. (2013). Dopamine is a novel, direct inducer of catagen in human scalp hair follicles *in vitro*. *British Journal of Dermatology*, 168(3):520–525. 10.1111/bjd.12113

LeBlanc, J.G., Milani, C. (...) & Ventura, M. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(2):160–168. 10.1016/j.copbio.2012.08.005

Li, H., Goh, B. N. (...) & Dawson, T. L. (2018). Skin commensal *Malassezia globosa* secreted protease attenuates *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *Journal of Investigative Dermatology*, 138(5):1137–1145. 10.1016/j.jid.2017.11.034

Li, Z., Bai, X. (...) & Hu D. (2020). New insights into the skin microbial communities and skin aging. *Frontiers in Microbiology*, 11:565549. 10.3389/fmicb.2020.565549

Limon, J.J., Tang, J. (...) & Underhill, D. M. (2019). *Malassezia* is associated with Crohn's disease and exacerbates colitis in mouse models. *Cell Host & Microbe*, 25(3):377-388.e6. 10.1016/j.chom.2019.01.007

Liu, H., Archer, N.K. (...) & Miller LS. (2017). *Staphylococcus aureus* epicutaneous exposure drives skin inflammation via IL-36-mediated T cell responses. *Cell Host & Microbe*, 22:653–666.

Lunjani, N., Hlela, C. & O'Mahony, L. (2019). Microbiome and skin biology. *Current Opinion in Allergy Clinical Immunology*, 19(4): 328–333. 10.1097/ACI.0000000000000542

Lyte, M. (2014). Microbial endocrinology and the microbiota-gut-brain axis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 817:3–24. 10.1007/978-1-4939-0897-4_1

Macpherson, A.J., Slack, E. (...) & McCoy, K. D. (2009). The mucosal firewalls against commensal intestinal microbes. *Seminars in Immunopathology*, 31(2):145–149. 10.1007/s00281-009-0174-3

Madhusudhan, N., Pausan, M. R. (...) & Gorkiewicz, G. (2020). Molecular profiling of keratinocyte skin tumors links *Staphylococcus aureus* overabundance and increased human β -defensin-2 expression to growth promotion of squamous cell carcinoma. *Cancers*, 12(3):541. 10.3390/cancers12030541

- Maguire, M. & Maguire, G.** (2017). The role of microbiota, and probiotics and prebiotics in skin health. *Archives of Dermatological Research*, 309(6):411–421. 10.1007/s00403-017-1750-3
- Mahmud, M.R., Akter, S. (...) & Pirttilä, A.M.** (2022). Impact of gut microbiome on skin health: gut-skin axis observed through the lenses of therapeutics and skin diseases. *Gut Microbes*, 14(1):2096995. 10.1080/19490976.2022.2096995.
- Makrantonaki, E., Ganceviciene, R. & Zouboulis, C.** (2011). An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne. *Dermatoendocrinology*, 3:41-49. 10.4161/derm.3.1.13900
- Marakami, M., Ohtake, T. (...) & Gallo, R.L.** (2002). Cathelicidin anti-microbial peptide expression in sweat, an innate defense system for the skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 119:1090–1095. 10.1046/j.1523-1747.2002.19507.x
- Martin, R., Henley, J.B. (...) & Seité, S.** (2015). Skin microbiome in patients with psoriasis before and after balneotherapy at the thermal care center of La Roche-Posay. *Journal of Drugs in Dermatology*, 14(12):1400-1405.
- McLoughlin, I.J., Wright, E. M. (...) & Hale, J.D.F.** (2021). Skin microbiome-The next frontier for probiotic intervention. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 12:11. 10.1007/s12602-021-09824.1
- Meijer, K., de Vos, P. & Priebe, M.G.** (2010). Butyrate and other short-chain fatty acids as modulators of immunity: what relevance for health? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13(6):715–721. 10.1097/MCO.0b013e32833eebe5
- Mirvish, J. J., Pomerantz, R. G. (...) & Geskin, L. J.** (2013). Role of infectious agents in cutaneous T-cell lymphoma: facts and controversies. *Clinics in Dermatology*, 31(4):423–431. 10.1016/j.clindermatol.2013.01.009
- Myles, I.A., Earland, N.J. (...) & Datta SK.** (2018). First-in-human topical microbiome transplantation with *Roseomonas mucosa* for atopic dermatitis. *JCI Insight*, 3:e120608. 10.1172/jci.insight.120608
- Myles, I.A., Williams, K.W. (...) & Datta SK.** (2016). Transplantation of human skin microbiota in models of atopic dermatitis. *JCI Insight*, 1(10):e86955. 10.1172/jci.insight.86955. 10.1172/jci.insight.86955
- Nakatsuji, T., Chen, T. Y. (...) & Gallo, R. L.** (2018). A commensal strain of *Staphylococcus epidermidis* protects against skin neoplasia. *Science Advances*, 4(2): eaao4502. 10.1126/sciadv.aao4502
- Nakatsuji, T., Chiang, H.I. (...) & Gallo, R.L.** (2013). The microbiome extends to subepidermal compartments of normal skin. *Nature Communications*, 4(1):1431. 10.1038/ncomms2441
- Nakatsuji, T., Chen, T.H. (...) & Gallo, R.L.** (2017). Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against *Staphylococcus aureus* and are deficient in atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*, 9(378):4680. 10.1126/scitranslmed.aah4680
- Nam, B., Kim, S.A. (...) & Jang SS.** (2019). *Lactobacillus plantarum* HY7714 restores TNF- α induced defects on tight junctions. *Preventive Nutrition and Food Science*, 24:64-69. 10.3746/pnf.2019.24.1.64
- Nguyen, A.V. & Soulika, A.M.** (2019). The dynamics of the skin's immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8):1811. 10.3390/ijms20081811
- Nowicka, D. & Nawrot, U.** (2019). Contribution of *Malassezia* spp. to the development of atopic dermatitis. *Mycoses*, 62:588e96. 10.1111/myc.12913

- O'Neill, A.M., Nakatsuji, T. (...) & Gallo, R.L.** (2020). Identification of a human skin commensal bacterium that selectively kills *Cutibacterium acnes*. *Journal of Investive Dermatology*, 140(8):1619-1628.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2019.12.026>
- O'Neill, C.A., Monteleone, G. (...) & Paus, R.** (2016). The gut-skin axis in health and disease: A paradigm with therapeutic implications. *BioEssays*, 38(11):1167–1176. 10.1002/bies.201600008
- Oaklander, A.L. & Siegel, S.M.** (2005). Cutaneous innervation: form and function. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 53:1027–1037. 10.1016/j.jaad.2005.08.049
- Oh, J., Byrd, A., (...) & Segre JA.** (2014). Biogeography and individuality shape function in the human skin metagenome. *Nature*, 514:59-64. 10.1038/nature13786
- Oh, J., Byrd, A.L. (...) & Segre, J.A.** (2016). Temporal stability of the human skin microbiome. *Cell*, 165: 854–866.
- Oh, J., Conlan, S., Polley, E.C. (...) & Kong, H.H.** (2012). Shifts in human skin and nares microbiota of healthy children and adults. *Genome Medicine*, 4(10):77. 10.1186/gm378.
- Ong, J.S., Taylor, T.D. (...) & Liong M.T.** (2019). *Lactobacillus plantarum* USM8613 aids in wound healing and suppresses *Staphylococcus aureus* infection at wound sites. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 12: 125-137. 10.1007/s12602-018-9505-9
- O'Sullivan, J.N., Rea, M.C., O'Connor, P.M., Hill, C. & Ross, R.P.** (2019). Human skin microbiota is a rich source of bacteriocin-producing staphylococci that kill human pathogens. *FEMS Microbiology and Ecology*, 95(2):fyi241. 10.1093/femsec/fyi241
- Pammi, M., O'Brien, J.L. (...) & Petrosino, JF.** (2017). Development of the cutaneous microbiome in the preterm infant: a prospective longitudinal study. *PLoS One*. 12(4):e0176669.
- Pancake, B. A., Zucker-Franklin, D. & Coutavas, E. E.** (1995). The cutaneous T cell lymphoma, mycosis fungoides, is a human T cell lymphotropic virus-associated disease. A study of 50 patients. *Journal of Clinical Investigation*, 95(2):547–554. 10.1172/JCI117697
- Park, J., Schwardt, N.H. (...) & Kong, H.H.** (2022). Shifts in the skin bacterial and fungal communities of healthy children transitioning through puberty. *Journal of Investigative Dermatology*, 142:212-219. Doi: 10.1016/j.jid.2021.04.034
- Pérez-Munoz, M.E., Arrieta, M.C. (...) & Walter, J.** (2017). A critical assessment of the «sterile womb» and «in utero colonization» hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*, 5:48. 10.1186/s40168-017-0268-4
- Perin, B., Addetia, A. & Qin X.** (2019). Transfer of skin microbiota between two dissimilar autologous microenvironments: a pilot study. *PLoS ONE*. 14:e0226857. 10.1371/journal.pone.0226857
- Polkowska-Pruszyńska, B., Gerkowicz, A. & Krasowska, D.** (2020). The gut microbiome alterations in allergic and inflammatory skin diseases – an update. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 34(3):455–464. 10.1111/jdv.15951
- Prohic, A., Jovovic Sadikovic, T., Krupalija-Fazlic, M. & Kuskunovic-Vlahovljak, S.** (2016). *Malassezia* species in healthy skin and in dermatological conditions. *International Journal of Dermatology*, 55:494e504. 10.1111/ijd.13116
- Ramsey, M.M., Freire, M.O. (...) & Lemon, K.P.** (2016). *Staphylococcus aureus* shifts toward commensalism in response to *Corynebacterium* species. *Frontiers in Microbiology*, 7:1230. 10.3389/fmicb.2016.01230

- Rassner, U., Feingold, K.R. (...)** & **Elias, P.M.** (2000). Coordinate assembly of lipids and enzyme proteins into epidermal lamellar bodies. *Tissue Cell*, 31:489–98. 10.1054/tice.1999.0050
- Ridaura, V. K., Bouladoux, N. (...)** & **Belkaid, Y.** (2018). Contextual control of skin immunity and inflammation by *Corynebacterium*. *Journal of Experimental Medicine*, 215(3):785–799. 10.1084/jem.20171079
- Rollison, D. E., Viariso, D. (...)** & **Tommasino, M.** (2019). An emerging issue in oncogenic virology: the role of beta human *Papillomavirus* types in the development of cutaneous squamous cell carcinoma. *Journal of Virology*, 93(7): e01003-18. 10.1128/JVI.01003-18
- Rong, J., Liu, S., Hu, C., Jin, F. & Wang, L.** (2018). Oral intake of *Lactobacillus helveticus* NS8 alleviates ovalbumin-induced atopic dermatitis in SKH-1 hairless mice. *Indian Journal of Microbiology*, 58:312–318. 10.1007/s12088-018-0724-2
- Russell, S.L., Gold, M.J. (...)** & **Finlay, B.B.** (2012). Early life antibiotic-driven changes in microbiota enhance susceptibility to allergic asthma. *EMBO Reports*, 13: 440–447. doi: 10.1038/embor.2012.32
- Salava, A., Deptula, P. (...)** & **Lauerma, A.** (2019). Skin microbiome in cutaneous T-cell lymphoma by 16S and whole-genome shotgun sequencing. *Journal of Investigative Dermatology*, 140(11):2304-2308.e7. 10.1016/j.jid.2020.03.951
- Salem, I., Ramser, A. (...)** & **Ghannoum, M.A.** (2018). The gut microbiome as a major regulator of the gut-skin axis. *Frontiers in Microbiology*, 9:1459. 10.3389/fmicb.2018.01459
- Sánchez Rodríguez, R., Pauli, M.L. (...)** & **Rosenblum, M.D.** (2014). Memory regulatory T cells reside in human skin. *Journal of Clinical Investigation*, 124(3):1027-36. 10.1172/JCI72932
- Sanford, J.A., O’Neill, A.M., Zouboulis, C.C. & Gallo, R.L.** (2019). Short-chain fatty acids from *Cutibacterium acnes* activate both a canonical and epigenetic inflammatory response in human sebocytes. *Journal of Immunology*, 202(6):1767-1776. 10.4049/jimmunol.1800893
- Satoh, T., Murata, M. (...)** & **Xiao, J.Z.** (2015). Effect of *Bifidobacterium breve* B-3 on skin photoaging induced by chronic UV irradiation in mice. *Beneficial Microbes*, 6:497–504. 10.3920/BM2014.0134
- Schneider, A.M., Nolan, Z.T. (...)** & **Nelson, A.M.** (2023). Evolution of the facial skin microbiome during puberty in normal and acne skin. *Journal of European Academy of Dermatology & Venereology*, 37:166-175. 10.1111/jdv.18616
- Scott, K.P., Gratz, S.W. (...)** & **Duncan, S.H.** (2013). The influence of diet on the gut microbiota. *Pharmacological Research*, 69(1):52–60. 10.1016/j.phrs.2012.10.020
- Shibagaki, N., Suda, W. (...)** & **Hattori M.** (2017). Aging-related changes in the diversity of women’s skin microbiomes associated with oral bacteria. *Scientific Reports*, 7(1):10567. 10.1038/s41598-017-10834-9
- Shin, D., Lee, Y. (...)** & **Lim C.J.** (2018). Probiotic fermentation augments the skin anti-photoaging properties of *Agastache rugosa* through up-regulating antioxidant components in UV-B-irradiated HaCaT keratinocytes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18:196. 10.1186/s12906-018-2194-9
- Sinha, S., Lin, G. & Ferenczi, K.** (2021). The skin microbiome and the gut-skin axis. *Clinics in Dermatology*, 39(5):829–839. 10.1016/j.clindermatol.2021.08.021

- Smythe, P. & Wilkinson, H.N.** (2023). The skin microbiome: current landscape and future opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4):3950. 10.3390/jjms24043950
- Szántó, M., Dózsa, A. (...) & Bai, P.** (2019). Targeting the gut–skin axis- Probiotics as new tools for skin disorder management? *Experimental Dermatology*, 28(11):1210–1218. 10.1111/exd.14016
- Talpur, R., Bassett, R. L. & Duvic, M.** (2008). Prevalence and treatment of *Staphylococcus aureus* colonization in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome. *British Journal of Dermatology*, 159(1):105–112. 10.1111/j.1365-2133.2008.08612.x
- Tan, L., Zhao, (...) & Peng, C.** (2018). The *Akkermansia muciniphila* is a gut microbiota signature in psoriasis. *Experimental Dermatology*, 27:144–149. 10.1111/exd.13463
- Tsuda, K., Yamanaka, K. (...) & Mizutani, H.** (2011). Intratumoral injection of *Propionibacterium acnes* suppresses malignant melanoma by enhancing Th1 immune responses. *PLoS One*, 6(12):e29020. 10.1371/journal.pone.0029020
- Vergara, D., Simeone, P. (...) & Trerotola, M.** (2019). The cancer microbiota: EMT and inflammation as shared molecular mechanisms associated with plasticity and progression. *Journal of Oncology*, 20:1–16. 10.1155/2019/1253727
- Vilas Nikam, R., Gowtham, M. (...) & Sanjay Shinde A.** (2023). Current and emerging prospects in the psoriatic treatment. *International Immunopharmacology*, 120(2023):110331. 10.1016/j.intimp.2023.110331
- Voigt, A. Y., Emiola, A. (...) & Oh, J.** (2022). Skin microbiome variation with cancer progression in human cutaneous squamous cell carcinoma. *Journal of Investigative Dermatology*, 142(10):2773-2782. 10.1016/j.jid.2022.03.017
- Wilantho, A., Deekaew, P. (...) & Somboonna, N.** (2017). Diversity of bacterial communities on the facial skin of different age-group Thai males. *PeerJ*, 5:e4084. 10.7717/peerj.4084.
- Wilkinson, H.N. & Hardman, M.J.** (2021). A role for estrogen in skin ageing and dermal biomechanics. *Mechanisms of Ageing and Development*, 197:111513. 10.1016/j.mad.2021.111513
- Williams, M., Costa, S. (...) & Gallo, R. L.** (2019). Quorum sensing between bacterial species on the skin protects against epidermal injury in atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*, 11(490):eaat8329. 10.1126/scitranslmed.aat8329
- Xia, X., Li, Z. (...) & Lai Y.** (2016). Staphylococcal LTA-induced miR-143 inhibits *Propionibacterium acnes*-mediated inflammatory response in skin. *Journal of Investive Dermatology*, 136(3):621-630. 10.1016/j.jid.2015.12.024
- Zhang, C., Merana, G.R., Harris-Tryon, T. & Scharschmidt, T.C.** (2022). Skin immunity: dissecting the complex biology of our body's outer barrier. *Mucosal Immunology*, 15(4):551-561. 10.1038/s41385-022-00505-y
- Zheng, Y., Wang, Q. (...) & Song, L.** (2019). Alterations in the skin microbiome are associated with disease severity and treatment in the perioral zone of the skin of infants with atopic dermatitis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38:1677-1685. 10.1007/s10096-019-03598-9

