

# Microbiota intestinal y su relación con agentes oportunistas vinculados a las epidemias

► Ileana Martínez-Cabrera<sup>1a\*</sup>, Victoriano Gustavo Sierra-González<sup>†2b</sup>, Esther María Fajardo-Díaz<sup>3c</sup>

<sup>1</sup> Doctora en Ciencias Médicas Básicas. Máster en Ensayos Clínicos. Doctora en Ciencias Farmacéuticas. Máster en Bioquímica.

<sup>2</sup> Doctor en Ciencias Médicas. Médico Especialista en Inmunología, Académico de Mérito de la Academia de Ciencias de Cuba.

<sup>3</sup> Licenciada en Ciencias Biológicas. Máster en Ciencias en Bioquímica de Proteínas.

<sup>a</sup> Empresa 3P Bio Pharmaceutical. Navarra. España.

<sup>b</sup> BioCubaFarma. Grupo de las Industrias Biotecnológicas y Farmacéuticas de Cuba. La Habana, Cuba.

<sup>c</sup> Consultora independiente para temas sobre Biotecnología. La Habana, Cuba.

\* Autora para correspondencia.

## Resumen

Existen epidemias silenciosas asociadas al estrés y a los malos hábitos de alimentación, tan importantes como las epidemias tradicionales asociadas a la pobreza, a problemas geográficos y climáticos. Numerosos estudios se suman al importante papel de un patrón estable de la microbiota intestinal que favorece el estado saludable en los seres humanos y por lo tanto, su posible implicación en la incidencia y prevalencia de enfermedades que pueden convertirse en epidémicas. En esta revisión se analiza el estado actual de la relación entre los factores demográficos, geográficos, ambientales, patrones de consumo de alimentos con la microbiota intestinal y la aparición de epidemias de origen microbiano, metabólico e inmunológico. Se apoya la iniciativa promovida internacionalmente para la creación de plataformas metagenómicas que contribuyan al estudio del patrón de la microbiota intestinal, el seguimiento epidemiológico y la prevención de las enfermedades epidémicas asociadas con su alteración, así como el diseño de métodos rápidos y económicos para la complementación de estos estudios.

**Palabras clave:** Microbiota intestinal; Epidemias; Metagenómica

*Gut microbiota and its relationship with opportunistic agents linked to epidemics*

## Abstract

*Silent epidemics associated with stress and unhealthy eating habits are as important as traditional epidemics related to poverty, geographical and climate problems. Many studies incorporate the important role of a stable pattern of gut microbiota that favours the human health status and therefore, its possible implication in incidence and prevalence of diseases that can become epidemics. In this review, the current state-of-art is analysed in terms of relationship between demographic, geographic, environmental factors, and habits with the gut microbiota pattern and the onset of epidemics of microbial, metabolic and immunological origin. The internationally promoted initiative for the creation of metagenomic platforms contributing to studies of the gut microbiota pattern for the epidemiological monitoring and prevention of epidemic diseases associated with its alteration is fostered, as well as the design of rapid and economic methods to complement these studies.*

**Keywords:** Gut microbiota; Epidemics; Metagenomics

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

## Resumo

### *Microbiota intestinal e sua relação com agentes oportunistas ligados a epidemias*

Existem epidemias silenciosas associadas ao estresse, maus hábitos alimentares, tão importantes quanto as epidemias tradicionais associadas à pobreza, problemas geográficos e climáticos. Numerosos estudos contribuem para o importante papel de um padrão estável de microbiota intestinal que favorece o estado saudável em seres humanos e, portanto, sua possível comprometimento na incidência e prevalência de doenças que podem se tornar epidêmicas. Esta revisão analisa o estado atual da relação entre fatores demográficos, geográficos, ambientais, padrões de consumo de alimentos com a microbiota intestinal e o aparecimento de epidemias de origem microbiana, metabólica e imunológica. É fornecido apoio à iniciativa promovida internacionalmente para a criação de plataformas metagenômicas que contribuam para o estudo do padrão da microbiota intestinal, monitoramento epidemiológico e prevenção de doenças epidêmicas associadas à sua alteração, bem como o desenho de métodos rápidos e baratos para a complementação desses estudos.

**Palavras-chave:** Microbiota intestinal; Epidemias; Metagenômica

## Introducción

El control epidemiológico de las enfermedades metabólicas, inflamatorias y entéricas constituye uno de los principios más importantes en la prevención, dentro de los sistemas de salud y de las organizaciones sanitarias internacionales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) se han referido al efecto que causan en la salud humana los desastres naturales, el propio hombre y el hacinamiento humano en campos de refugiados, identificados como algunos de los factores que contribuyen a la propagación de las epidemias (1).

Actualmente, el patrón bacteriano de un órgano o tejido se tiene en cuenta para analizar la etiología de las enfermedades, gracias al esclarecimiento del papel de las bacterias en las alteraciones moleculares en el sistema inmune y su aporte como probióticos en el restablecimiento de los géneros bacterianos y levaduras, beneficiosos en el tracto gastrointestinal, como: *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus clausii*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces boulardii* y *Saccharomyces cerevisiae* (2).

Después de más de dos décadas desde los primeros estudios genómicos de las comunidades bacterianas presentes en el intestino (como los descritos por Zoetendal *et al.* (3), se han explorado los principales géneros y los mecanismos complejos en los que están implicados estos géneros, la posibilidad de su regulación a través del control de la expresión del llamado núcleo (*core*) de bacterias de mayor representación en el intestino y el papel del consumo de alimentos (4). Todo ello ha permitido el desarrollo de lo que por entonces se anticipaba con el término de la “era de la metagenómica”.

El objetivo de este trabajo de actualización fue agrupar y analizar algunas referencias que aportan elementos acerca del porqué de la estabilidad en el patrón de la microbiota intestinal individual y de la conservación de la tendencia en las poblaciones. Éste es un elemento a tener en cuenta en los estudios de vigilancia preventiva de las epidemias relacionadas con los cambios en este patrón.