Zhu, T., Liu, X. (...) & Quan ZX. (2019). Age and mothers: potent influences of children's skin microbiota. *Journal of Investive Dermatology*, 139(12):2497-2505e6. 10.1016/j.jid.2019.05.018

Zoschke, C., Ulrich, M. (...) & Schäfer-Korting, M. (2016). The barrier function of organotypic non-melanoma skin cancer models. *Journal of Controlled Release*, 233:10–18. 10.1016/j.jconrel.2016.04.037

Capítulo 10

Probióticos: de la microbiota humana al consumidor

Juan M. Rodríguez

Introducción

En los últimos años, el campo de los probióticos ha experimentado un gran auge, lográndose avances científicos y clínicos que han permitido el desarrollo y comercialización de diversos productos. Paralelamente, ha aumentado la demanda de probióticos por parte de unos consumidores cada vez más conscientes de la estrecha relación entre la microbiota y la salud. Desafortunadamente, algunas compañías han aprovechado esta coyuntura para aplicar el término «probiótico» a productos sin la calidad adecuada y/o cuyos presuntos beneficios carecen de evidencias científicas. Este mal uso se vio favorecido durante décadas por la ausencia de consenso internacional sobre la metodología para evaluar la eficacia y seguridad de estos productos.

En 2001, una comisión de expertos convocados por la FAO y la OMS reconoció esta situación y propuso una definición de probiótico que, con una ligera modificación gramatical en 2014 (Hill y col., 2014), es ampliamente aceptada en todo el mundo: «microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del hospedador» (FAO/WHO, 2001). En 2002, un grupo de trabajo mixto de la FAO y la OMS elaboró unas directrices con los requerimientos mínimos necesarios para que a un producto se le pudiera denominar probiótico (FAO/WHO, 2002) (figura 1).

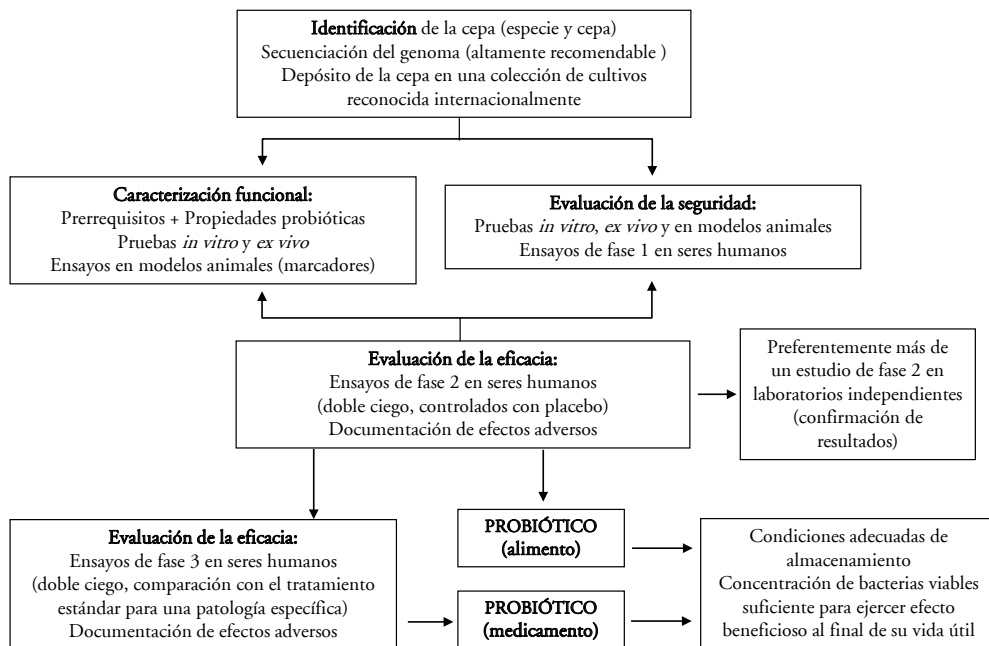


Figura 1. Directrices de la FAO/OMS para la evaluación de los probióticos (FAO/WHO, 2002)

El proceso desde el aislamiento inicial de cepas a partir de muestras biológicas hasta la comercialización de un probiótico eficaz para una diana específica no resulta sencillo (figura 2). Tiene que contemplar diversos aspectos (científicos, clínicos, tecnológicos, legislativos, económicos, comunicativos...) que en muchas ocasiones no son fáciles de conjugar. Recientemente, se ha empleado el término «marco probiótico» para hacer referencia a todos los sectores implicados en que el conocimiento existente sobre los probióticos se traduzca en productos que supongan un beneficio para la Sociedad (Hill y col., 2014). Así, de los miles de cepas aisladas cada año por su potencial probiótico en los laboratorios de todo el mundo, muy pocas pasan a una fase de desarrollo industrial y muchas menos aún son las que consiguen un hueco en los estantes de una farmacia o establecimiento alimentario.

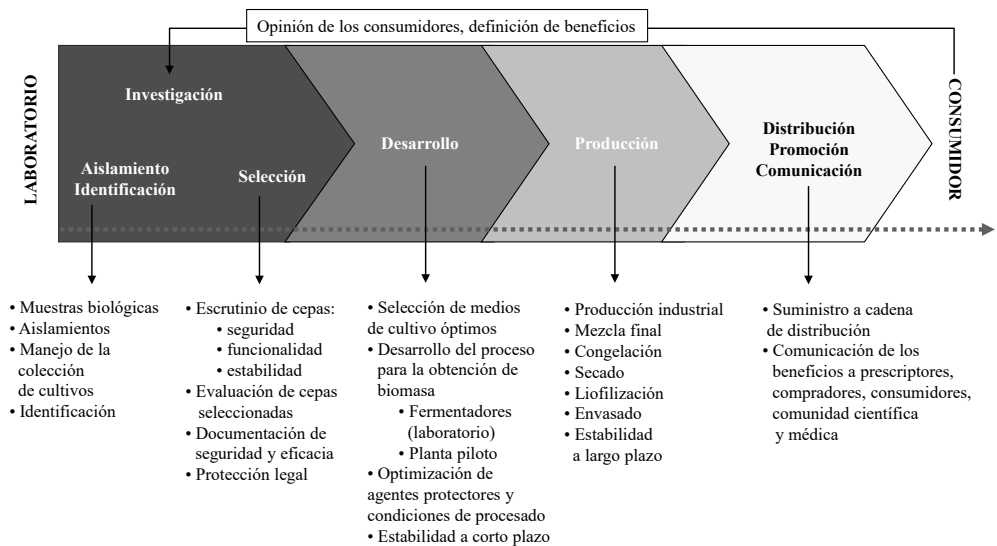


Figura 2. Etapas básicas desde el aislamiento inicial hasta la comercialización de un probiótico

Identificación de los microorganismos probióticos

La identificación de un aislado a nivel de especie y cepa es un requisito esencial para cualquier aislado que se pretenda comercializar. La taxonomía microbiana está en constante evolución y la determinación de especie debe realizarse (y, eventualmente, reevaluarse) con la metodología más adecuada en cada momento. Aunque las pruebas fenotípicas (fermentación de carbohidratos, actividades enzimáticas...) fueron muy útiles cuando no existían otros métodos alternativos, actualmente no son válidas desde el punto de vista taxonómico. Hoy, la secuenciación parcial o completa del gen 16S rRNA (bacterias) o de la región ITS (levaduras) se ha convertido, junto con la tecnología de espectrometría de masas MALDI-TOF, en el método estándar de identificación a nivel de especie.

La identificación de un aislado a nivel de cepa es igualmente relevante porque posibilita su diferenciación del resto de cepas de una misma especie y permite su trazabilidad en pruebas de laboratorio, ensayos clínicos, estudios epidemiológicos y durante todo el proceso de producción y comercialización. A pesar de la disponibilidad de diversas técnicas de genotipado (RAPD, PFGE, etc.), la secuencia del genoma completo (incluyendo plásmidos) es la mejor

información posible para la identificación de una cepa, además de proporcionar información muy valiosa sobre su seguridad, funcionalidad y propiedades de interés tecnológico. De hecho, se ha convertido en un requisito para cualquier cepa que se quiera comercializar. Una cepa se debe depositar en una colección de referencia bajo las condiciones del Tratado de Budapest cuando se deseen patentar sus aplicaciones.

Seguridad de la cepa

Los microorganismos utilizados como probióticos incluyen a la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y a bacterias de los géneros *Lactobacillus* (incluyendo muchos de los nuevos géneros en los que se reclasificó en 2020; Zheng y col., 2020) y *Bifidobacterium*, aunque algunos productos pueden incluir cepas de *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Cutibacterium*, *Bacillus* y *Escherichia*. El uso preferencial de lactobacilos y bifidobacterias se debe, por una parte, a que se les considera seguros sobre la base de su uso histórico por parte de la especie humana y, por otra, a que son los microorganismos que más se han ensayado y, en consecuencia, su seguridad y sus propiedades beneficiosas están más contrastadas.

No obstante, los probióticos se emplean en un abanico muy amplio de situaciones, que incluye individuos sanos, personas sanas en una situación especial (neonatos, mujeres embarazadas o lactantes, ancianos...) y otras con patologías de distintos tipos y severidades. En consecuencia, la evaluación de la seguridad debe tener en cuenta, entre otros factores, el microorganismo en cuestión, la forma de administración, el nivel de exposición, el estado de salud del hospedador y las funciones que pueden desempeñar en el mismo (Sanders y col., 2010).

Los casos en los que se ha establecido una relación entre el consumo de un probiótico y un efecto adverso son escasos y han afectado a personas inmunocomprometidos, con enfermedades graves subyacentes, con la barrera intestinal muy alterada y/o con catéteres venosos centrales. Esta baja incidencia es destacable teniendo en cuenta el amplio uso de este tipo de productos pero, en cualquier caso, se debe considerar la posibilidad de que se produzcan (Lerner y col., 2019). Existen numerosos tipos de ensayos *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* (modelos animales) para evaluar la seguridad de los probióticos. En general, resultan útiles para tener más información y seleccionar las cepas más seguras aunque los únicos datos que permiten evaluar la seguridad de un probiótico de una forma directa y real son los que se obtienen en el curso de

ensayos clínicos humanos de fase 1, 2 y 3, correctamente diseñados y dirigidos específicamente a una población diana concreta. En teoría, los probióticos podrían producir cinco tipos de efectos adversos (Sanders y col., 2010; Merenstein y col., 2023), que se contemplan brevemente a continuación.

Patogenicidad

Hasta la fecha, no se ha hallado ningún gen inequívocamente relacionado con patogenicidad en los géneros *Lactobacillus* (*sensu lato*) o *Bifidobacterium*, incluyendo los aislados asociados con sepsis u otros efectos adversos. En contraste, los enterococos y algunas especies del género *Bacillus* pueden presentar diversos factores de virulencia, que se tienen que estudiar cepa por cepa (Lee y col., 2019; Deng y col., 2021). *Escherichia coli* Nissle 1917, una de las primeras cepas probióticas que se comercializaron, alberga en su genoma la isla de patogenicidad *pks* que codifica para la biosíntesis de la colibactina (Massip y col., 2019). La colibactina es una genotoxina con una potente actividad alquilante del ADN y algunos autores consideran que desempeña un papel en el desarrollo del cáncer colorrectal y que, en consecuencia, su seguridad debería ser reevaluada (Nougayrède y col., 2021). En cualquier caso, existen opiniones contrarias y se trata de un tema objeto de controversia en la actualidad (Dubbert y von Büнау, 2021). Finalmente, la levadura *S. cerevisiae* var. *boulardii* pueden causar fungemias que, aunque son poco frecuentes, pueden resultar potencialmente graves (Muñoz y col., 2005). Entre las contraindicaciones para el uso de este microorganismo como probiótico se encuentran los ancianos, los inmunocomprometidos y los pacientes hospitalizados con un catéter venoso central y/o en unidades de cuidados intensivos (Roy y col., 2017; Dauby, 2017; European Medicines Agency, 2018; Landaburu y col., 2019; Poncelet y col., 2021).

Producción de metabolitos indeseables y alteración del metabolismo

La microbiota existente en las distintas mucosas y epitelios humanos tiene una actividad metabólica formidable, que participa en rutas clave para nuestra salud y que se puede ver alterada como consecuencia de numerosos factores. Entre ellos, se encuentra el uso de probióticos. Hace unas décadas se sugería que la producción de D-lactato o la de β -glucuronidasa deberían ser consideradas como propiedades negativas al seleccionar cepas probióticas. En

el primer caso, la razón era que el isómero D (-) del ácido láctico podría provocar acidosis en la población infantil. Sin embargo, muchas de las especies autóctonas del tracto gastrointestinal humano, como *Limosilactobacillus reuteri*, lo generan. También es el isómero más abundante en el yogur debido a la actividad de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. De hecho, los ensayos clínicos en los que se han administrado cepas probióticas productoras de D-lactato a niños a término y prematuros han revelado que no se produce ningún signo de acidosis, incluso tras su administración diaria durante los primeros 12 meses de vida (Connolly y col., 2005).

En el caso de la β -glucuronidasa, se trata de una enzima capaz de desconjugar xenobióticos y compuestos endógenos desintoxicados previamente mediante glucuronidación. Esta desconjugación puede mejorar la recirculación enterohepática de toxinas, hormonas y diversos fármacos, así como la formación de carcinógenos locales. Por lo tanto, la actividad de β -glucuronidasa es importante para garantizar la recirculación enterohepática de compuestos esenciales, como la vitamina D, las hormonas tiroideas o los estrógenos aunque un exceso de tal actividad puede aumentar el riesgo de desarrollo de cáncer de colon (Candelieri y col., 2022). En consecuencia, la ausencia o presencia (y nivel) de una cierta propiedad metabólica en una cepa probiótica no es buena o mal en sí misma, sino que depende de la población y diana a la que esté destinado un probiótico concreto.

La capacidad de los probióticos para participar en el metabolismo de medicamentos puede tener consecuencias en su eficacia y/o seguridad. De hecho, existe una disciplina relativamente nueva (farmamicrobiómica), que estudia las interacciones entre la microbiota y los compuestos xenobióticos (Dikeocha y col., 2022). Es necesaria más investigación para identificar funciones modificadoras de fármacos en probióticos y confirmar su relevancia *in vivo* para poder asesorar sobre la incompatibilidad entre probióticos y algunos medicamentos.