## Desarrollo

El tema de la microbiota intestinal tiene cada vez mayor importancia en la dilucidación de los complejos mecanismos etiológicos de las enfermedades y su connotación en el desarrollo de las epidemias. En el año 2011 comenzó uno de los primeros estudios de caracterización realizados en España, en el Hospital Comarcal de Inca (Islas Baleares), en colaboración con la Universidad de las Islas Baleares, acerca del patrón bacteriano presente en heces de sujetos sanos (grupo control), pacientes con diabetes *mellitus* tipo 2 y pacientes obesos (no diabéticos), a través de tecnologías metagenómicas para la identificación de los géneros bacterianos más frecuentes en el intestino humano. El grupo control incluyó sujetos en los que no se detectaron variables clínicas alteradas ni enfermedades de tipo digestivas inflamatorias y a los que no se les aplicaron tratamientos con antibióticos o medicamentos antiinflamatorios (5).

En general, los resultados de este trabajo constituyeron una evidencia más de que existe una estrecha relación entre la variedad y cantidad de bacterias intestinales con las variables clínicas características del estado sano y el estado patológico. Se identificaron algunos de los géneros bacterianos como posibles marcadores de diabetes y obesidad (*Clostridium coccoides*, *Eubacterium rectale*, *Bacteroides* spp. y *Bifidobacterium* spp.) y posibles

marcadores en individuos sanos (*Prevotella* spp. y *Lactobacillus* spp.), así como su estrecha relación con el patrón de consumo de alimentos del llamado “estilo de consumo mediterráneo”. Este estudio multicomponente demostró un efecto dominante en cuanto a la variabilidad bacteriana (16,9% de varianza), representado por *Clostridium coccoides*, *Eubacterium rectale*, *Bacteroides* spp., *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp. Un segundo componente en orden de importancia, estuvo relacionado con las fuentes de prebióticos: (a) de fructo-oligosacáridos (FOS), los cuales pueden encontrarse en cebolla, ajo, cebolleta, endivias, puerros, arvejas, tirabeques, acelga, alcauciles, espárragos, tomates, leguminosas, plátanos, maíz, papas, soja en grano, pipas de girasol, avellanas, almendras, nueces, castañas de cajú y maníes (b) de manano-oligosacáridos (MOS), presentes en productos fermentados como cerveza, aceituna, vino y salsa de soja y (c) con fuentes de grasas poliinsaturadas y monoinsaturadas (5).

El análisis mostró un tercer componente en orden de importancia que incluyó la fuente animal (carne roja, carne blanca y la grasa de origen animal) y el consumo de isomalto-oligosacáridos (IMOS; harina de trigo, de centeno, de avena y de maíz) (5).

El desarrollo posterior de las herramientas metagenómicas (metodologías desarrolladas por la plataforma *Illumina: 16S Amplicon* y *XT Nextera Metagenomic*), a través de la preparación de bibliotecas genómicas permitió ampliar la identificación de 451 géneros en una sola secuenciación masiva, lo cual fue aprovechado por este grupo de investigación para ampliar el estudio hacia las enfermedades inflamatorias intestinales. Martínez-Cabrera *et al.* (6) caracterizaron la abundancia bacteriana en la enfermedad de Crohn, comparada con colitis ulcerosa y presencia de pólipos colorrectales. Se tomaron muestras de diferentes zonas transversales del intestino (lumen y mucosa en la misma área sana; o lumen y mucosa en la misma área afectada) y longitudinales (muestras tomadas a lo largo del intestino donde se habían visualizado afectaciones y se seleccionaron muestras de zonas sanas en el lado contrario, anteriores o posteriores a las afectadas), a partir de los estudios realizados en colitis ulcerosa por Lavelle *et al.* (7).

Los resultados obtenidos por Martínez-Cabrera *et al.* (6) no permitieron hablar de un núcleo o marcadores bacterianos (por el número reducido de pacientes), pero proporcionaron algunas recomendaciones acerca del uso de estos métodos para el seguimiento complementario a los estudios de colonoscopia.

Actualmente, se refiere a la microbiota como uno de los ecosistemas más importantes en la regulación, extensión de las epidemias y protección frente a las mismas. No sólo las epidemias producidas por patógenos son el resultado del desequilibrio en este ecosistema; también deben considerarse las producidas por trastornos metabólicos o inflamatorios. La obesidad es una

enfermedad metabólica con implicaciones etiológicas complejas que ha adquirido connotaciones epidémicas, sobre todo en los países de estilo de vida y alimentación de tipo “occidental”. Esta patología y su relación con determinados patrones de microbiota intestinal presentes en estas poblaciones dependen de sus orígenes étnicos, edad o estatus socioeconómico. Existen evidencias de que algunos genes humanos están asociados con la abundancia de determinados géneros de bacterias intestinales, lo cual provee a la mucosa de una mayor susceptibilidad para tolerar determinadas bacterias favorables o no al desarrollo de estas patologías (8).

Las bases genéticas de las enfermedades de tipo inflamatorio pulmonar y entérico se relacionan con la capacidad del organismo humano a tolerar y/o protegerse de determinados desbalances de la microbiota a través de los mecanismos de homeostasis (9) (10) (11). Tomando como eje fundamental a la homeostasis-microbiota, podrían explicarse las causas por las que determinadas enfermedades pueden convertirse en epidemias, e incluso, en pandemias.

### Control homeostático inmunitario de la estabilidad de un determinado patrón de microbioma intestinal

Se conoce como microbiota intestinal al conjunto de comunidades de bacterias, hongos, arqueas y virus que forman parte del intestino humano y animal, tanto en la mucosa como en el lumen intestinal. La determinación de los genomas colectivos presentes se conoce como microbioma intestinal (9).

En el organismo humano (hospedador) se presenta un sistema de regulación que garantiza una determinada estabilidad y convivencia simbiótica, en cuanto al tipo de microbio comensal (especies, géneros, familias, filos) y cantidad de estos, conocido como mecanismo de “homeostasis inmunitaria”. Este sistema está destinado a mantener la estabilidad funcional en el hospedador a través del balance entre vigilancia y tolerancia en presencia de microbios comensales, agentes infecciosos y patógenos oportunistas presentes en los tejidos y órganos. Este sistema vincula a los factores genéticos, inmunológicos, metabólicos, hormonas, señalizadores, receptores y macroestructuras de las membranas, entre otros (9).

Este sistema está sujeto, además, a variaciones externas al hospedador como factores socio-demográficos, edad y estilo en el consumo de alimentos, lo cual determina el origen y estabilidad de un determinado patrón de microbiota intestinal, beneficioso para el hospedador y para los microorganismos (9).

Existen dos ejes que relacionan los principales sistemas de órganos importantes para el control de la microbiota a través de un mecanismo homeostático eficiente

coordinado en el hospedador: el sistema gastrointestinal y el respiratorio y el gastrointestinal y el sistema nervioso central que conforman los llamados “eje intestino-pulmón” y “eje intestino-cerebro” (9) (10) (12).

Para conocer cómo opera este mecanismo de regulación es necesario tener en cuenta los orígenes de un determinado perfil de microbiota. Los inicios se atribuyen al nacimiento del niño porque se ha descrito que, en estado fetal, los pulmones están llenos de líquido amniótico estéril libre de microbios y que una vez nacido el niño, las bacterias colonizan las mucosas de una manera homogénea, hasta que con el crecimiento, se diferencian por comunidades de órganos (10). Esta adquisición de la microbiota por el niño, en una primera instancia, se produce a través del canal del parto de la madre en el nacimiento natural o por la vía de la cesárea (10), lo cual será analizado en esta revisión.

En condiciones normales, la mucosa intestinal adquiere una determinada carga microbiana, de manera que la proximidad física entre estas poblaciones presentes en el tejido del hospedador, favorece el intercambio metabólico y brinda oportunidades inmunológicas para beneficio de éste; sin embargo, al mismo tiempo, puede constituir una amenaza constante a la salud humana (9). Esta carga microbiana favorable, en términos de cantidad y diversidad, se distribuye desde el lumen hacia la mucosa (11). La distribución morfológica de la multicapa intestinal permite establecer una barrera para la convivencia de las especies microbianas, sin atravesar el epitelio intestinal, lo cual evita la invasión microbiana a tejidos profundos del hospedador (11) (13).

Una gran franja de moco (compuesto por mucina) separa la zona luminal (lumen) del epitelio en los sujetos sanos, hacia la que se secretan diariamente las IgA (IgAs), en la primera línea de defensa inmune. Esta IgAs actúa como centinela y agente neutralizante (11) (13).

Los microbios beneficiosos producen factores y metabolitos solubles secretados hacia la mucosa intestinal (como ácidos grasos de cadena corta y vitaminas), utilizando sustratos de la dieta. Estos compuestos bioactivos afectan la función del epitelio intestinal y las células inmunitarias de la mucosa (células dendríticas y macrófagos) que se activan y el resultado será la producción de citoquinas y factores relacionados (el ligando inductor de la proliferación y el factor de activación de células B) (11) (13). Todos estos mediadores e inmunoglobulinas son importantes para mantener sano al hospedador o en estado de portador, sin desarrollar una determinada enfermedad.

La IgAs es parte del mecanismo homeostasis-simbiosis o mecanismo de exclusión inmune que evita la interacción de los antígenos neutralizados (toxinas, virus y bacterias patógenas) con el epitelio, lo cual contribuye a aliviar la carga funcional del sistema inflamatorio y evita daños epiteliales. A la IgAs se le atribuye, además, una

función inmunopotenciadora, inductora de respuestas inmunes efectoras en un contexto no inflamatorio favorable para preservar la homeostasis local (11) (13).

Otros de los guardianes presentes en el moco son las  $\alpha$ -defensinas (expresadas en las células de Paneth del intestino), a las que se les atribuyen múltiples funciones bactericidas o bacteriostáticas. Algunos tipos, como HD5, proceden de forma similar a los péptidos de neutrófilos ya que interactúan con las membranas celulares bacterianas y las alteran, pero también se les atribuyen efectos en el citoplasma de la célula blanco. En cambio, el tipo HD6 se autoensambla espontáneamente en nanorredes de péptidos múltiples, al entrar en contacto con estructuras bacterianas, como flagelos y fimbrias. Esta función le confiere a la defensina HD6 un papel clave en la agregación y el secuestro de bacterias que ingresan a las criptas del intestino delgado y así previene la muerte celular directa, como si HD6 detuviese a las bacterias (14).

Pero la vigilancia inmunitaria del hospedador hacia la comunidad comensal intestinal no se reduce a esta primera línea de defensa. Implica, además, el reconocimiento de una diversidad de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) como el lipopolisacárido (LPS) y otros componentes de la pared celular bacteriana a través de receptores tipo Toll (TLR), que median la tolerancia a la microbiota, y de proteínas de dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD) que son mediadoras en la activación de las  $\alpha$ -defensinas (9).

Estos receptores actúan en distintos compartimentos celulares y se sitúan en la superficie epitelial expuesta hacia el lumen para promover la tolerancia y la respuesta inflamatoria saludable. Sin embargo, su activación en la superficie basolateral de los colonocitos conduce a fuertes respuestas proinflamatorias. La interacción de algunos ligandos microbianos presentes, como por ejemplo, en especies de *Salmonella* no patógenas, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Lactobacillus casei*, *Clostridium* spp. y *Bacteroides fragilis*, entre otros, actúa como moduladora favorable de la homeostasis inmunitaria (9).

En la Figura 1 se resume solo una parte del complejo mecanismo, referido por varios autores, destinado a mantener el control homeostático recíproco durante la convivencia entre el hospedador y la microbiota, así como el alcance de este mecanismo en otros sistemas de órganos que componen los ejes con el intestino (15) (16) (17).

Skelly *et al.* (15) explicaron ampliamente los mecanismos que garantizan el equilibrio entre las respuestas antiinflamatorias y proinflamatorias, inducidas por algunos géneros de la microbiota en el intestino, lo cual permite interpretar el importante papel de algunas poblaciones microbianas que pueden autorregular su representación e inhibir o activar estas vías de respuesta del hospedador, manteniendo el balance entre estas dos respuestas inmunoinflamatorias.