Las aminas biógenas (AB) se generan por descarboxilación de los aminoácidos y ejercen funciones fisiológicas esenciales como neurotransmisores y mediadores de la respuesta inmune. Sin embargo, determinados microorganismos (especialmente enterococos) pueden dar lugar a concentraciones muy altas de algunas AB (histamina, tiramina...), generando trastornos digestivos, circulatorios y respiratorios, especialmente en personas con niveles bajos de monoamino oxidasa o/y diamino oxidasa. Por este motivo, la incapacidad de sintetizar AB debe estar incluida en los criterios de selección de aquellos probióticos que se vayan a vehicular a través de alimentos donde se den las condiciones para su formación.

Resistencia a antibióticos

El riesgo de transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos de probióticos a patobiontes ha sido objeto de especial atención, especialmente en relación con los antibióticos que la OMS considera como de importancia crítica. La evaluación de este riesgo requiere enfoques tanto genotípicos como fenotípicos. En algunos casos, la expresión de un gen que confiere resistencia a antibióticos es intrínseca a una especie concreta como, por ejemplo, la «insensibilidad» a la vancomicina de los lactobacilos heterofermentativos (Stogios y Savchenko, 2020). El enfoque genotípico requiere la identificación de cualquier gen relacionado con la resistencia a antibióticos en el genoma de una cepa. En general, una cepa no se debería comercializar si esos genes están flanqueados por elementos móviles o si están codificados en plásmidos aunque la decisión también puede depender del antimicrobiano en cuestión, su utilidad clínica actual, un análisis riesgo/beneficio de la cepa y la población a la que se destina. Incluso cuando este tipo de genes estén ubicados en el cromosoma y no tengan ninguna característica genética que sugiera que sean movilizables, se debería ser prudente a la hora de comercializar una cepa con una resistencia no intrínseca a un antibiótico que tenga importancia clínica, como la vancomicina, a menos que se determine de forma inequívoca que se trata de una cepa segura (Pariza y col., 2015; Roe y col., 2022).

Efectos negativos sobre el sistema inmunitario

La evaluación de la seguridad de los probióticos debe contemplar su impacto sobre el sistema inmunitario, especialmente en hospedadores inmunológicamente inmaduros o inmunocomprometidos. Todavía no conocemos bien los mecanismos por los que los microorganismos ejercen un impacto sobre el sistema inmunitario, lo cual es un inconveniente para poder predecir la seguridad inmunológica de un probiótico. En general, los resultados sobre el impacto de los probióticos en el sistema inmunitario se han obtenido en ensayos *in vitro* y en modelos animales simplificados, que no son extrapolables a las complejas interacciones que se producen en individuos humanos, especialmente en el ámbito de las enfermedades crónicas (autoinmunes, alérgicas, neurodegenerativas o metabólicas) y de ciertas enfermedades agudas complejas (pancreatitis, sepsis).

El que un probiótico ejerza efectos inmunoestimulantes o inmunosupresores depende de las interacciones entre la microbiota, el hospedador y las

condiciones ambientales, y los efectos parecen depender de cada cepa, por lo que la inmunomodulación no siempre resulta beneficiosa y, de hecho, puede inducir efectos negativos (Sanders y col., 2010). En personas de edad avanzada o niños prematuros, la combinación de un estado inmunocomprometido con la alteración de la permeabilidad intestinal puede propiciar la translocación y sepsis por parte de ciertas cepas consideradas como probióticas, hecho que no se produciría en un niño o adulto sano.

Seguridad de los excipientes y componentes no microbianos de los probióticos

La evaluación de seguridad de un probiótico debe tener en cuenta los excipientes empleados en la formulación de los productos finales ya que se han descrito casos de niños que han sufrido reacciones anafilácticas debidas a la exposición a ciertos componentes de los mismos (Lee y col., 2007). Por otra parte, se ha observado que la variabilidad metabólica de una preparación probiótica puede ejercer un impacto determinante sobre su seguridad y actividad. Así, un producto comercial empleado en pacientes con enfermedades inflamatorias intestinales contenía concentraciones elevadas de 1,3-dihidroxiacetona, una sustancia que aumenta la permeabilidad intestinal, y su administración a ratones con colitis no sólo no pudo atenuar los signos clínicos sino que empeoraron más que los controles (Biagioli y col., 2017). En ese sentido, la matriz del probiótico puede ser más importante de lo que se ha tenido en cuenta hasta la fecha (Jackson y col., 2019).

Funcionalidad

De forma similar a la evaluación de la seguridad, aunque existen numerosos ensayos *in silico*, *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo* para detectar aquellas cepas que poseen propiedades funcionales relevantes, sólo los ensayos clínicos humanos (fases 2 y 3) permiten conocer si un probiótico ejerce el efecto beneficioso esperado sobre la población diana. De hecho, se necesitan más evidencias clínicas derivadas de este tipo de estudios (especialmente los de fase 3) para que los probióticos ganen credibilidad entre los consumidores y, especialmente, entre la comunidad médica (Suez y col., 2019). Los estudios de fase 2 evalúan la eficacia de un probiótico frente a un placebo mientras que los de

fase 3 evalúan la eficacia de un probiótico frente a la terapia estándar empleada para prevenir o tratar una enfermedad determinada.

Los criterios de selección de propiedades funcionales suelen incluir, por una parte, una serie de prerequisites para que la cepa pueda alcanzar y/o persistir en su lugar de acción (cavidad oral, tracto gastrointestinal, vagina...) a una concentración adecuada; por otra, propiedades que pudieran asociarse a un efecto beneficioso (exclusión de patógenos, propiedades metabólicas, inmunomodulación, neuromodulación...) (figura 3). Las propiedades funcionales por las que se seleccione un probiótico pueden ser tan amplias como nos permita nuestra imaginación, la tecnología y el presupuesto disponible. Por lo tanto, es necesario saber el uso que se dará al probiótico y sobre qué población se pretende aplicar; de esta manera, se seleccionarán las cepas pertinentes mediante las pruebas más adecuadas para poner de manifiesto las propiedades relevantes que permitan alcanzar el objetivo final.

El antagonismo microbiano de los probióticos depende, en parte, de su capacidad de adherencia a las mucosas, aunque es una propiedad actualmente objeto de cierta controversia. En el proceso están implicados diversos componentes superficiales, incluyendo los procesos de (auto)agregación, proteínas de unión al mucus, pilis y otras estructuras específicas. El efecto antiinfeccioso de algunos probióticos se debe también a la síntesis de compuestos antimicrobianos, como el ácido láctico y otros ácidos orgánicos (acético, propiónico, butírico) o las bacteriocinas (Tachedjian y col., 2017; Tang y col., 2023).

Otra propiedad relevante de algunas cepas probióticas es la de coagregar con ciertos patógenos y, en consecuencia, impedir su acceso a las mucosas (Younes y col., 2012). El efecto antimicrobiano de la coagregación es particularmente intenso cuando la misma cepa es capaz de producir sustancias antimicrobianas que inhiban al patógeno en cuestión. En cualquier caso, la actividad antimicrobiana debe estar dirigida hacia los microorganismos realmente relevantes para una diana concreta. Por ejemplo, en el caso de las mastitis lo relevante de los posibles candidatos a probióticos es su actividad frente a aquellos patobiones (estafilococos, estreptococos, etc.) que causan ese tipo de infecciones mientras que la actividad que puedan tener frente a *Salmonella*, *E. coli* o *Listeria monocytogenes* es irrelevante para esa aplicación.

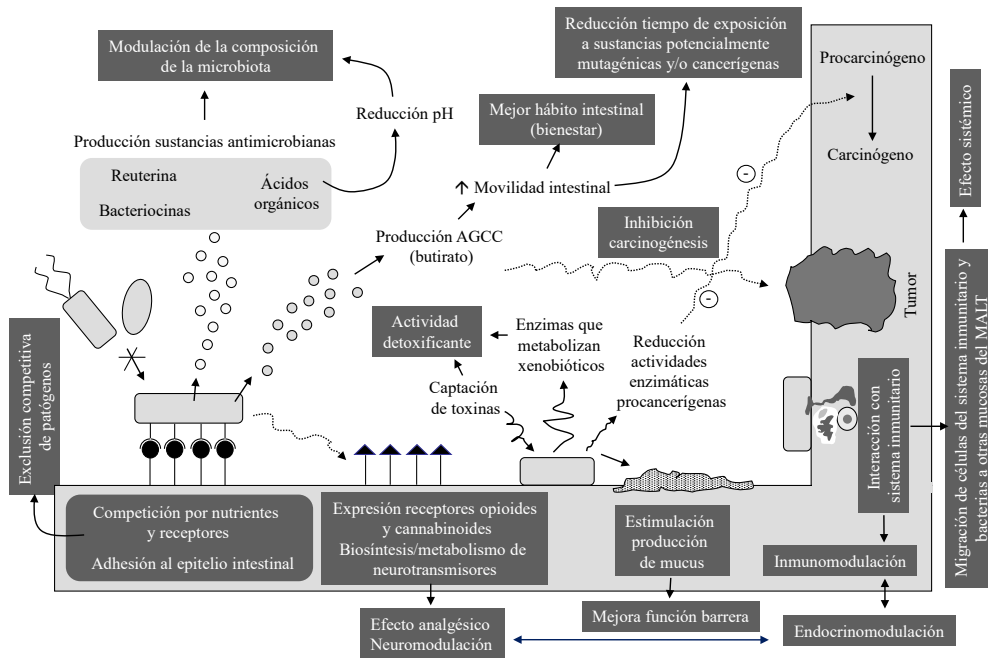


Figura 3. Representación esquemática de algunos de los efectos que pueden ejercer los probióticos en un hospedador, muchos de los cuales pueden estar interrelacionados

Diversos estudios han mostrado la capacidad de algunos probióticos para mantener o mejorar la función de las barreras epiteliales en las mucosas mediante la modificación de la expresión de los genes que codifican proteínas de las zonas de oclusión (occludina, claudinas), la modificación de la composición de monosacáridos de las mucinas, el aumento del grosor de la capa de mucus, la inhibición de los procesos de apoptosis y/o la promoción de la diferenciación celular y de actividades citoprotectoras, incluyendo la reducción del estrés oxidativo (Howarth y Wang, 2013).

El tejido linfode asociado a las mucosas representa la parte mayoritaria del sistema inmunitario y su interacción con la microbiota constituye uno de los pilares de la salud. Por ello, no es de extrañar que la capacidad de inmunomodulación sea una de las actividades que más se hayan asociado a los probióticos (Hardy y col., 2013). No obstante, el proceso de selección tiene que tener en cuenta que el tipo de respuesta inmunológica asociada a un probiótico (activación, desviación, regulación, supresión) puede ser positiva o nega-

tiva dependiendo del estado del hospedador, como se ha comentado anteriormente y, también que las respuestas inmunológicas pueden ser distintas dependiendo de la mucosa en cuestión (oral, intestinal, vaginal, respiratoria, mamaria, etc.). Por ello, la cepa debe ser cuidadosamente seleccionada dependiendo de la población y diana a la que vaya dirigida.

La neuromodulación es uno de los efectos más prometedores en el campo de los probióticos. Las alteraciones del denominado «eje intestino-cerebro» suelen asociarse a una amplia gama de trastornos del ámbito emocional, cognitivo y psiquiátrico, y a la presencia de una microbiota aberrante en los individuos que las padecen (Berding and Cryan, 2022). En este sentido, se considera que los probióticos pueden tener un impacto importante para estas poblaciones (Marx y col., 2020) aunque, nuevamente, será necesaria una cuidadosa selección de las cepas (interacción con receptores nerviosos, efectos en la biosíntesis y metabolismo de neurotransmisores...) y estudios que revelen la magnitud, mecanismos y relevancia clínica de los posibles efectos beneficiosos.

Aspectos tecnológicos

El hecho de que una cepa microbiana crezca bien en condiciones de laboratorio (pequeños volúmenes, medios de cultivo complejos...) no significa que vaya a suceder lo mismo en condiciones industriales. En este sentido, las empresas se enfrentan a dos retos tecnológicos importantes: (a) la necesidad de obtener una biomasa bacteriana muy elevada de forma económicamente rentable y (b) la necesidad de que la concentración de bacterias viables necesaria para ejercer el efecto beneficioso se mantenga hasta el final de la vida útil del producto (Kieps y Dembczyński, 2022). Ambos aspectos están relacionados con las características fisiológicas de cada cepa, por lo que las condiciones deben establecerse caso a caso.

Los aspectos tecnológicos (matriz, forma de producción, almacenamiento y distribución) son clave para garantizar la seguridad, viabilidad, estabilidad, actividad metabólica y eficacia de los probióticos. Pequeños cambios en el sistema de producción y comercialización de un probiótico pueden tener un gran efecto en la calidad del producto (Rodríguez, 2015; Grumet y col., 2020). Diversos procedimientos, como la fermentación, la composición de la matriz, la recolección de las células, el secado o la liofilización, pueden afectar a la composición final de estos productos (Guerrero Sánchez y col., 2022). Por otra parte, las condiciones de procesado y almacenamiento (concentración de

oxígeno, humedad, atmósfera, pH, temperatura, recubrimientos, microencapsulación...) y el formato comercial (cápsulas, comprimidos, sobres, gotas, recubrimiento de superficies internas de pajitas, óvulos, tampones, fórmulas infantiles, productos lácteos, zumos, barritas, etc.) pueden ser muy dispares. Todos estos factores pueden provocar que las propiedades de una misma cepa sean discordantes cuando se producen en condiciones distintas (Kiekens y col., 2019) y, en consecuencia, es importante prestar atención al formato, empaquetado y condiciones de conservación y uso del producto final. En cualquier caso, resulta inevitable que una cierta proporción de bacterias mueran o resulten dañadas durante el proceso productivo o el almacenamiento del preparado probiótico y, en este sentido, las empresas suelen recurrir a la sobredosificación inicial, de tal manera que se conserve la dosis eficaz hasta el final de su vida útil.

Las empresas que se dedican al desarrollo de probióticos (incluyendo el escalado industrial y los estudios de viabilidad) suelen organizar su trabajo en forma de etapas con un grado creciente de dificultad en las que es absolutamente necesario que se alcancen los objetivos de una fase para poder pasar a la siguiente. La primera etapa suele consistir en: (a) el depósito de la cepa en el banco de la empresa y la comprobación de su identidad y (b) la evaluación de su capacidad fermentativa a pequeña escala en biorreactores o mini-fermentadores que simulen las condiciones de los fermentadores de producción (temperatura, pH, agitación...). La segunda fase consiste en el escalado a producciones en planta piloto para evaluar la productividad antes y después del proceso de liofilización y el estudio de la estabilidad a los tres meses. En general, el objetivo es que el microorganismo permanezca viable (pérdida $\leq 0,2 \log \text{ ufc}$) en una mezcla con algún excipiente, envasada en sobres de papel de aluminio, y almacenada a una actividad de agua constante ($<0,2$) y a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. En la siguiente fase, se determina el flujo de trabajo para que el probiótico entre en la fase de fabricación. Tras la primera producción, se define el precio sobre la base del perfil del producto (ufc/g) y se completa la validación analítica de la mezcla. El objetivo final es la liberación del producto mientras se continúan los estudios de estabilidad a largo plazo (dos años), tanto en refrigeración como a temperatura ambiente ($25 \text{ }^\circ\text{C}$). En general, se pretende que el procedimiento permita disponer de un producto con una elevada concentración ($>5 \times 10^{10} \text{ ufc/g}$) que, una vez dosificado en los envases finales, tenga una vida útil prolongada a temperatura ambiente. En los casos en los que no es posible, el producto se tiene que conservar en refrigeración hasta su venta. En todo momento resulta imprescindible la aplicación de los principios del sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) y de

buenas prácticas de fabricación para garantizar que los preparados probióticos lleguen al consumidor con la máxima calidad posible e impedir la contaminación por otros microorganismos.