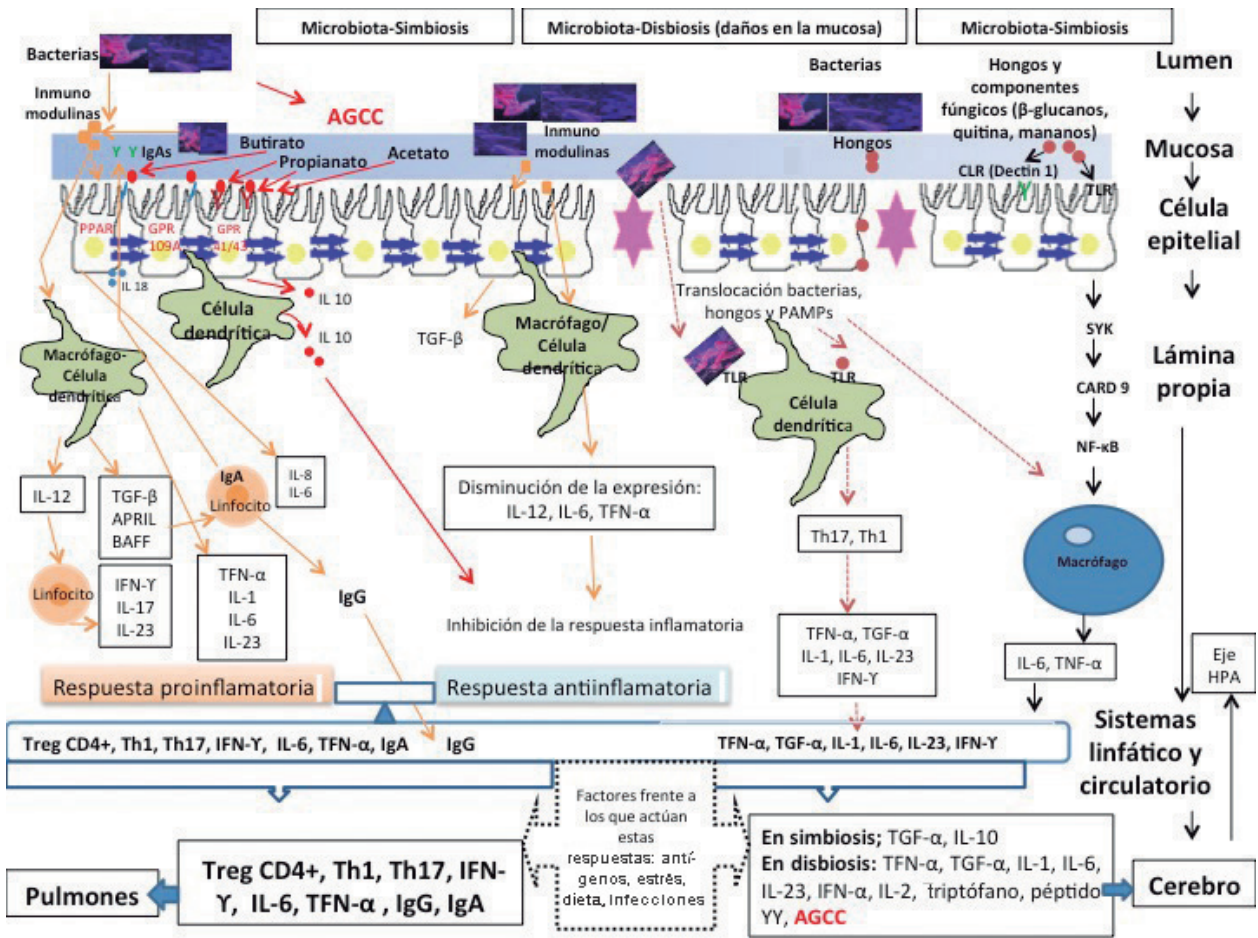


Figura 1. Resumen de algunos de los mecanismos homeostáticos, durante la convivencia entre el hospedador y la microbiota, en simbiosis o en disbiosis (15) (16) (17) (21) (22).

### Ejemplos de la inmunomodulación antiinflamatoria

La presencia de especies bacterianas como *B. infantis* promueven la expresión de células dendríticas (CD) productoras de la enzima retinaldehído deshidrogenasa 2 (Ald1a2), responsable de la producción de altos niveles de ácido retinoico (AR), principal precursor de la vitamina A. El AR, junto con el factor de crecimiento transformante β (TGF-β), promueve la diferenciación de células T vírgenes en células que expresan la proteína *forkhead P3* (FOXP3) y en células T reguladoras (Treg). FOXP3 es el principal factor de transcripción que controla la función de las células T reguladoras (células Treg o CD4+) y puede inhibir la transcripción de genes clave tras la estimulación de los receptores de las células T. Por su parte, AR y TGF-β también regulan positivamente la expresión de los receptores de alojamiento integrina α4β7 y el receptor 9 de quimiocinas (CCR9), cuando las células T efectoras (CD4+

y CD8+) y de memoria, migran a la mucosa intestinal, favoreciendo el tropismo intestinal. Esto se traduce en la inhibición de una fuerte respuesta inmunitaria del hospedador frente a inmunógenos dietéticos y microbios comensales (15).

La disponibilidad epitelial de los precursores vitamínicos o de las vitaminas proporcionados al hospedador a través de la dieta o disponibles a partir de suplementos, cuya absorción está regulada por algunos géneros bacterianos ha sido uno de los objetivos de análisis para la dilucidación de las causas de algunas enfermedades, tratamiento y prevención (18).

En una revisión realizada por Yamamoto y Jørgensen (18), se sostiene que la disponibilidad de vitamina D se ha relacionado clásicamente con la regulación de la transcripción genómica involucrada en los mecanismos homeostáticos del calcio y el crecimiento óseo, a través de la vía del receptor de unión a la vitamina D (VDR), lo cual se asocia con la inhibición de las respuestas Th17 y Th1 (respuesta proinflamatoria) y con la estimulación

de las células Treg con dominio FOXP3+ (respuesta antiinflamatoria). Por otra parte, algunos de los trabajos analizados en esta revisión, se refirieron al incremento de *Prevotella* presente en heces de sujetos sanos con una mayor ingesta de vitamina D, mientras que la representación fue menor en géneros como: *Haemophilus* (*Proteobacteria*) y *Veillonella* (*Firmicutes*). Sin embargo, los revisores hacen énfasis en que el tipo de muestra analizada puede ser importante en la dilucidación de estas asociaciones, poniendo mayor interés en muestras de biopsias de endoscopías y colonoscopías que en muestras de heces.