La reproducibilidad en la formulación y fabricación del producto también es esencial para garantizar una calidad constante. Muchas empresas propietarias de cepas comerciales no las producen sino que recurren a los servicios de empresas especializadas en esa tarea. Estas empresas suelen conservar el *know-how*, de tal manera que si la propietaria de la cepa decide producirla posteriormente con otra compañía, las propiedades reales del producto pueden diferir de las del anterior a pesar de que contenga la misma cepa a la misma concentración. Los ingredientes que se añaden a una formulación probiótica (azúcares, vitaminas, minerales, prebióticos, agentes crioprotectores, agentes gastroprotectores, etc.) pueden afectar a propiedades relevantes como la viabilidad, la estabilidad, la actividad metabólica o la capacidad de supervivencia de las células microbianas en el lugar diana. Una misma cepa no ejerce el mismo efecto si llega metabólicamente activa a su lugar de acción o si lo hace con daños subletales. Por lo tanto, es necesario evaluar y validar el impacto de estos ingredientes adicionales en el rendimiento de las células probióticas.

Cuando una empresa introduce un probiótico en el mercado, debería asegurar que está bien etiquetado. En este sentido, la FAO/WHO (2002) recomienda que se recoja la siguiente información en la etiqueta de cualquier producto probiótico: a) género, especie y cepa; b) dosis mínima de microorganismos viables al final de la vida útil; c) cantidad necesaria de producto que se debe consumir para conseguir la dosis efectiva; d) efecto(s) beneficioso(s); e) condiciones de almacenamiento y f) forma de contacto con el servicio de atención al cliente. Desafortunadamente, los estudios de la composición real de los probióticos comerciales han mostrado, repetidamente y en diversos países, que un elevado porcentaje de los mismos muestran grandes discrepancias cualitativas y/o cuantitativas con lo que consta en sus etiquetas (Huys y col., 2006; Marcobal y col., 2008; Aureli y col., 2010; Drago y col., 2010; Morovic y col., 2016; Kolaček y col., 2017; Di Pierro y col., 2019; Lugli y col., 2019). En conclusión, se debe mejorar notablemente el control de calidad de un elevado porcentaje de los probióticos disponibles en la actualidad (Mozota y Rodríguez, 2021). De hecho, se ha sugerido que las empresas que comercializan probióticos correctamente etiquetados deberían recurrir a certificaciones por parte de organizaciones independientes que avalen este hecho y que contribuyan a reforzar su imagen ante el personal médico y los consumidores (Jackson y col., 2019).

Aspectos comerciales

La opinión del departamento comercial de una empresa alimentaria o farmacéutica resulta fundamental a la hora de tomar una decisión sobre el desarrollo industrial y la eventual puesta en el mercado de un probiótico. Las funciones de dicho departamento incluyen, entre otras, los estudios de mercado (que permiten detectar aquellas necesidades de los consumidores, cuya resolución pueda ser rentable), la promoción y publicidad del producto, las ventas y el servicio post-venta. Normalmente, son actividades que implican una interacción constante con los departamentos de producción, financiero y de recursos humanos.

En general, se suelen identificar tres figuras con relación a la decisión de compra: el prescriptor (profesional que recomienda el producto y cuya opinión es valorada por el consumidor; por ejemplo, el médico o el farmacéutico), el comprador (persona que adquiere el producto pero que no tiene por qué coincidir con el consumidor; por ejemplo, los padres que compran un preparado probiótico indicado para cólico del lactante) y el consumidor. Por otra parte, resulta importante tener en cuenta la segmentación de mercado, bien por género (por ejemplo, los probióticos para infecciones vaginales o para mastitis), edad (probióticos pediátricos o para la tercera edad), nivel de ingresos, etc.

Las campañas de marketing básicamente se suelen enfocar, como en cualquier otro tipo de producto, en distintos elementos: sus características (incluyendo el envase), el precio, la distribución o disponibilidad y el servicio post-venta. Normalmente, el ciclo de vida de un producto comprende las etapas de introducción o lanzamiento (salida al mercado de un nuevo preparado; se producen ventas pero el saldo puede llegar a ser negativo ya que implica un gasto de promoción notable), crecimiento (el producto empieza a ser conocido, las ventas experimentan un fuerte desarrollo y los beneficios también) y madurez (las ventas se estabilizan y los beneficios hacen lo propio). Eventualmente, puede existir una etapa de declive o saturación (caída considerable de ventas y beneficios), durante la que se puede intentar relanzar el producto introduciendo alguna innovación.

La determinación del precio se puede basar en los costes, en la elasticidad de la demanda, en los precios que fija la competencia para productos similares, etc. En general, los preparados probióticos disponibles en farmacias no están cubiertos por los sistemas públicos de salud por lo que suelen tener un coste final elevado para el comprador. Este hecho propicia que un porcentaje relativamente elevado de usuarios potenciales no tenga acceso a ellos, especialmente cuando se requiere un tratamiento prolongado. En el futuro, la

mayor disponibilidad de resultados basados en ensayos clínicos bien diseñados y ciertos cambios normativos podrían hacer variar la situación.

La política de distribución permite que el producto se encuentre en el lugar y momento adecuados para poder ser adquirido por el consumidor. En general, el proceso que sigue el producto desde que sale de la cadena de producción hasta que llega a manos del cliente es el siguiente: almacenamiento del producto, distribución física, facturación y cobro. El canal de distribución es cualquiera de los medios (establecimientos alimentarios, farmacias, parafarmacias...) que se utilizan para conseguir que los productos recorran el camino desde el productor hasta el consumidor.

La promoción del producto incluye la publicidad en diversos medios, especialmente en revistas especializadas y en el lugar de venta y la visita a los prescriptores por parte de representantes de la empresa. En este sentido, es también importante la promoción de la interacción entre los investigadores y clínicos que aislaron y evaluaron la(s) cepa(s) probiótica(s) y los prescriptores, a través de reuniones o sesiones en congresos. Esto les facilitará una información de primera mano sobre las bondades del preparado, que probablemente se percibirá como menos sesgada que la ofrecida por los representantes de la compañía comercializadora. Por último, existe la posibilidad de la divulgación para el público en general, aunque en este caso parece más apropiado suministrar información sobre la microbiota de ocupación, sus funciones y los beneficios que aporta, de modo que el uso de probióticos se perciba como lo que es, una aplicación racional de dichos beneficios en aras de una mejor salud pública.

El problema del «paraguas probiótico»

Aunque en los últimos años se ha logrado un progreso significativo en la identificación de las posibles aplicaciones y mecanismos de acción de ciertos probióticos, el concepto de «paraguas probiótico» que se suele promover por una parte de la industria, genera confusión y desconfianza en muchos médicos, científicos y consumidores (de Simone, 2019). Este concepto consiste en aprovechar los resultados obtenidos con una cepa específica para extrapolarlos a otras, sin tener en cuenta, no sólo las diferencias entre cepas, sino tampoco la dosis, la duración de la ingesta o el procedimiento para fabricar la formulación con la que se obtuvieron los mismos. Tal «transferencia» de beneficios entre productos que no son idénticos o equivalentes resulta impropia de productos que, por definición, están destinados a ejercer efectos beneficiosos sobre la salud. La seguridad y los beneficios para la salud de un probiótico (sea mono-

cepa o multiceps) sólo se pueden demostrar mediante ensayos clínicos correctamente diseñados y únicamente son válidos en tanto que el producto ensayado sea idéntico (cepa/s, cantidad de la/s cepa/s, formulación, forma de producción) al comercializado. Por otra parte, si un producto probiótico resulta útil para distintas aplicaciones, deben existir ensayos independientes para cada aplicación.

Referencias bibliográficas

- Aureli, P; Fiore, A. (...)** & **Franciosa, G.** (2010). National survey outcomes on commercial probiotic food supplements in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 265-73.
- Biagioli M; Laghi L. (...)** & **Fiorucci, S.** (2017). Metabolic variability of a multispecies probiotic preparation impacts on the anti-inflammatory activity. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 505.
- Berding, K. & Cryan, J.F.** (2022). Microbiota-targeted interventions for mental health. *Current Opinion in Psychiatry*, 35, 3-9.
- Candelieri, F., Raimondi, S. (...)** & **Rossi, M.** (2022). β -Glucuronidase pattern predicted from gut metagenomes indicates potentially diversified pharmacomicrobiomics. *Frontiers in Microbiology*, 13, 826994.
- Connolly, E.; Abrahamsson, T. & Bjorksten, B.** (2005). Safety of d(-)-lactic acid producing bacteria in the human infant. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition*, 41, 489-92.
- Dauby, N.** (2017). Risks of *Saccharomyces boulardii*-containing probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* infection in the elderly. *Gastroenterology*, 153, 1450-1.
- de Simone, C.** (2019). The unregulated probiotic market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 17, 809-17.
- Deng, F.; Chen, Y. (...)** & **Wen, J.** (2021). Antimicrobial resistance, virulence characteristics and genotypes of *Bacillus* spp. from probiotic products of diverse origins. *Food Research International (Ottawa, Ont.)*, 139, 109949.
- Di Piero, F.; Polzonetti, V. (...)** & **Morelli, L.** (2019). Microbiological assessment of the quality of some commercial products marketed as *Lactobacillus crispatus*-containing probiotic dietary supplements. *Microorganisms*, 7, 524.
- Dikeocha, I.J., Al-Kabsi, A.M. (...)** & **Ma, A.** (2022). Pharmacomicrobiomics: influence of gut microbiota on drug and xenobiotic metabolism. *FASEB Journal*, 36, e22350.
- Drago, L.; Rodighiero, V. (...)** & **De Vecchi E.** (2010). Microbiological evaluation of commercial probiotic products available in the USA in 2009. *Journal of Chemotherapy*, 22, 373-7.
- Dubbert, S. & von Büнау, R.** (2021). A probiotic friend. *mSphere*, 6, e0085621.
- European Medicines Agency** (2018). *Saccharomyces boulardii* - CMDh Scientific conclusions and grounds for the variation to the terms of the Marketing Authorisation(s).
- FAO/WHO.** (2001). *Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria*. Córdoba, Argentina.
- FAO/WHO.** (2002). *Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food*. London Ontario.

Grumet, L.; Tromp, Y. & Stiegelbauer, V. (2020). The development of high-quality multispecies probiotic formulations: from bench to market. *Nutrients*, 12, 2453.

Guerrero Sanchez, M.; Passot, S. (...) & Fonseca, F. (2022). *Ligilactobacillus salivarius* functionalities, applications, and manufacturing challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106, 57-80.

Hardy, H.; Harris, J. (...) & Foey, A.D. (2013). Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. *Nutrients*, 5, 1869-1912.

Hill, C.; Guarner, F. (...) & Reid, G. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews in Gastroenterology and Hepatology*, 11, 506-14.

Howarth, G.S. & Wang, H. (2013). Role of endogenous microbiota, probiotics and their biological products in human health. *Nutrients*, 5, 58-81.

Huys, G.; Vancanneyt, M. (...) & Swings, J. (2006). Accuracy of species identity of commercial bacterial cultures intended for probiotic or nutritional use. *Research in Microbiology*, 157, 803-10.

Kiekens, S.; Vandenheuvel, D. (...) & Lebeer, S. (2019). Impact of spray-drying on the pili of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Microbial Biotechnology*, 12, 849-55.

Kiepiś, J. & Dembczyński, R. (2022). Current trends in the production of probiotic formulations. *Foods*, 11, 2330.

Jackson SA; Schoeni JL. (...) & Sanders M.E. (2019). Improving end-user trust in the quality of commercial probiotic products. *Frontiers in Microbiology*, 10, 739. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00739>

Kolaček, S., Hojsak, I. (...) & ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics (2017). Commercial Probiotic Products: A Call for Improved Quality Control. A Position Paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 65(1), 117–124. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001603>

Landaburu, M.F.; López Daneri, G.A. (...) & Mujica, M.T. (2020). Fungemia following *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* probiotic treatment in an elderly patient. *Revista Argentina de Microbiología*, 52, 27-30.

Lee, N.K.; Kim, W.S. & Paik, H.D. (2019). *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Science and Biotechnology*, 28, 1297–1305.

Lee TT; Morisset, M. (...) & Kanny, G. (2007). Contamination of probiotic preparations with milk allergens can cause anaphylaxis in children with cow's milk allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119, 746-7.

Lerner, A.; Shoefeld, Y. & Matthias, T. (2019). Probiotics: if it does not help it does not do any harm. Really? *Microorganisms*, 7, 104.

Lugli, G.A.; Mangifesta, M. (...) & Ventura, M. (2019). Compositional assessment of bacterial communities in probiotic supplements by means of metagenomic techniques. *International Journal of Food Microbiology*, 294, 1-9.

Marcobal, A.; Underwood, M.A. & Mills, D.A. (2008). Rapid determination of the bacterial composition of commercial probiotic products by terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 46, 608-11.

Massip, C.; Branchu, P. (...) & Oswald, E. (2019). Deciphering the interplay between the genotoxic and probiotic activities of *Escherichia coli* Nissle 1917. *PLoS Pathogens*, 15, e1008029.

Marx, W.; Scholey, A. (...) & Jacka, F. (2020). Prebiotics, probiotics, fermented foods and cognitive outcomes: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 118, 472-84.

Merenstein, D.; Pot, B. (...) & Sanders, M. E. (2023). Emerging issues in probiotic safety: 2023 perspectives. *Gut Microbes*, 15, 2185034.

Morovic, W.; Hibberd, A.A. (...) & Stahl, B. (2016). Genotyping by PCR and high-throughput sequencing of commercial probiotic products reveals composition biases. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1747.

Mozota, M. & Rodríguez, J.M. (2021). Probióticos: ¿por qué es importante la calidad? *Anales de Microbiota, Probióticos y Prebióticos*, 2, 95-9.

Muñoz, P.; Bouza, E. (...) & Peláez, T. (2005). *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clinical Infectious Diseases*, 40, 1625-34.

Nougayrède, J.P.; Chagneau, C.V. (...) & Oswald, E. (2021). A toxic friend: genotoxic and mutagenic activity of the probiotic strain *Escherichia coli* Nissle 1917. *mSphere*, 6, e0062421.

Pariza, M.W.; Gillies, K.O. (...) & Smith, AB. (2015). Determining the safety of microbial cultures for consumption by humans and animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 73, 164-71.

Poncelet, A.; Ruelle, L. (...) & Dauby, N. (2021). *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: Risk factors, outcome and links with *S. boulardii*-containing probiotic administration. *Infectious Diseases Now*, 51, 293-5.

Rodríguez, J.M. (2015). Probiotics: from the lab to the consumer. *Nutrición Hospitalaria*, 31(Suppl. 1), 33-47.

Roe AL; Boyte ME. (...) & Smith A. (2022). Considerations for determining safety of probiotics: a USP perspective. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 136, 105266.

Roy, U.; Jessani, L.G. (...) & Chakrabarti, A. (2017). Seven cases of *Saccharomyces* fungaemia related to use of probiotics. *Mycoses*, 60, 375-80.

Sanders ME. & Akkermans LM. (2010). Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*, 1, 164-85.

Stogios, P.J. & Savchenko, A. (2020). Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Science*, 29, 654-69.

Suez, J.; Zmora, N. (...) & Elinav, E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. *Nature Medicine*, 25, 716-29.

Tachedjian, G.; Aldunate, M. (...) & Cone, R.A. (2017). The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health. *Research in Microbiology*, 168, 782-92.

Tang, H. & Huang, W., Yao, Y.F. (2023). The metabolites of lactic acid bacteria: classification, biosynthesis and modulation of gut microbiota. *Microbial Cell*, 10, 49-62.