Se conoce poco acerca de los efectos directos de la vitamina D sobre las bacterias. Yamamoto y Jørgensen (18) identificaron un único estudio que demostró que esta vitamina inhibía el crecimiento *in vitro* de especies de micobacterias específicas. Según estos autores, si se corrobora este hallazgo, los efectos antimicrobianos de la vitamina D serían compatibles con las propiedades inmunorreguladoras conocidas y, si no, sería probable que la microbiota estuviese regulada, indirectamente, por las propiedades inmunológicas de la vitamina D. No obstante, los autores argumentaron que las bacterias influyen también en el metabolismo de la vitamina D, de manera que algunas bacterias expresan enzimas involucradas en la hidroxilación de esteroides y, por lo tanto, son capaces de procesar y activar la vitamina D de forma similar a como ocurre en los seres humanos (como por ejemplo, *Streptomyces griseolus*) (18).

Otro caso de inducción de este tipo de la respuesta antiinflamatoria del hospedador lo promueve el polisacárido A (PSA) de la cápsula de *B. fragilis*. Esta molécula puede ser transportada formando parte de vesículas de membrana externa hacia la lámina propia intestinal, a través de una proteína relacionada con la autofagia (ATG16L1) y una proteína que contiene el dominio de oligomerización de unión a nucleótidos (NOD2). El PSA interactúa con el receptor tipo Toll 2 (TLR2) presente en las células Treg con dominio FOXP3+, para inducir su proliferación y la producción de IL-10, promoviendo así un estado antiinflamatorio, favorable en la protección contra colitis y enfermedad de Crohn (15).

Estos efectos antiinflamatorios se pueden lograr, además, mediante ácidos grasos de cadena corta (AGCC), como butirato y propionato, productos del metabolismo bacteriano en el intestino, los cuales son aportados a la célula epitelial del hospedador por consorcios de cepas de *Clostridium*. El butirato inhibe las histonas desacetilasas, lo que aumenta la transcripción en el promotor FOXP3. Las señales de propionato producen este efecto a través de GPR43, cuyo resultado final es la producción de IL-10 antiinflamatoria (15).

El butirato interviene en otro mecanismo de respuesta antiinflamatoria, mediante el cual promueve la polarización de macrófagos de tipo M2, regulando el incremento de la expresión de la enzima arginasa 1

(ARG1), lo que finalmente promueve la disminución en la producción del factor de necrosis tumoral (TNF) y la expresión de NOS2, IL-6 e IL-12b (15).

Es precisamente éste uno de los puntos de regulación importantes en el dominio de una u otra respuesta inflamatoria: la activación alternativa de un tipo u otro de macrófago. Los macrófagos tienen una alta adaptabilidad funcional que les permite manifestar propiedades proinflamatorias o antiinflamatorias, en respuesta a varias citoquinas y productos microbianos. Los macrófagos se dividen en dos grupos: los de fenotipo M1 activados clásicamente (estimulados por IFN- $\gamma$  y LPS) que ejercen efectos proinflamatorios y los de fenotipo M2 activados alternativamente (que son estimulados por IL-4 o IL-13), los cuales realizan funciones antiinflamatorias (19).

Estos mecanismos de alternancia están relacionados con el origen y evolución de muchas enfermedades inflamatorias. Se ha demostrado que en la obesidad los macrófagos del tejido adiposo cambian del macrófago polarizado fenotipo de M1 al macrófago polarizado fenotipo de M2, reduciendo así las señales inflamatorias derivadas del tejido adiposo. Algunas enfermedades como la artritis reumatoidea, están estrechamente relacionadas con el desequilibrio de los macrófagos M1 y M2 y podrían atenuarse restableciendo el equilibrio M1/M2. De la misma manera, se ha demostrado que en modelos de ratones, la enfermedad del intestino inflamado podría mejorarse, cambiando del fenotipo proinflamatorio (M1) al antiinflamatorio (M2) (19).

El mecanismo homeostático en el cual está involucrado el aminoácido esencial triptófano (Trp) procedente del consumo de alimentos, es otro de los ejemplos de regulación de la respuesta antiinflamatoria. Su metabolismo en el intestino incluye la transformación directa de Trp por bacterias intestinales (*L. reuteri* y *Lactobacillus murinus*) en varias moléculas, como el indol y sus derivados. Estos derivados del indol envían señales, a través del receptor de hidrocarburos arilo (AhR) presentes en los linfocitos intraepiteliales CD4+ para regular la reducción en la expresión del factor T helper inductor de *POZ/Kruppel-like* (ThPOK) y así inducir la expresión de RUNX3, lo que facilita la diferenciación en CD4+ y en CD8 $\alpha\alpha$ + (15).

La señalización de AhR se considera un componente clave de la respuesta inmune en los puntos cuya función es de barrera, crucial para la homeostasis intestinal al actuar sobre la renovación epitelial, la integridad de la barrera y numerosos tipos de células inmunes (linfocitos intraepiteliales, células Th17, células linfoides innatas, macrófagos, células dendríticas y neutrófilos) (20).

Se han identificado algunas vías metabólicas de Trp en otros miembros de la microbiota intestinal humana, como *Clostridium sporogenes*, capaz de descarboxilar al Trp y conducir a la producción del neurotransmisor triptamina. En esta especie también se han descrito

vías oxidativas y reductoras que producen ácido indolacético y ácido indolpropiónico, dos metabolitos de Trp que afectan la permeabilidad intestinal y la inmunidad del huésped. Contribuyen a este tipo de regulación los transportadores activos de Trp e indol identificados en *E. coli*, así como la triptofanasa (expresada en *E. coli* y *Lactobacillus* spp.) que convierte Trp en indol (20).

En las últimas décadas, se ha demostrado la relación entre la microbiota intestinal y la etiología de enfermedades asociadas con los estilos de vida occidentales, con los productos finales del metabolismo de Trp y con deficiencias de Trp, como: enfermedades inflamatorias del intestino (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), síndrome del intestino irritable (SII), síndrome de las enfermedades metabólicas y complicaciones asociadas (diabetes, obesidad, hígado graso no alcohólico, resistencia a la insulina y aterosclerosis) y rasgos neuropsiquiátricos (en particular, ansiedad, depresión y autismo) (20).