Younes, J.A.; van der Mei, H.C. (...) & Reid, G. (2012). Adhesion forces and coaggregation between vaginal staphylococci and lactobacilli. *PLoS One*, 7, e36917.

Zheng J; Wittouck S. (...) & Lebeer S. (2020). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70, 2782-858.

Capítulo 11

¿Y los virus? Su interacción con la microbiota humana

Jorge Reinheimer

Virus y fagos

Los virus son ubicuos, infectan todas las células vivas y son las más abundantes entidades biológicas en el planeta. Un dato curioso es que los virus no tienen un lugar en el Árbol de la vida ya que «organismo vivo» se refirió siempre a una forma celular, incluyendo metabolismo, desarrollo, reproducción, herencia y evolución por selección natural, pero no debemos olvidar que los virus necesitan de células huéspedes para replicarse. Algunos virólogos argumentan que en cierta manera deberían ser incluidos en dicho Árbol ya que, por ej., existen bacterias endoparasíticas que también dependen de un hospedador para sobrevivir y sin embargo se las considera «organismos vivos». Los virus no tienen ribosomas por lo que no pueden sintetizar sus propias proteínas. En cambio, usan la maquinaria de la célula hospedadora para sintetizarlas permitiendo su ensamblaje y multiplicación. Controversia existe cuando se habla del origen y evolución de los virus. ¿Se originaron en un único evento? ¿O surgieron independientemente en múltiples eventos? Existen varias hipótesis, pero, en realidad, ninguna cubre totalmente todos los interrogantes que nos podemos hacer, todavía. A diferencia de los organismos celulares, los virus no tienen genes que sean comunes a todas las especies y, por lo tanto, un único árbol filogenético viral no puede ser creado (Hugh y col., 2021). De cualquier manera, en los últimos años la metagenómica (estrategias analíticas cultivo independiente) y herramientas bioinformáticas avanzadas aplicadas a microorganismos y virus en diversos hábitats han demostrado el enorme número y diversidad de microorganismos en el planeta, y se ha vuelto claro que los virus juegan un rol importante en la biosfera con una participación activa. Los virólogos frecuentemente presentan el número de 10^{31} como estimado de la abundancia de partículas virales en el planeta, así como que la relación virus/microbios (VTM) es al menos de 10. La nueva estimación de la abundancia de bacterias y archaeas en el planeta es de aproximadamente 3×10^{30} ,

lo que da la idea de que el viroma¹ (componente viral del microbioma) del planeta debería estar dominado por virus de bacterias y arqueas. Algunos autores, sin embargo, estiman que el número de bacterias y arqueas en el planeta es acerca de 3×10^{31} y que la mejor estimación de número de virus es mayor a 10^{31} . Sin embargo, la más compartida y actual estimación del número de partículas virales en el planeta es de 10^{31} (Milani y col., 2017; Mushegian y col., 2020).

El viroma humano, entendido como el total de virus que «habitan» el cuerpo humano, está dominado por bacteriófagos (o fagos). Son parásitos obligados que requieren un hospedador bacteriano para su reproducción (Shkoporov y col., 2022). Surge así la definición de **fagoma**, entendida como «la comunidad de fagos que existen en un cierto ambiente» (Natarelli y col., 2023; Pargin y col., 2023).

Como depredadores naturales, los fagos están presentes en todos los ambientes ricos en bacterias, incluyendo el suelo, océanos y cuerpo humano, e influyen profundamente las comunidades microbianas, siendo esta depredación una de las principales fuerzas que controlan la densidad y distribución de poblaciones bacterianas (Camarillo-Guerrero y col., 2021; Brown y col., 2022; Duan y col., 2022; Shkoporov y col., 2022). Cada 48 horas, se calcula que la mitad de todas las bacterias del planeta son eliminadas por fagos. Esta eficiente capacidad de eliminación es también la base de la fago terapia en humanos y animales, y el uso de fagos como preservativos de alimentos (ver más adelante). Por ej., los fagos pueden contribuir a las comunidades oceánicas regulando niveles bacterianos dado que lisan el 20-40 % de bacterias oceánicas cada día. Esta lisis contribuye a la disponibilidad de nutrientes en ecosistemas marinos, lo que se conoce como «derivación viral» (*viral shunt*) del circuito microbiano, lo cual es explotado por otros organismos. En contraposición, las bacterias tienen diferentes sistemas de resistencia frente al ataque fágico pero muy pocas especies bacterianas, si existen realmente, escapan totalmente al mismo. Sin embargo, en complejas comunidades y ambientes tales como el intestino humano, este modelo antagonista de ataque y contradefensa no describe completamente el alcance de las interacciones fago-bacteria. Existen aspectos mutualísticos de interacciones entre ambos y se sugiere que esta relación está mejor caracterizada no como una lucha entre enemigos sino más bien como una relación mutualística entre socios (Shkoporov y col., 2022).

1. Viroma: es el conjunto de ambos tipos de virus, RNA- y DNA-virus, que infectan crónicamente hospedadores procariotes y eucariotes.

Por décadas, el descubrimiento y estudio de los fagos fue lento. Sin embargo, con la aparición de la metagenómica de alto rendimiento, se hizo posible descubrir una nueva, sin precedentes, diversidad fágica. Una sorpresa fue que la mayoría de las secuencias reveladas por metagenómica no pudieron ser clasificadas según la taxonomía viral del International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) (en especie, género, familia). Hasta el 90 % de las secuencias derivadas del viroma humano muestra poca o ninguna homología con las referencias existentes en las bases de datos ya que los genomas virales pierden o ganan con frecuencia genes markers universales que podrían ayudar en la clasificación taxonómica. Solo, a menudo, un orden del 10 % de las secuencias virales pueden ser identificadas. El resto del ADN viral es típicamente desechado en el análisis y se lo refiere comúnmente como «materia viral oscura» (*viral dark matter*). En otras palabras, los genomas fágicos presentan una estructura de mosaico como resultado de eventos de recombinación con bacterias y otros fagos. Este mosaiquismo está caracterizado por secuencias altamente similares junto a secuencias que no tienen aparentes similitudes. Esta extrema variabilidad y mosaiquismo de los genomas fágicos complica significativamente la clasificación taxonómica, que fue originalmente realizada usando morfologías de las cápsulas y tipo de ácido nucleico del genoma. Por estas razones, la taxonomía de los virus está en revisión debido a nuevos métodos de clasificación que incluyen secuencias genómicas, organización del genoma y espectro de hospedadores. No obstante, la original nomenclatura es todavía comúnmente usada y los fagos son a menudo distinguidos en base al tipo de ácido nucleico y la conformación estructural (Shkoporov y col., 2019; Camarillo-Guerrero y col., 2021; Duan y col., 2022; Zuppi y col., 2022).

Estructuralmente, la mayoría de los fagos están compuestos de un genoma (ácido nucleico) empaquetado dentro de una cápsula. Las cápsulas son altamente variables, tanto en tamaño como en morfología (poliédricas, filamentosas o pleomórficas). Algunos fagos presentan una membrana lipídica externa además de la cápsula proteica, mientras que otros solo tienen la membrana lipídica. El ácido nucleico genómico puede ser ADN lineal bicatenario (dsDNA), ARN lineal mono- o bicatenario, o ADN circular monocatenario (ssDNA). Como se dijo antes, los fagos son usualmente clasificados en base a su estructura, basada en microscopía de transmisión y, cuando resulta útil, la secuencia genómica. La gran mayoría de fagos con ADN de la microbiota intestinal humana pertenece al orden *Caudoviricetes* (antes, *Caudovirales*), que son fagos dsDNA con ADN genómico de entre 15 y 750 kb. Los *Caudoviricetes* tienen cápsides proteicas icosaédricas simétricas y con 3 morfologías definidas por la estructura de la cola: sifofagos (cola flexible), miofagos (cola contráctil) y

podofagos (cola corta) (figura 1). Las colas y fibras asociadas a la cola constituyen un aparato que no solo define la especificidad del objetivo de infección, sino que contribuye también a la eficiencia de la misma.

La microbiota intestinal humana también contiene sustanciales números de muy pequeños (aprox. 5 kb gADN) fagos de la familia *ssCADN Microviridae*, que son fagos isométricos que perdieron la estructura de la cola y que se restringen a bacterias Gram- tales como las enterobacterias (figura 2).

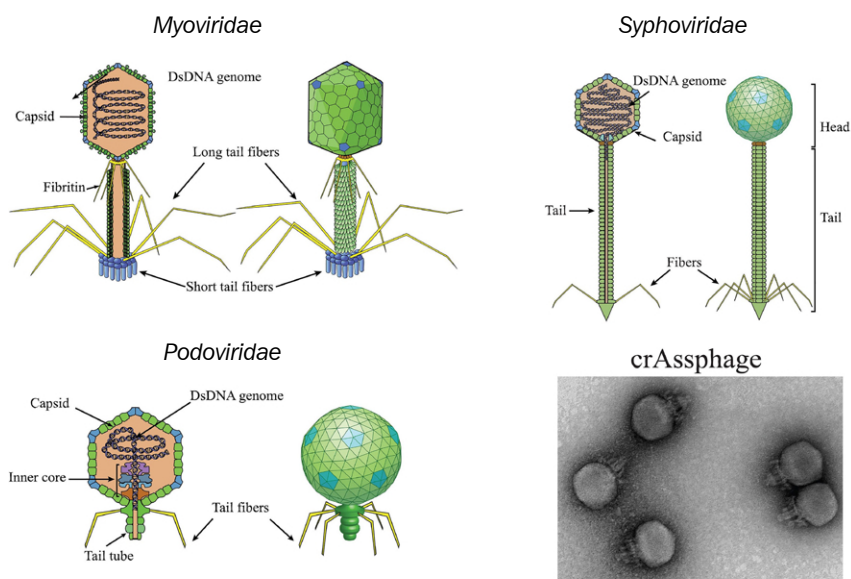


Figura 1. Diversidad de genomas fágicos y cápsulas para fagos intestinales (Adaptado de Zuppi y col., 2022)

En general, los fagos pueden ser categorizados como virulentos o atemperados, basados en el ciclo de vida que siguen. Los fagos virulentos (ej., el fago T4 de *E. coli*) siguen solo una vía lítica que comienza con una adsorción específica al receptor superficial de la célula, que puede ser una proteína, carbohidrato, lípido o elementos externos como pili, polisacáridos extracelulares o flagelos. Esta adsorción es seguida por la inyección del gADN en el citoplasma celular del hospedador, un programa de replicación del ADN y expresión génica, montaje de los nuevos viriones y, finalmente, liberación de

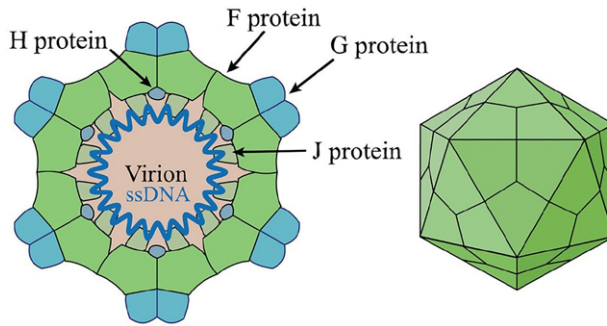


Figura 2. Fagos isométricos de la familia *Microviridae* (Adaptado de Zuppi y col., 2022).

la progenie por lisis del hospedador. En contraste, los fagos temperados (tales como el fago λ de *E. coli*) inician la infección del mismo modo, pero tienen la opción de crear lisogenia, en la cual la expresión génica se bloquea por un represor codificado por el mismo fago y se forma un profago durmiente, ya sea integrado al cromosoma del hospedador o como lineal o circular plásmido autoreplicante. La célula lisógena se vuelve inmune a una infección adicional por el mismo fago por la presencia del represor lisogénico.

Los profagos pueden ser pasivamente llevados indefinidamente por el hospedador bacteriano pero, espontáneamente, a una baja o alta frecuencia, como consecuencia de estrés bacteriano, el profago puede sufrir inducción, se desprende y entra en un ciclo lítico, resultando en la muerte celular y liberación de progenie de viriones. Aún en cultivos no disturbados, todas las cepas lisógenas espontáneamente producen una cierta concentración de viriones libres a un nivel que depende de la estabilidad de la represión, que puede variar mucho. También, los profagos pueden volverse defectuosos y perder la habilidad para ser desprendidos del cromosoma bacteriano (Duan y col., 2022; Zuppi y col., 2022).

La interacción entre fagos y bacterias se extiende, como se ha visto, más allá de la dinámica predatoria visto que se ha sugerido que una infección fágica lisogénica tiene potencialmente efectos benéficos para la bacteria hospedadora. Mientras que el profago permanezca durmiente en la célula bacteriana, su supervivencia está directamente ligada a la del hospedador. Por lo tanto, es evolucionariamente ventajoso para el profago contribuir a la supervivencia del hospedador, lo cual podría referirse como una interacción mutualística, antes mencionada. Tal mutualismo está ejemplificado por viriones que llevan genes que no tienen impacto en su ciclo de vida, pero pueden modificar la

aptitud física de la bacteria. Estos viriones se denominan «morons» y pueden incluir virulencia bacteriana, genes metabólicos o pueden proveer resistencia hacia otros viriones infectivos (Zuppi y col., 2022). Por ej, muchas bacterias altamente virulentas, tales como *Corynebacterium diphtheriae*, han desarrollado la habilidad de producir sus toxinas patógenas con material genético adquirido a través de fagos. Adicionalmente, los fagos han estado involucrados en la diseminación y transducción de genes de antibiótico resistencia entre bacterias (Natarelli y col., 2023).

El rango o espectro de hospedadores está primariamente determinado por la presencia o no de receptores en la superficie celular, las proteínas de reconocimiento de los fagos, y sus interacciones. Además, existen numerosos sistemas antifagos que bloquean otros niveles del proceso de infección, incluyendo inhibición de la penetración del ADN fágico dentro de la célula, destrucción del ADN fágico o suicidio altruístico de la célula infectada. Además, los fagos han desarrollado estrategias moleculares y genéticas contra estas defensas. En resumen, hay muchos factores que definen el rango de hospedadores. Estos son generalmente reducidos a solo una especie bacteriana y una eficiente propagación de un único fago en diferentes géneros bacterianos no ha sido convincentemente documentado (Duan y col., 2022; Zuppi y col., 2022)

Viroma humano/viroma intestinal

El viroma humano nativo más estudiado es el intestinal, que incluye a aquellos virus que infectan células eucariotas, bacterias y archeas de este ecosistema. Sin embargo, como ya se mencionó, este viroma está dominado por bacteriófagos e incluye a los elementos genéticos derivados de virus que se encuentran integrados en genomas de hospedadores bacterianos (profagos). Se estima que en el intestino humano existen más de 10^{12} células bacterianas y que la relación con los fagos presentes es estimativamente 10:1. El ataque a poblaciones bacterianas por estos fagos se piensa que juega un importante rol en la composición estructural de la comunidad bacteriana en el intestino. El fagoma intestinal puede ser definido como el agregado o conjunto de fagos (fagos libres y profagos) presentes en el intestino (Ventura y col., 2010; Milani y col., 2017).

Según un estudio, la mayor parte de los fagos presentes en el intestino humano son profagos, los cuales muestran un comportamiento «temperado» típico, y su composición es estable durante la vida del hospedador bacteriano (Yu y col., 2024).

La densidad de fagos se incrementa a través del tracto gastrointestinal desde el intestino delgado al grueso. En este último, la densidad de fagos se ubica entre 10^8 y 8×10^{10} partículas virales /g de heces, medido con un recuento de las mismas y estimación del número de genomas virales en heces de adultos sanos. En promedio entre adultos sanos y enfermos, los fagos constituyen la gran mayoría (97,7 %) de genomas virales intestinales, junto a virus eucarióticos (2,1 %) y de archeas (0,1 %) (Shkoporov y col., 2019; Yu y col., 2024).