Skelly *et al.* (15) se refirieron a otros copartícipes de las respuestas antiinflamatorias, como: *Bifidobacterium bifidum*. Esta bacteria produce polisacáridos de  $\beta$ -glucano/galactano (CSGG) hacia la superficie epitelial, lo cual estimula señales gracias a su interacción con TLR2 presente en las células dendríticas (CD) y las acondicionan para inducir células Treg FOXP3+. Estas últimas son capaces de suprimir la producción de IL-2, IL-4 e IFN- $\gamma$  (15).

Con algunas similitudes a este mecanismo descrito, pero con mayor potencia, *Clostridium ramosum* y algunas especies de *Helicobacter* inducen la diferenciación de células Treg FOXP3+ para expresar el receptor huérfano de retinoides (ROR $\gamma$ t). El resultado de esta última inducción es la inhibición de las respuestas Th1, Th2 y Th17. Esta ruta podría estar relacionada con el componente inflamatorio en algunas enfermedades intestinales (15).

## Ejemplos de inmunomodulación proinflamatoria

Existen consorcios bacterianos (bacterias filamentosas segmentadas) que se adhieren al epitelio intestinal para inducir al factor de transcripción C/EBP $\delta$  (que interviene en procesos inflamatorios, de inducción de la proliferación celular, diferenciación y estabilidad genómica), responsable de que aumente la expresión de la proteína amiloide A sérica (sintetizada fundamentalmente en el hígado, en respuesta a las citoquinas liberadas por los macrófagos en fase aguda de infección). La proteína amiloide A sérica induce las células T helper 17 (Th17) y produce un incremento en la producción de IL-17. A su vez, la proteína amiloide A sérica estimula a las CD para producir IL-1 $\beta$ , mientras que IL-1 $\beta$  establece un bucle de amplificación de la proteína amiloide A sérica. Este fragmento de regulación está relacionado con la señalización que generan ambos tipos de bacterias (filamentosas segmentadas y no filamentosas segmentadas), a través de la producción y señalización

de IL-23 hacia las células linfoides innatas del grupo 3 (ILC3), para que produzcan IL-22. Esta última IL-22 envía señales por la vía del activador de la transcripción 3 (STAT3) presente en las células epiteliales para inducir, aún más, la expresión de amiloide A sérica y Th17 proinflamatoria. El resultado de este último mecanismo podría ser, por una parte desfavorable si se produjese la exacerbación de la artritis autoinmune o, por otro lado favorable, relacionado con la protección ante las infecciones enteropatógenicas (15).

Una gran variedad de géneros de bacterias se han asociado con una intensa respuesta proinflamatoria, entre las que se destaca *Bifidobacterium adolescenti*. En un caso descrito de un paciente en el que se aisló esta bacteria, se relacionó la adhesión epitelial bacteriana con la inducción de células Th17 y la citoquina IL-17 (15).

A través de un mecanismo similar, algunas especies de *Helicobacter* promueven este efecto con la consiguiente exacerbación de enfermedades autoinmunes. Sin embargo, *Prevotella copri* lo hace a través de la producción de succinato, destinado a la inducción de señales por mediación del receptor GPR91 presente en las CD, con el objetivo de mejorar las respuestas inmunitarias específicas de antígeno y las respuestas dirigidas por TLR (15).

A través de otros mecanismos muy diferentes a los referidos, *Bilophila wadsworthia* reduce la taurina desconjugada a sulfito, que utiliza para el metabolismo y la inducción de células Th1 productoras de IFN- $\gamma$ , responsables de la exacerbación de la colitis. Con la presencia de *Klebsiella pneumoniae* en el intestino, el resultado es el mismo, pero de una manera dependiente de los receptores CD11b-CD103 representados en las CD dependientes de TLR y de IL-18 (15).

Como se puede constatar, las bacterias utilizan diferentes mecanismos de regulación de la respuesta inflamatoria en el hospedador de manera que exista un equilibrio entre ambos tipos de inmunomodulación (Fig. 1). Sin embargo, no son menos importantes los mecanismos involucrados en el reconocimiento, tolerancia y protección frente a los hongos que forman parte de la microbiota (Fig. 1).

Si bien los principales brotes epidémicos registrados en el mundo han sido por causas bacterianas o víricas (<https://www.who.int/csr/don/archive/year/es/>), una de las infecciones más frecuentes en los pacientes hospitalizados con enfermedades de alta complejidad, ha sido a causa del hongo *Candida albicans*. Esta infección fúngica en el sistema nervioso central (SNC) constituye una complicación potencialmente mortal que agrava el pronóstico de los pacientes (21).

En revisiones realizadas por algunos autores (21) (22) se analizaron y propusieron las principales vías homeostáticas de control de las poblaciones fúngicas comensales e invasoras, relacionadas con el eje intestino-cerebro (Fig. 1). En primer lugar, los receptores de patrones de reconocimiento (PRR) y los PAMPs son

importantes en el mecanismo de señalización en infecciones fúngicas sistémicas y en las mucosas. Algunos factores de riesgo intrínsecos están determinados por defectos genéticos innatos en las células efectoras antifúngicas del huésped o en moléculas de señalización, que resultan relevantes en la defensa de diferentes órganos frente a hongos oportunistas. Estas alteraciones involucran mutaciones en los genes que codifican la síntesis de enzimas que se encuentran en los lisosomas de los neutrófilos y que se asocian con la candidiasis diseminada, las cuales conducen a fallas en la fagocitosis, a trastornos en la señalización de citoquinas (como IL-17), o a defectos en la vía Dectina-1/CARD9 (21) (22).

Los receptores más conocidos en la respuesta frente a patógenos fúngicos son los de lectina tipo C (conocidos como PRR) que reconocen a hidratos de carbono como mananos, glucanos y quitina, presentes en la pared celular de los hongos. Estos receptores son necesarios para el reconocimiento y la fagocitosis, la inducción de mecanismos efectores antimicrobianos y de mediadores inflamatorios que dirigen y modulan la inmunidad adaptativa, incluidas las respuestas Th1 y Th17. Los principales miembros de este grupo de receptores que participan en la actividad antifúngica son: las familias de Dectina, el receptor Mincle, el CR3, el receptor de manosa y el DC-SIGN, que se expresan principalmente en células mieloides. Algunos trastornos en la expresión del receptor Dectina-1 han contribuido a deficiencias en el reconocimiento de los glucanos de la pared de *C. albicans*, lo que provocaba una disminución en la secreción de citoquinas, principalmente IL-17, TNF e IL-6 (21).

Muchas de las respuestas antifúngicas dependen exclusivamente de la activación de la proteína tirosinaquinasa no receptora (SYK) presente en células mieloides del intestino y, además, de la proteína adaptadora CARD9. La molécula adaptadora CARD9 interviene en la respuesta antifúngica frente a *C. albicans*, al ubicarse en la cascada de señalización por debajo de la quinasa SYK. La molécula CARD9 constituye una vía común a los receptores de lectinas de tipo C y se vincula con la vía de activación del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) que permite el equilibrio entre respuestas proinflamatorias y antiinflamatorias. Algunas fallas en este mecanismo están relacionadas con el desarrollo de enfermedades digestivas inflamatorias como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (21).

El microbioma intestinal es otro miembro esencial del eje intestino-cerebro, junto al bacterioma. El SNC puede influir en la composición de este microbioma, a través del eje hipotalámico-pituitario-suprarrenal (HPA), estrechamente asociado con la dinámica gastrointestinal y la hipersensibilidad colónica. A su vez, el microbioma puede favorecer la liberación de neuromediadores para reaccionar sobre el SNC e intervenir en procesos cognitivos, en respuestas de estrés, excitabilidad neuronal y en las vías de activación inmuno-neuroendocrina (21).

Gracias a todos estos mediadores de la respuesta inmune que son transportados hacia los sistemas de órganos componentes de estos ejes a través de los sistemas linfático y circulatorio o generados localmente por mediación de la microbiota intestinal, es posible lograr la respuesta sistémica en el órgano, ante los cambios o presencia de antígenos (21) (Fig. 1).

Si uno o varios de estos mecanismos homeostáticos estabilizadores fallasen por causas endógenas (como la edad del individuo) o exógenas (como radiaciones, quimioterapias o antibióticos, variaciones en la ingesta de alimentos, estrés, infecciones respiratorias e intestinales, entre otras) el resultado sería la alteración de las poblaciones de la microbiota intestinal (disbiosis), lo cual facilitaría la translocación de patógenos hacia el interior del hospedador y produciría un incremento en la respuesta proinflamatoria asociada con un gran número de enfermedades y un alto grado de riesgo frente a la virulencia en las infecciones (9).

Se ha identificado un amplio espectro de microbios oportunistas que se aprovechan de las posibles fallas en los mecanismos homeostáticos. En este amplio espectro de acción, se ha demostrado que la alteración en el contenido de hongos comensales intestinales puede ser una de las causas o consecuencias de la infección por parásitos platelmintos. Una gran diversidad de poblaciones de hongos intestinales ayudan directa o indirectamente a mantener una homeostasis intestinal saludable, de tal manera que su disbiosis tiene consecuencias inmunológicas. Con relación a este tema, Osakunor *et al.* (23) realizaron su contribución acerca de la posible asociación de géneros específicos de bacterias y hongos con la infección por el parásito *Schistosoma haematobium* en niños con edad preescolar (de 5 años o menores), en zonas de Zimbabue (África).

Estos autores refirieron que el aumento de *Aspergillus* se ha asociado con el incremento en los niveles de eosinófilos y una respuesta Th2 exagerada, una de las características también similares a la infección causada por *Schistosoma* (gusanos platelmintos que causan un gran número de muertes en África subsahariana). El incremento de los niveles de los hongos *Aspergillus*, *Tricholoma* y *Periglandula* estuvo acompañado del incremento de bacterias *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Derxia* y *Thalassospira* y la disminución de *Azospirillum*, en los niños afectados. En todos los casos, la variación de estas poblaciones microbianas fue consistente con la intensidad de la infección provocada por el gusano. Las especies de *Schistosoma* más comunes son la forma urogenital (*S. haematobium*) e intestinal (*Schistosoma mansoni*). La sintomatología de la enfermedad se debe, principalmente, a reacciones inmunológicas frente a los huevos del gusano que intenta migrar a la vejiga o al lumen intestinal, según la especie involucrada. La infección causa efectos inmunomoduladores que ayudan a promover la supervivencia del parásito en el huésped y las consecuencias



pueden provocar la desnutrición, deficiencias en el crecimiento y la cognición, la reducción en el efecto protector de las vacunas y el pronóstico alterado de las coinfecciones (23).

Acerca del control homeostático frente a los virus presentes de manera habitual en la microbiota intestinal, quedan aspectos en los que se continúa investigando.

¿Existen también virus comensales, identificados como componentes de un núcleo o viroma? Puede existir un llamado viroma al que se refieren Shkorporov *et al.*, en estrecha relación con un determinado bacterioma (24). Estos autores realizaron un estudio metagenómico de la población de bacteriófagos fecales presentes en seres humanos encontrados en 9 adultos sanos. La colección de las muestras se realizó durante 12 meses en todos los sujetos y durante 26 meses en uno de ellos. El estudio demostró que la composición del viroma intestinal humano (en términos de diversidad- $\alpha$  y recuentos virales) fue significativamente estable a lo largo del tiempo y muy variable entre los individuos. A esta variabilidad la denominaron viromas personales persistentes. En este trabajo se identificó un núcleo filogenético de 22 grupos virales, compuesto por fagos similares a los crAss (fagos presentes en aguas contaminadas por heces humanas), por bacteriófagos de ADN bicatenario del orden *Caudovirales* y por fagos virulentos de ADN monocatenario de la familia *Microviridae* (bacteriófagos virulentos). Como resultado de este estudio, se postuló la posibilidad de que los fagos similares a crAss podrían ser un elemento importante en el viroma intestinal, dada la probabilidad de ser compartidos entre individuos y dominar el pequeño núcleo filogenético de los virus (24).

Las correlaciones estrechas observadas en cuanto a la composición microbiana entre microbiomas bacterianos y viromas, se evidenciaron de manera inversa entre los altos niveles relativos de *Prevotella* y los bajos niveles virales totales con una mayor diversidad- $\alpha$  del viroma. A partir del análisis de las coincidencias de la secuencia espaciadora CRISPR (secuencias de ADN de bacteriófagos presentes en el genoma y utilizado por las bacterias como uno de sus mecanismos de defensa desarrollados contra bacteriófagos) se demostró que los fagos infectaban a las bacterias abundantes y persistentes de los géneros *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Prevotella* y *Parabacteroides* (24).