Visto que los bacteriófagos representan la mayoría de las entidades virales intestinales han sido íntimamente asociados con la salud de este ambiente dado que cumplen roles cruciales en mantener la homeostasis intestinal, concentración bacteriana, diversidad microbiana, etc. Mientras que la mayoría de los profagos son altamente estables, algunos pueden activarse produciendo una escisión del ADN y liberando fagos activos, líticos sobre otras células, como ya se mencionó. Profagos han sido identificados en el genoma del 40-50 % de las bacterias y casi todas las bacterias intestinales estudiadas contienen profagos activos. La mayoría de las secuencias de ácidos nucleicos correspondientes a profagos representan tanto como hasta 20 % del genoma hospedador. Su activación es causada por diferentes estimuladores tales como la dieta, antibióticos, metabolitos bacterianos, el tránsito gastrointestinal, un ambiente inflamatorio y estrés oxidativo, y por una diversidad de mecanismos. Esto supone que un elevado número de partículas virales en el intestino humano derivan de profagos más que de fagos líticos. Por ej., la activación de cuatro fagos *Myoviridae* fueron identificados en pacientes que sufrían una infección por *Clostridium difficile* mientras que una activación espontánea de profagos puede ocurrir en cualquier bacteria, pero a una baja frecuencia. A pesar de que se conoce que el intestino contiene una enorme cantidad de fagos libres y microorganismos, estudios recientes demostraron que existen sitios inaccesibles para fagos en la capa de mucus sobre el epitelio que protegen a bacterias del ataque de los mismos (Hu y col., 2021; Yu y col., 2024).

Sin embargo, a pesar de los recientes progresos, mucho conocimiento permanece por revelarse acerca de la extensión de la diversidad viral y su prevalencia en el intestino humano (Shkoporov y col., 2019; Camarillo-Guerrero y col., 2021).

En sintonía a lo dicho precedentemente, los primeros estudios metagenómicos revelaron que la mayoría (81,93 %) de la diversidad viral es novedosa, pero asignarles hospedadores intestinales y rango de hospedadores permanece en gran medida no caracterizado. Una excepción fueron los fagos **p-crAss** (orden *Crassvirales*), fagos descubiertos en 2014 por análisis computacional de lecturas metagenómicas y encontradas en > 50 % de microbiomas intestinales

humanos de Occidente. Más recientemente, metagenomas intestinales humanos han sido provistos para compilar una más exhaustiva lista de genomas de fagos intestinales, brindando nuevas perspectivas fundamentales en la diversidad viral y funciones presentes en el microbioma intestinal humano. Aun así, la mayoría de la diversidad de fagos intestinales permanece no caracterizada e incompleta. En un estudio, y consistente con reportes previos de predicciones fágicas, no fue posible asignar con seguridad una familia a la mayoría ($\approx 80\%$) de esos genomas virales, mientras que el resto corresponden mayormente a las familias *Podoviridae*, *Siphoviridae* y *Myoviridae*, 3 familias que pertenecen al orden *Caudoviricetes* (fagos caracterizados por tener colas y cápsides icosaédricas) (figura 1), y que fueron previamente informadas como abundantes en heces humanas (Camarillo-Guerrero y col., 2021; Pargin y col., 2023). En otro estudio se vio que el 88 % de los fagos del tracto gastrointestinal no tuvieron una clasificación del International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) y la fracción remanente estuvo integrada por las familias de fagos con cola y dsDNA *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Ackermannviridae*, *Microviridae* e *Inoviridae* (Gregory y col., 2020).

El más integral perfil del fagoma del intestino humano se realizó generando y analizando una colección de aproximadamente 142 000 genomas fágicos intestinales de alta calidad y no redundantes, recuperados leyendo el mapeo de 28.060 metagenomas, muestreados de 28 diferentes países de 6 continentes. Se observó una clara separación de los fagomas de las muestras de Norteamérica, Europa y Asia respecto de los de África y Sudamérica. Esta diferencia de perfiles está asociada con importantes diferencias en el estilo de vida, soportando la hipótesis que el estilo de vida, particularmente la urbanización, podría causar diferencias en el fagoma intestinal. Se piensa que la composición bacteriana daría forma al mismo. Bacterias de la familia *Prevotellaceae* son más abundantes y prevalentes en individuos con un estilo de vida rural tradicional mientras que *Bacteroides* lo son en individuos con un estilo de vida urbano/occidental. Se piensa que esta es la más abarcativa y completa colección de genomas virales intestinales humanos hasta el presente. Se reveló que el filo *Firmicutes* posee una significativamente alta diversidad viral. El análisis de los géneros bacterianos para todos los filos reveló que los géneros bacterianos con la más alta diversidad viral fueron *Roseburia*, *Agathobacter*, *Prevotella* y *Balutia*. Por otro lado, la más baja diversidad viral fue registrada para *Helicobacter* y las bacterias lácticas de los géneros *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Pediococcus*. Globalmente, aproximadamente un tercio de los fagos intestinales tienen un amplio rango de hospedadores, no limitado a una sola especie hospedadora (Camarillo-Guerrero y col., 2021).

Las limitaciones para identificar taxonómicamente a los fagos intestinales apoya el hecho de que los dos más abundantes fagos fecales (crAssphage y Gubaphage) recién fueron identificados en 2014 y 2021, respectivamente. Ambos fagos son dsDNA fagos, caracterizados por genomas grandes (≈ 97 y ≈ 80 kb, respectivamente), e infectan bacterias del género *Bacteroides*. La relativamente alta abundancia de crAssphage (hasta el 90 % de la carga viral total en intestino y amplia representación en población humana), provocó mucha atención por su aparente significación para la salud humana y su potencial uso como marker de contaminación fecal (Zuppi y col., 2022; Yu y col., 2024).

Los fagos con RNA son raros, si no ausentes, en el intestino. La mayoría de los mismos son virus de plantas, ingresados con la dieta. Sin embargo, es posible que la baja abundancia de genomas de fagos con RNA sea debido al limitado número de estudios que han analizado el componente viral RNA y a la escasez de genomas fágicos de referencia para su identificación. Estudios microscópicos han mostrado que los fagos intestinales están casi exclusivamente representados por virus con cola y capsides icosaédricas (orden *Caudoviricetes*). En la mayoría de los casos, ellos pueden ser clasificados en familias basado en la morfología de la cola, como se mencionó antes: *Siphoviridae*, con largas colas flexibles no contráctiles, *Myoviridae*, con colas largas, rígidas contráctiles, y *Podoviridae*, con colas muy cortas. Estos morfotipos pueden ser reconocidos en heces colectadas de diferentes donantes. Hasta la última década, sin embargo, el fagoma fue el «conocido desconocido» del microbioma intestinal. Debido a que más del 95 % de las bacterias residentes en el colon, incluyendo anaerobios estrictos no patógenos pertenecientes a las familias *Bacteroidaceae*, *Prevotellaceae*, *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, etc, son difíciles de cultivar, las colecciones disponibles de fagos de origen fecal humano claramente no reflejan la verdadera diversidad de los fagos del intestino humano.

Además de modular comunidades bacterianas, los fagos influyen el ecosistema intestinal por interacción directa con las células inmunes y, por lo tanto, modulan la actividad inmune del hospedador. Las partículas fágicas pueden atravesar la barrera epitelial a través de un proceso llamado «transcitosis» e interactuar directamente con las células inmunes de mamíferos, estimulando o reduciendo la respuesta inmune a través de diferentes mecanismos (Shkopov y col., 2019; Zuppi y col., 2022).

Debe decirse que resultados dispares, como siempre aparecen, pueden deberse a diferencias entre las preparaciones de las muestras analizadas en los diferentes protocolos usados. Adicionalmente, otros factores que pueden afectar la adquisición e interpretación de los datos incluyen a los métodos analí-

ticos (secuenciación metagenómica versus microscopía), cuales herramientas bioinformáticas y databases son usadas, así como los sitios de muestreo y los materiales usados (Duan y col., 2022).

Viroma intestinal y edad, en individuos sanos

El clustering de genomas virales identificó varios grupos de bacteriófagos crAss-like y *Microviridae* como los más estables colonizadores del intestino humano. La identificación de un set común de fagos encontrados en un 20-50 % de individuos formaron la base para un concepto de «fagoma núcleo intestinal saludable» (Ventura y col., 2010; Shkoporov y col., 2019). Sin embargo, otros investigadores han sugerido que cada individuo tiene un fagoma intestinal único, integrado por profagos y fagos libres (Duan y col., 2022).

Infantes

El nacimiento es el más importante evento de la vida y en el cual aparece el viroma humano. Una rápida colonización del intestino del recién nacido en los primeros días de vida por un ensamble dinámico de fagos, fue establecido. El fagoma intestinal neonatal es complejo y relativamente inestable, junto a una baja abundancia de hospedadores bacterianos. Sin embargo, una progresiva maduración del microbioma intestinal lleva a una reducción de la abundancia y diversidad viral, acompañada por un incremento en la abundancia y diversidad del componente bacteriano. Interesantemente, hasta los 2,5 años se verifica un incremento de la abundancia y diversidad de *Microviridae* y lo opuesto para *Caudoviricetes*. En un estudio, analizando muestras fecales de infantes recolectadas durante un período de 14 meses, una tendencia inversa fue observada entre la abundancia de un determinado género, como *Bifidobacterium* y ADN fágico asociado a bifidobacterias. Esto sugiere que estos fagos pueden entrar en un ciclo lítico, modulando la colonización por bifidobacterias y su abundancia relativa en el intestino. El tipo de parto tiene un profundo efecto sobre la composición del fagoma, aún detectable al año de vida. Bebés nacidos por parto natural (vaginal delivery) tienen un más diverso viroma comparados con los que nacen por cesárea, con *Caudoviricetes*, *Microviridae* y *Anelloviridae* como los más abundantes virus detectados. El modo de la primera alimentación juega un rol significativo en el establecimiento del viroma intestinal humano. Virus eucariotes y fagos son transferidos de la

madre al infante via el amamantamiento. Como resultado de esto, la composición del primer viroma intestinal humano varía de acuerdo con si el bebé es amamantado o toma leche de fórmula. Estas diferencias en el viroma son parcialmente debidas a los anticuerpos maternos transferidos de la madre al bebé vía la leche materna, llevando inmunidad adicional que no se transmite a través de la leche de fórmula. Como la leche materna modula la microbiota y el viroma en la vida temprana fue demostrado procesando un elevado número de muestras. Cuando se suspendió el amamantamiento, hubo una carencia de bacterias asociadas y, subsecuentemente, una carencia de fagos (Milani y col., 2017; Shkoporov y col., 2019; Pargin y col., 2023).

Usando individuos saludables y de Occidente, un estudio investigó la riqueza viral a lo largo de las etapas de la vida en humanos. La mayor riqueza viral fue observada en infantes y adultos, y hubo incrementos significativas entre niños y adultos, y disminuciones significativas entre adultos y ancianos. La riqueza de virus eucarióticos (mayormente *Annellovirus* humanos) es alta en la infancia, presumiblemente manejado por un sistema inmunitario subdesarrollado, luego disminuye en niños y permanece constante y bajo en el resto de la vida. Se sugiere que la mayoría de los virus son fagos temperados, de los cuales muchos son virus *Siphoviridae*. Curiosamente, la riqueza de *Microviridae* es modesta en la infancia y se incrementa lentamente a lo largo del resto de la vida (Gregory y col., 2020).

Una fracción significativa de fagos se encontró como compartida entre mellizos y sus madres, así como entre personas afectadas por enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) y miembros sanos de la misma familia (Shkoporov y col., 2019). La comunidad viral en mellizos resulta más similar entre sí que la posible de detectar en muestras fecales de individuos no relacionados, un fenómeno que parece persistir a través de la vida (Ventura y col., 2010).

Adultos

La composición del viroma intestinal adulto puede estar influenciada por varios factores entre los cuales la geografía y la dieta son los más importantes. Se ha demostrado que individuos que siguen una misma dieta tienden a tener un viroma similar, reflejando que una microbiota dieta-dependiente permite la proliferación de fagos que infectan a los miembros dominantes de esa microbiota. Cambios en la dieta pueden tener un impacto en la salud humana a través de cambios composicionales, bacterianos y virales (Ventura y col., 2010; Pargin y col., 2023).

Faecalibacterium y *Bifidobacterium* son los géneros bacterianos predominantes en la microbiota de humanos saludables, en adultos e infantes, respectivamente pero los esfuerzos para aislar fagos que infectan a estas bacterias no han sido exitosos a pesar de la presencia de numerosos profagos en sus genomas. Recientemente, inducción de profagos a partir de cepas de estos dos géneros ha sido informada.

En un estudio, se fue capaz de alinear el 83 % de las secuencias reveladas por metagenómica de VLP (*viral like particles*) y, con estas herramientas, se demostró un impresionante nivel de estabilidad temporal en consonancia con especificidad individual del viroma fecal adulto durante hasta 26 meses. Esto coincide con una previa observación de alta estabilidad del viroma en un único adulto sano y en una cohorte de gemelos, así como un recuento viral total. Los estudios sugieren que la mayoría de los fagos infectan *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Prevotella* y *Parabacteroides*, todos géneros abundantes, persistentes y altamente adaptados al ambiente intestinal. Sin embargo, existe también baja abundancia de otras muy diversas secuencias virales. A este viroma menos estable y no individualizado se lo designó «viroma transitoriamente detectado» (TDV). En acuerdo con estudios previos, la mayoría de ambas fracciones (la persistente y la transitoria) estuvieron representadas por el orden fágico *Caudoviricetes*, con dsDNA (ADN doble hélice) y la familia de fagos virulentos *Microviridae* (ssDNA). Como podía esperarse, muchos miembros del orden *Caudoviricetes* (familias *Siphoviridae* y *Myoviridae*) aparecen como temperados (profagos). Sin embargo, estos no dominan el viroma. Con fagos temperados clásicos raramente dominando el viroma intestinal, parecería que otros mecanismos distintos a la habilidad para integrarse al genoma del hospedador son mayormente responsables de la persistencia de largo término de bacteriófagos en el intestino humano. Una extensa diversidad de fagos gigantes fue reportada como presente en varios ambientes, incluyendo microbiomas humanos y animal. Por ejemplo, un no cultivable megafago con un genoma de >540 kbp que presumiblemente infecta *Prevotella* y mostrando propiedades de la flia *Myoviridae* fue detectado en la microbiota de humanos de Bangladesh y Tanzania (Shkoporov y col., 2019).

Por último, se necesita ver cómo estas riquezas virales edad dependiente se relacionan con la riqueza bacteriana en el intestino. Existen dos importantes paradigmas para los estados de la vida de la riqueza bacteriana intestinal. El primer paradigma es que la riqueza bacteriana intestinal se incrementa en la vida adulta y luego disminuye en los ancianos. El segundo paradigma es que la riqueza bacteriana se incrementa lentamente a lo largo de la vida desde la infancia hasta la edad anciana. Algunos estudios atribuyen estos paradigmas

a que algunas personas ancianas viven normalmente en casas de cuidados mostrando una disminución en la riqueza bacteriana (Gregory y col., 2020).

Haciendo referencia a las bifidobacterias comúnmente usadas como probióticos, estas se consideran libres de infecciones fágicas aunque también es cierto que la metagenómica ha demostrado la presencia de secuencias de profagos en casi todos los genomas de bifidobacterias secuenciados hasta el momento. También hay que considerar que las bacterias probióticas son «artificialmente» introducidas en alto número en el organismo y no puede asegurarse que el concepto de «kill-the-winner» aplique a las bacterias probióticas. Tal concepto sugiere que el ataque fágico se dirige preferentemente a bacterias que están mejor adaptadas a un ambiente determinado y que consecuentemente están presentes en alto número en el mismo (Ventura y col., 2010).

Viroma intestinal en individuos con enfermedades gastrointestinales y otras

Cambios en la microbiota intestinal humana se observan comúnmente en pacientes con enfermedades gastrointestinales y hepáticas, incluyendo el síndrome inflamatorio intestinal, cáncer colorectal, problemas en hígado asociados al consumo de alcohol e hígado graso no alcohólico. A pesar de que la mayoría de los cambios han sido descritos para bacterias, algunos estudios han revelado también cambios en el viroma intestinal que aparecen asociados con la enfermedad y disfunciones del desarrollo y, como es de esperar, los fagomas intestinales de estos pacientes difieren de los de individuos sanos. Pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa tienen una más alta abundancia relativa de *Caudoviricetes* comparados con *Microviridae*, y diferentes composiciones de familias *Caudoviricetes*, comparados con individuos sanos, a partir de la secuenciación metagenómica del ADN de partículas tipo virus de muestras fecales. Pacientes con enfermedad de Crohn mostraron relativamente más fagos temperados, y los cambios en la composición del viroma se reflejaron en alteraciones bacterianas. Por ej., pacientes con síndrome de intestino irritable tienen menos abundancia de *Firmicutes* e incrementados niveles de fagos que infectan *Firmicutes*. Viromas de mucosa rectal de pacientes con colitis ulcerativa tuvieron una mayor abundancia relativa pero menos diversidad de fagos *Caudoviricetes* comparados con individuos sanos. Cambios en el viroma entérico también fueron observados en pacientes con cáncer rectal de colon usando secuenciación metagenómica de muestras fecales (Duan y col., 2022; Zuppi y col., 2022).

Asimismo, se han reportado composiciones virales en pacientes con enfermedades hepáticas. Un estudio, comparando con individuos sanos, observó incrementada diversidad viral en muestras fecales de pacientes con hepatitis alcohólica. Fagos de *Escherichia*, otras enterobacterias y *Enterococcus* se mostraron altamente representados en estos pacientes, y abundancia incrementada de fagos de *Staphylococcus* fue asociada con un aumento de la severidad de la enfermedad. En otro trabajo, estudiando pacientes con cirrosis, la diversidad del viroma fecal fue similar con la de pacientes sanos, pero estos pacientes mostraron más fagos que infectan *Lactobacillus* y *Enterobacteriaceae* (Duan y col., 2022).

Un estudio ha indicado que la composición fágica del intestino se reportó como estable por un periodo de hasta 1 año en adultos sanos y las alteraciones se asociaron con enfermedades intestinales tales como infecciones con *Clostridioides* (antes *Clostridium*) *difficile* (CDI). Más específicamente, y comparado con pacientes saludables, pacientes con infecciones CDI mostraron una abundancia aumentada de fagos *Caudoviricetes* y una reducción de su diversidad, riqueza y uniformidad, mientras que pacientes con diarrea asociada a norovirus mostraron junto a reducción de riqueza de *Caudoviricetes* y diversidad, también reducción en su abundancia. En pacientes con la enfermedad de Parkinson se observó que tienen incrementados niveles de fagos líticos de *Lactococcus* y escasa cantidad de bacterias de este género, las cuales regulan la permeabilidad intestinal y producen dopamina. Estos factores están implicados en la patogénesis del Parkinson, sugiriendo que la predación en el tracto gastrointestinal podría contribuir al desarrollo de esta enfermedad (Zuppi y col., 2022). Se revelaron también considerables cambios en el viroma, especialmente fagoma, en el intestino de individuos con obesidad, diabetes tipo I y diabetes tipo II. Comparado con la exploración de cómo las comunidades bacterianas comensales impactan la salud humana, el rol del viroma es relativamente desconocido en salud mental (Pargin y col., 2023).

Más estudios son necesarios para determinar si los cambios en el fagoma intestinal causan desarrollo de la enfermedad, o progresión de esta, o resultan de la enfermedad. Todavía estamos en un estadio temprano para entender estos «asuntos oscuros» en el intestino y sus influencias en la salud humana y enfermedad (Duan y col., 2022).

Fago terapia

A pesar de que los bacteriófagos han sido dejados de lado como agentes terapéuticos por los antibióticos durante décadas, la aparición de bacterias multirresistentes a drogas y un mejor entendimiento del rol de la microbiota humana en la salud y enfermedad, han provocado que ellos vuelvan a estar en foco (Duan y col., 2022). La propuesta de la «fago terapia» propone el uso de fagos seleccionados como agentes antibacterianos específicos frente a bacterias patógenas, no afectando a la microbiota deseable. Existen investigaciones incipientes que muestran aplicaciones potenciales de estos virus para tratar enfermedades causadas por disbiosis bacteriana, una aplicación comparable al uso de probióticos o prebióticos dado que pueden indirectamente mejorar el desarrollo de bacterias benéficas en el intestino al eliminar competidores indeseables (Fernández y col., 2021). Los fagos líticos han sido la primera elección para la fago terapia. Sin embargo, hay estrategias novedosas que incluyen el uso de fagos temperados frente a infecciones bacterianas, aunque esto permanece todavía inexplorado (Hu y col., 2021).

En 2016, un paciente masculino de 68 años con diabetes, infectado con *Acinetobacter baumannii* desarrolló pancreatitis necrotizante complicada por un pseudoquiste pancreático. Después de múltiples terapias antibióticas que fracasaron, el paciente se deterioró y bajo un permiso de emergencia investigativa otorgada por la US Food and Drug Administration, se inició una fagoterapia (intracavitaria e intravenosa) y el paciente retomó un estado saludable después de 5 meses. Este caso generó amplia publicidad y renovó el interés por la fagoterapia que podría ser usada para tratar infecciones bacterianas, especialmente debidas a bacterias multiresistentes a drogas. Y en los últimos 4 años, múltiples casos se acumularon frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium abscessus* multiresistentes a drogas. Sin embargo, ensayos clínicos estandarizados serán requeridos para determinar la eficacia de la fagoterapia para diferentes enfermedades infecciosas.

E. coli enteroinvasiva ha sido implicada en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria de intestino durante las 2 décadas pasadas y los fagos de *E. coli* han sido propuestos como una opción de tratamiento. En algunos estudios con ratones a los que se les indujo colitis, los que recibieron tratamientos con fagos se mostraron protegidos de la misma y la colonización con *E. coli* fue reducida. Algunos investigadores han mostrado que niveles fecales de *Enterococcus faecalis*, un miembro comensal de la microbiota intestinal humana con baja presencia, se incrementa significativamente en pacientes con hepatitis alcohólica comparados con individuos no alcohólicos. Algunas cepas de esta

bacteria producen citolisina, una exotoxina bacteriana que se correlaciona con malos resultados y mortalidad en pacientes con hepatitis alcohólica. Fagos que infectan cepas de *E. faecalis* citolisina positiva se administraron por sonda oral y redujeron la enfermedad hepática inducida por etanol, mientras que fagos que infectan cepas citolisina negativa no mostraron efecto benéfico alguno.

Los fagos no solo pueden modificar la microbiota intestinal sino que pueden liberar drogas en un sitio específico. Con el desarrollo de más poderosas herramientas para ingenierizar fagos, drogas pueden ser adheridas a su superficie para ser liberadas cuando los fagos alcanzan su destino. Por lo tanto, la administración de altas dosis necesarias para un sitio específico podría ser posible, permitiendo reducir concentraciones de drogas en la circulación y disminuir efectos tóxicos en tejidos que no es necesario afectar. Varios estudios pre clínicos han testeado este método. En un estudio in vitro, por ej., cientos de moléculas de cloramfenicol ligadas a la superficie de un fago via ester-linkage, permitieron ser liberadas lentamente por esterasas nativas. Los fagos fueron capaces de infectar a *Staphylococcus aureus*, proveyendo localmente altas concentraciones del antibiótico que lograron inhibir el desarrollo de células de esta bacteria previamente resistentes. Otros estudios se han realizado con drogas usadas en quimioterapia como por ej. Irinotecan, un tratamiento de primera línea para cáncer colorectal. Los fagos infectan *Fusobacterium nucleatum*, que reside en tejidos tumorales de este cáncer. En este caso, los fagos liberan la droga en los tumores, con mínimos efectos en tejidos no tumorales.

El reducido rango de hospedadores es otra aparente limitación de los tratamientos basados en fagos. Esto podría restringir su utilidad terapéutica. Una opción es crear un cóctel de fagos, formado por múltiples fagos que posean diferentes receptores y puedan, entonces, atacar diferentes cepas.

El campo de investigación de la fago terapia está todavía en un estado temprano, con muchas cuestiones científicas que deben ser contestadas y muchos factores deben ser considerados y evaluados cuidadosamente antes de la administración de los mismos. Uno de los más importantes es estudiar a todos los individuos para encontrar un hospedador bacteriano en sus intestinos. Ese hospedador debería ser testeado in vitro para confirmar su sensibilidad a los fagos seleccionados. Otro punto crítico es determinar la dosis de fagos a ser aplicados. Muchos estudios han demostrado la seguridad en usar una relativamente alta dosis de fagos, por ej. 10^9 UFP (unidades formadoras de placas), sea por vía oral o intravenosa. Aplicar fagos en altas concentraciones sería necesario, especialmente para una administración oral visto que el ácido gástrico podría disminuir la cantidad de fagos activos. La administración

de un neutralizante de ácido y métodos de encapsulación de fagos podrían ser útiles en este sentido (Duan y col., 2022).

Igualmente, más esfuerzos deberían hacerse antes de volcar productos derivados de fagos al mercado, un proceso que requerirá revisar las regulaciones actuales para facilitar su aprobación. Sin embargo, a pesar de la evidencia soportando la seguridad de los fagos para humanos, el público en general sería quizás resistente a usar virus con propósitos terapéuticos. Es importante discutir mejor el rol de los fagos en el equilibrio de la microbiota y su relación con la salud humana y también es importante recordar su potencial impacto negativo mayormente concerniente a su inmunogenicidad o la potencial dispersión de genes de virulencia o antibiótico resistencia, especialmente por fagos temperados (Fernández y col., 2021).

De cualquier forma, a pesar de que muchos países solo recientemente redescubrieron el interés por la fago terapia desde la crisis emergente de resistencia bacteriana a las drogas, ha sido siempre ampliamente usada en Europa del este. Desde su descubrimiento ha sido parte de las practicas de salud en Georgia, Polonia y Rusia. En Polonia, es solo administrada a pacientes en las PTU (Unidades de Fago Terapia). En Georgia y Rusia hay un escenario diferente dado que cocktails de fagos tales como I Intestiphage y Pyophage, pueden ser directamente adquiridos sin una prescripción. En contraste, la aplicación en países de Europa occidental tales como Reino Unido, Francia y Bélgica, es relativamente dispersa. En Estados Unidos, no existe todavía ninguna fago terapia aprobada por la FDA (Yang y col., 2023).

COVID-19. Su influencia en la microbiota y viroma intestinal

Evidencia acumulada demuestra que el microbioma intestinal, incluyendo microbiota bacteriana, micobioma y viroma, es ampliamente alterado en COVID-19. Los trillones de entidades biológicas —bacterias, hongos, virus y otras formas de vida que integran el microbioma— regulan la inmunidad del hospedador. Como sabemos, la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es causada por el virus a ARN «severe acute respiratory síndrome coronavirus type 2 (SARS-COV-2)», que infecta primariamente el tracto respiratorio y resultando en varios síntomas con diversos niveles de severidad en los pacientes luego de la infección (Zuo y col., 2021)

La ACE2 (enzima convertidora de angiotensina 2) actúa como receptor de la proteína S del SARS-COV-2 en las células del epitelio respiratorio, una interacción esencial en la infección por este virus que afecta al funcionamiento del

sistema renina-angiotensina. La expresión de ACE2 es elevada en las células del epitelio respiratorio pero también en las células epiteliales gastrointestinales, siendo ambos lugares claves para la adquisición, acción y propagación del SARS-COV-2. La composición de la microbiota del tracto respiratorio superior y del tracto gastrointestinal puede jugar un papel relevante en la susceptibilidad individual al COVID-19. En este sentido, se ha postulado que aquellas personas con una microbiota respiratoria y gastrointestinal «normal» tendrían más probabilidades de que la infección por SARS-COV-2 fuese asintomática o diera lugar a una sintomatología leve o moderada, dado que se asocian a respuestas inmunitarias adecuadas en dichas mucosas. Por el contrario, las personas con disbiosis respiratorias o intestinales no serían capaces de desarrollar respuestas correctas y serían más proclives a padecer cuadros más severos, infecciones secundarias y sepsis. También se ha postulado que la propia infección por el coronavirus puede provocar alteraciones en la microbiota que favorezcan el desarrollo de cuadros inflamatorios (Mozota Herbera y col., 2021)

Entre el 5 y 33 % de los pacientes COVID-19 tuvieron síntomas gastrointestinales, incluyendo diarreas, náuseas y vómitos. Varios estudios han detectado SARS-COV-2 en muestras fecales e hisopados anales, sugiriendo que el tracto digestivo podría ser un sitio extra pulmonar para la infección viral (Zuo y col., 2021). Estudios recientes señalaron que, en promedio, el SARS-COV-2 se encontró presente en las heces del 44 % de los enfermos de COVID-19, siendo significativamente más frecuente entre los individuos con síntomas gastrointestinales (77 %) que entre los que no los presentaban (57 %), y entre los individuos con enfermedad severa (68 %) que entre los que presentaban una sintomatología leve o moderada (34 %) (Mosota Herbera y col., 2021).

Entre los virus enriquecidos bajo el COVID-19, fagos de *Escherichia* y *Enterobacter* fueron prominentes. La expansión de estos fagos ha sido implicado en inflamación intestinal y respuesta del hospedador al interferon en ratones y humanos. Las alteraciones en la ecología del viroma intestinal, particularmente en la comunidad fágica, son al menos parcialmente causadas por las alteraciones bacterianas bajo la influencia de la infección por SARS-COV-2 y la subsiguiente disfunción inmunológica. Similarmente, la disbiosis del viroma intestinal persiste con la disbiosis intestinal, aun después de la resolución de la enfermedad de COVID-19.

Es bien conocido que factores confluyentes tales como dieta y tratamiento pueden significativamente afectar la composición del microbioma intestinal. Por lo tanto, algunas de las diferencias entre los microbiomas de pacientes COVID-19 y controles, y aquellos entre estados de la enfermedad (leves y severos casos de COVID-19) podrían ser atribuidos a tratamientos y/o dietas.

Sin embargo, se observaron cambios consistentes en el microbioma incluyendo reducción en la abundancia de *Eubacterium* y bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta (AGCC). Adicionalmente, se observó que la infección por SARS-CoV-2 predominó sobre medicaciones y dieta en afectar las alteraciones del viroma intestinal en pacientes con COVID-19. Estos resultados juntos sugieren que la infección por SARS-CoV-2 podría ser una crucial contribuyente a la disbiosis del microbioma intestinal en pacientes con COVID-19 (Zuo y col., 2021).

Viroma de la piel

La bibliografía ha establecido bien la importancia de los microbiomas de intestino y piel en mantener la salud general, así como que los fagomas tienen importante efecto en regular dichos microbiomas, aunque su rol todavía no ha podido ser totalmente explicado. Actualmente, en los estudios realizados sobre el fagoma de piel, muchos subrayan la falta de una base de datos viral, que ha sido un especial factor limitante para determinar los tipos de fagos presentes en la piel. A pesar de esta limitación, la importancia del fagoma de piel en su salud ha sido bien establecida. Por ejemplo, se ha demostrado que la diversidad viral presente en heridas crónicas es mayor comparada con la de piel sana. Por otra parte, reducidas concentraciones fágicas están típicamente asociadas con una abundancia en las correspondientes bacterias hospedadoras, indicando la capacidad de los fagos para suprimir o no a las mismas (Natarelli y col., 2023).

Estudios de metagenómica y metaviroma de piel han indicado que el viroma de piel es altamente sitio específico y muestra marcada variación entre individuos. Un estudio agregó más de 130 nuevas especies fágicas de la piel a las bases de datos existentes. Se demostró que fagos idénticos estuvieron presentes en individuos diferentes y en diferentes partes del cuerpo, y que, por ej., un fago de *Staphylococcus* podría ser un comensal común que regula el hospedador y su actividad sobre la piel (Van Zyl y col., 2018). Otro estudio reveló que la población fágica cutánea está mayormente compuesta por fagos del orden *Caudoviricetes* que llevan genes auxiliares para ayudar a incrementar el fitness bacteriano a través de resistencia antimicrobiana (Graham y col., 2023).

En dermatitis atópica (AD) se demuestra una disbiosis de piel, que involucra a bacterias, hongos y virus. El perfil alterado en AD de bacteriófagos es intrigante. Como la mayoría de estos fagos son lisogénicos, estos podrían insertar en el genoma bacteriano factores de virulencia y contribuir a la con-

versión de comensales en patógenos. Usando metagenómica, fue posible caracterizar la composición microbiana de varios sitios bien definidos de la piel en pacientes con AD y en controles saludables, encontrándose claras diferencias entre ellos y en múltiples sitios, más pronunciados en cuello y otras partes del cuerpo que pueden flexionarse. La abundancia de virus en las muestras de piel dependieron fuertemente del individuo. Fagos de *Propionibacterium* (ahora *Cutibacterium*) y de *Staphylococcus* dominaron la piel de ambos, controles saludables y con AD, aunque fue observado que más fagos de *Cutibacterium* aparecieron en las narices y más fagos de *Staphylococcus* en los pies. En lesiones de piel, en general, hay más fagos de *Staphylococcus*, relacionado a veces a una extensa colonización por *S. aureus* (Dybboe Bjerre y col., 2021).

Otra situación se da para pacientes con psoriasis y acné al informarse también diferencias en las especies de fagos que fueron más abundantes en piel normal y en piel lesionada (disbiosis fágica). La severidad de la psoriasis se correlaciona con la producción de enterotoxina por ciertas cepas de *Staphylococcus aureus*. La diversidad bacteriana se mostró reducida en lesiones psoriásicas respecto a piel control saludable. Esto también sugiere que la disbiosis fágica puede contribuir a la disbiosis microbiana en lesiones dermatológicas. En el caso del acné, las lesiones inflamatorias están asociadas con una sobreabundancia de ciertas cepas de *Cutibacterium acnes* y una reducida diversidad bacteriana en comparación con lesiones no inflamatorias de pacientes controles saludables. Un estudio informó una gran relativa abundancia de fagos de *C. acnes* en piel saludable comparada con la de lesiones de piel de pacientes con acné. La menor abundancia de estos fagos en las lesiones estaría vinculada a una excesiva presencia de la bacteria (Natarelli y col., 2023).

De los 15 actualmente conocidos poliomavirus (HPV) humanos, 8 han sido encontrados en piel sana y son considerados parte del viroma cutáneo humano. El más importante de ellos (MCPV) causa la mayoría de los carcinomas celulares Merkel (MCC), que es raro pero un muy agresivo tumor maligno de piel que afecta tanto a pacientes inmunocompetentes como a inmunodeprimidos. El rol de estos virus en el desarrollo de las lesiones de piel todavía no está claro, pero sí la relación entre ambos (Silling y col., 2022).

La fago deficiencia asociada a una abundancia de las bacterias patógenas sugiere que podría suministrarse, tópica u oralmente, un cóctel de fagos, y tal vez ser una estrategia terapéutica efectiva para mitigar los síntomas de enfermedad. Esto ha inspirado a investigaciones para ver la posibilidad de terapia fágica como una modalidad de tratamiento para condiciones cutáneas. La suplementación de fagos, ya sea oral o tópica, puede funcionar para reponer fagos con una subsecuente reducción de la bacteria patógena correspondiente.

Varias estrategias terapéuticas basadas en fagos se han ensayado para diferentes problemas dermatológicos incluyendo psoriasis, acné y dermatitis atópica con resultados disímiles (Natarelli y col., 2023).

Referencias bibliográficas

- Álvarez Calatayud, G.; Taboada Castro, L. & Boggio-Marzet, C.** (2021). Microbiota, probióticos y vacunas. *Anales de Microbiota, Probióticos y Prebióticos* 2 (1), 118-122.
- Brown, T.L.; Charity, O.J. & Adriaenssens, E.M.** (2022). Ecological and functional roles of bacteriophages in contrasting environments: marine, terrestrial and human gut. *Current Opinion in Microbiology* 70, <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102229>
- Camarillo-Guerrero, L.F.; Almeida A. (...) & Lawley, T.D.** (2021). Massive expansion of human gut bacteriophage diversity. *Cell* 184, 1098-1100. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>
- Duan, Y.; Young, R. & Schnabi, B.** (2022). Bacteriophages and their potential for treatment of gastrointestinal diseases. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 19(2), 135-144. <https://10.1038/s41575-021-00536-z>
- Dybboe Bjerre, R.; Bak Holm, J. (...) & Duus Johansen, J.** (2021). Skin dysbiosis in the microbiome in atopic dermatitis is site-specific and involves bacteria, fungus and virus. *BMC Microbiology* 21:256. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02302-2>
- Fernandez, L.; Duarte, A.C. (...) & Garcia, P.** (2021). The relationship between phageome and human health: are bacteriophages beneficial or harmful microbes? *Beneficial Microbes* 12(2), 107-120, <https://doi.org/10.3920/BM2020.0132>
- Graham, E.H.; Tom, W.A. (...) & Fernando, S.C.** (2023). The persistence and stabilization of auxiliary genes in the human skin virome. *Virology Journal* 20(1): 49. [10.1186/s12985-023-02012-3](https://doi.org/10.1186/s12985-023-02012-3)
- Gregory, A.C.; Zablocki, O. (...) & Sullivan, M.B.** (2020). The gut virome database reveals age-dependent patterns of virome diversity in the human gut. *Cell Host & Microbe* 28, 724-740. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.08.003>
- Harris, H.M. & Hill, C.** (2021). A place for viruses on the tree of life. *Frontiers in Microbiology* 11, 1-15. DOI:10.3389/fmicb.2020.604048.
- Hu, J.; Ye, H. (...) & Han, D.** (2021). Prophage activation in the intestine: Insights into functions and possible applications. *Frontiers in Microbiology* 12:785634. [10.3389/fmicb.2021.785634](https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.785634)
- Kim, A.H.; Hogarty, M.P. (...) & Baldrige, M.T.** (2021). The complex interactions between rotavirus and the gut microbiota. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 10:3389/fcimb.2020.586751
- Lv, Z.; Xiong, D. (...) & Chen, Z.** (2021). The interaction between viruses and intestinal microbiota: a review. *Current Microbiology* 78, 3597-3608. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02623-5>

Mazzarelli, A.; Giancoia, M.L. (...) & Paziienza, V. (2022). Gut microbiota composition in COVID-19 hospitalized patients with mild or severe symptoms. *Frontiers in Microbiology* :1049215.13- 10.3389/fmicb.2022.1049215.

Milani, C.; Duranti, S. (...) & Ventura, M. (2017). Role of the infant gut virome in modulating the infant gut homeostasis. In: The first microbial colonizers of the human gut: Composition, activities and Health implications of the infant gut microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 81 (4), 41-47. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>

Mozota Herbera, M.; Fernández Álvarez, L. & Rodríguez Gómez, J.M. (2021). COVID-19, microbiota y probióticos. *Anales de Microbiota, Probióticos y Prebióticos* 2 (1), 7-13

Mushegian, A.R. (2020). Are there 10³¹ virus particles on Earth, or more, or fewer? *Journal of Bacteriology* 202(9): e00052-20. <https://doi.org/10.1128/JB.00052-20>

Natarelli, N.; Gahoonia, N. & Sivamani, R.K. (2023). Bacteriophages and the microbiome in dermatology: The role of the phageome and a potential therapeutic strategy. *International Journal of Molecular Sciences* 24, 2695. <https://doi.org/10.3390/ijms24032695>

Pargin, E.; Roach, M.J. (...) & Giles, S.K. (2023). The human gut virome: composition, colonization, interactions and impacts on human health. *Frontiers in Microbiology* 14:963173. 10.3389/fmicb.2023.963173

Shkoporov, A.N.; Clooney, A.G. (...) & Hill, C. (2019). The human gut virome is highly diverse, stable and individual specific. *Cell Host & Microbe* 26, 527-641. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.09.009>

Shkoporov, A.N. & Hill, C. (2019). Bacteriophages of the human gut: The «Know Unknown» of the microbiome. *Cell Host & Microbe* 25, 195-207. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.01.017>

Shkoporov, A.N.; Turkington, C.J. & Hill, C. (2022). Mutualistic interplay between bacteriophages and bacteria in the human gut. Review. *Nature Reviews Microbiology* 20(12), 737-749. 10.1038/s41579-022-00755-4

Silling, S.; Kreuter, A. & Wieland, U. (2022). Human polyomavirus-associated skin diseases. *Hautarzt* 73(6), 426-433. 10.1007/s00105-022-04993-8

van Zyl, L.J.; Abrahams, Y. (...) & Trindade, M. (2018). Novel phages of healthy skin metaviromes from south Africa. *Science Report* 16(1): 12265, 10.1038/s41598-018-30705-1

Ventura, M.; Sozzi, T. (...) & van Sinderen, D. (2010). The impact of bacteriophages on probiotic bacteria and gut microbiota diversity. Commentary. *Genes Nutrition*. 10.1007/s12263-010-0188-4

Yang, Q.; Le, S. (...) & Wu, N. (2023). Regulations of phage therapy across the world. *Frontiers in Microbiology* 14: 1250848. 10.3389/fmicb.2023.1250848

Yu, X.; Cheng, L.& Kong, X. (2024). Gut phageome: challenges in research and impact on human microbiota. *Frontiers in Microbiology* 15: 1379382. 10.3389/fmicb.2024.1379382

Zuo, T.; Zhang, F. (...) & Ng, S. (2020). Alterations in gut microbiota of patients with COVID-19 during time of hospitalization. *Gastroenterology* 159(3), 944-955. 10.1053/j.gastro.2020.05.048

Zuo, T.; Wu, X. (...) & Lan, P. (2021). Gut microbioma alterations in COVID-19. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 19, 679-688 .<https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.09.004>

Zuppi, M.; Hendrickson, H. (...) & Vatanen, T. (2022). Phages in the gut ecosystem. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11, article822562, 10.3389/fcimb.2021.8225

Sobre el editor general

Jorge A. Reinheimer. Doctor en Química. Profesor Honorario, Universidad Nacional del Litoral (UNL). Profesor titular UNL. Exdirector del Instituto de Lactología Industrial (UNL–Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas). Investigador Superior de CONICET. Ex Director de la carrera de posgrado Especialización en Ciencia y Tecnología de la leche y productos lácteos. Director de proyectos de investigación de UNL, CONICET, Secretaría de Ciencia, Tecnología e Innovación de la provincia de Santa Fe (SECTEL), Secretaría de Políticas Universitarias (SPU) y Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT). Director de becarios doctorales y posdoctorales e investigadores (CONICET). Premio «Asociación Argentina de Microbiología» en reconocimiento a la trayectoria profesional y aportes a la comunidad científica, 2011 y 2019. Miembro de número de la Academia de Ciencias Médicas de la Provincia de Santa Fe. Coeditor de libros y coautor de capítulos de libros y de trabajos científicos publicados en revistas internacionales y nacionales. Coautor de numerosos trabajos científicos presentados en congresos nacionales e internacionales.

Sobre las autoras y los autores

Leonardo Albarracín. Doctor en Cs. Biológicas (FCN e IML-UNT). Becario posdoctoral CONICET en el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA–CONICET). Docente de grado (FACET–UNT) y posgrado (UNT).

Elisa Ale. Doctora en Ciencias Biológicas (FBCB–UNL). Investigadora Asistente CONICET en el Instituto de Lactología Industrial (UNL–CONICET).

Silvia Arboleya. Doctora (Universidad de Oviedo, España). Científica Titular del CSIC. Investigadora del Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA).

Ana Binetti. Doctora en Química (FIQ–UNL). Investigadora Principal CONICET en el Instituto de Lactología Industrial, (UNL–CONICET). Jefe de Trabajos Prácticos (FICH–FIQ, UNL).

Patricia Burns. Doctora en Ciencias Biológicas (FBCB–UNL). Investigadora Independiente CONICET en el Instituto de Lactología Industrial (UNL–CONICET). Prof. Titular (FBCB–UNL).

Ma. Carmen Collado. Profesora Investigadora Científica del CSIC en el Grupo de Bacterias Lácticas y Probióticos en el Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA–CSIC), España. Profesora Adjunta en la Universidad de Turku (Finlandia).

Juan G. Costa. Doctor en Cs. Biológicas (FBCB–UNL). Becario posdoctoral en el Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (CONICET). Profesor Titular (Facultad de Odontología del Instituto Universitario Italiano de Rosario).

Mariano Elean. Doctor en Cs. Biológicas (FCN e IML–UNT). Becario posdoctoral CONICET en el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA–CONICET). Docente de posgrado (UNT).

Luciana Gerez. Doctora en Ciencias Biológicas (FBQYF–UNT). Investigadora Independiente CONICET en el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA–CONICET). Docente de posgrado (UNT).

Miguel Gueimonde. Doctor en Biología (Universidad de Oviedo, España). Investigador Científico del CSIC adscrito al Instituto de Productos Lácteos de Asturias (IPLA). Ex Investigador posdoctoral en el Functional Foods Forum de la Universidad de Turku (Finlandia).

Emilia Hick. Licenciada en Nutrición (FBCB–UNL). Becaria doctoral CONICET en el Instituto de Lactología Industrial (UNL–CONICET). Jefe de Trabajos Prácticos (FBCB–UNL).

Melisa Puntillo. Doctora en Ciencias Biológicas (FBCB–UNL). Becaria posdoctoral CONICET en el Instituto de Lactología Industrial (INLAIN–UNL–CONICET). Docente en la cátedra de Microbiología de la Escuela Industrial Superior (UNL).

Juan M. Rodríguez Gómez. Catedrático. Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid. Vicepresidente de la Sociedad Española de Microbiota, Probióticos y Prebióticos (SEMIPYP).

Julio Villena. Doctor en Bioquímica (FBQYF-UNT). Investigador Independiente CONICET en el Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CONICET). Docente de posgrado (UNT).

Gabriel Vinderola. Doctor en Química (FIQ-UNL). Investigador Principal CONICET en el Instituto de Lactología Industrial (UNL-CONICET). Profesor Asociado (FIQ-UNL).

Ma. Florencia Zacarías. Doctora en Ciencias Biológicas (FBCB-UNL). Investigadora Asistente CONICET en el Instituto de Tecnología de Alimentos (ITA-FIQ).

El nuevo conocimiento desarrollado por la biología incluye un tema sorprendente, cual es la presencia de los microorganismos asociados al cuerpo humano y su incidencia en la salud. En la FIQ existe un grupo de microbiólogos que en los últimos años se ha dedicado a este tema. Con ellos y con la colaboración de grupos europeos y otros del país con extensa trayectoria, se decidió volcar en una obra todos los conocimientos, propios y de la bibliografía reciente. Es enorme el interés en la microbiota corporal, no solo desde el punto de vista científico sino también porque a partir de ella pueden obtenerse microorganismos benéficos que generan el desarrollo de alimentos y/o medicamentos para potenciar la salud.