El viroma definido como no persistente en cada individuo (detectado transitoriamente y menos estable e individualizado) tiene una baja abundancia en comparación con los viromas personales persistentes. Estos fagos transitorios contienen múltiples protoespaciadores CRISPR que mapean taxones bacterianos de *Streptococcus*, *Clostridium*, *Akkermansia*, *Acinetobacter*, *Listeria*, *Escherichia* y *Bilophila*, que son transitorios y menos abundantes en el microbioma intestinal humano (24).

Los mecanismos homeostáticos respondedores ante

una posible disbiosis relacionada con algunos fagos *Caudovirales* se resumen en dos posibles vías principales de estimulación del sistema inmune (25): una primera vía en la que el bacteriófago lisa a las bacterias en el lumen intestinal y son liberados productos proinflamatorios; mientras que en la segunda posibilidad, los fagos transitan a través del epitelio intestinal y estimulan directamente el sistema inmunológico.

Los resultados obtenidos por Gogokhia *et al.* (26) permitieron proponer, además, un modelo en el que se sugirió que los fagos del orden *Caudovirales* (con la cápside intacta) inducen la producción de IFN- $\gamma$  en células dendríticas y en células T CD4 +; por otra parte, una amplia gama de fagos *Caudovirales* purificados de *E. coli*, *Lactobacillus plantarum* o *B. thetaiotaomicron* estimularon la producción de citoquinas a partir de las células inmunes *in vitro*. La segunda alternativa de estimulación en este modelo sugirió que el ADN del fago era capaz de estimular la producción de IFN- $\gamma$  por las células inmunes, pero no las cápsides vacías del fago sin ADN. También se observó la presencia de ADN de fagos marcados dentro de los endosomas de las células inmunes lo que permitió sugerir que el receptor tipo Toll 9 (TLR9), situado dentro de los endosomas, era esencial para la producción de citoquinas mediadas por fagos, por la vía de la proteína adaptadora MyD88. Esta proteína se sitúa por debajo de la mayoría de los TLR. En este modelo, el ADN del fago desencadena la activación de células inmunitarias dependientes de TLR9/MyD88 (25) (26).

Por todas estas razones y para comprender la posible relación entre las variaciones en el perfil microbiano intestinal, el origen, evolución, erradicación y prevención de las epidemias con bases etiológicas metabólicas, inmunológicas e infecciosas se referirán algunos de los factores relacionados con estos cambios.

## Conformación de un patrón de microbioma intestinal en seres humanos

Hasta hace poco tiempo se hablaba del estado saludable del individuo y no se hacía referencia al estado saludable del microbioma para formar un sistema mutualista con el ser humano. Cuando las condiciones fisiológicas y morfológicas del individuo son favorables para que la microbiota esté en equilibrio mutualista con él, se establece una relación beneficiosa para ambos. Se requiere una microbiota intestinal estructurada y equilibrada en los consorcios fermentativos, para garantizar un estado de salud óptimo, mantener el equilibrio en el sistema inmune y evitar la presencia de patógenos (27) (28) (29).

La microbiota proporciona la posibilidad de transformar y absorber moléculas que no son producidas por el organismo o que no pueden ser transportadas naturalmente a través de la mucosa del intestino del ser hu-

mano. Estas habilidades proporcionan un metaboloma saludable al aumentar las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta (ácidos pirúvico, cítrico, fumárico y málico), marcadores del incremento en el metabolismo energético en el intestino y protectores de los colonocitos contra eventos carcinogénicos (30) (31) (32).

La microbiota intestinal se conforma a partir del nacimiento del niño, crecimiento y envejecimiento en el adulto, gracias a variables internas y externas en el individuo.

### Contribución de la madre al patrón microbiano del niño, durante el embarazo y el posparto

Un niño será saludable si desde el embarazo las condiciones prenatales de la madre son adecuadas. El conocimiento acerca de las variaciones en el patrón bacteriano durante la gestación, nacimiento, lactancia y primeros años de vida del niño, es importante para la comprensión de la etiología de algunas de las enfermedades que se manifiestan desde la niñez así como el surgimiento de epidemias en infantes y jóvenes (33) (34).

En la revisión realizada se han encontrado, fundamentalmente, referencias relacionadas con la evolución del patrón bacteriano durante la gestación y nacimiento del niño. En la Tabla I se muestra un resumen de algunos cambios en el patrón bacteriano, descriptos durante la gestación, posparto y primeras etapas de crecimiento del niño.

Durante la gestación, las condiciones fisiológicas maternas le proporcionan el entorno favorable para que el feto adquiera un determinado patrón bacteriano (35) (36). Al inicio del embarazo, la diversidad bacteriana en la vagina es estable; sin embargo, con la edad de gestación, se produce una variación del contenido y tipos de bacterias, de modo que el enriquecimiento de *Lactobacillus* en la vagina de la madre (Tabla I), permite la producción de ácido láctico para el mantenimiento de un pH vaginal bajo (protector para el feto), frente a la infección de patógenos (33).

Este mecanismo protector se ha demostrado en algunas especies de *Lactobacillus* (*Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus gasseri* y *Lactobacillus jensenii*), las cuales se adaptan muy bien a este ambiente vaginal; sin embargo, pueden manifestarse variaciones en la estabilidad de las mismas, con relación a la edad de gestación. La etiología de estas diferencias aún no está bien establecida, pero se ha relacionado con los niveles de hormonas sexuales. El incremento de estrógenos aumenta el grosor de la mucosa vaginal, lo cual, a su vez, aumenta la deposición de glucógeno. Esta deposición actúa como un agente quimiotáctico para los microbios, ya que el glucógeno es el sustrato principal utilizado por estas bacterias para disponer de la glucosa que fermentan llevándola a ácido láctico. Este último es el responsable de la reducción del pH vaginal (37).

El contenido de algunos géneros de *Bacteroides* y *Staphylococcus* en el intestino materno puede variar en correspondencia con las variables antropométricas en la madre, como el índice de masa corporal (IMC). En este sentido, algunos estudios realizados en mujeres embarazadas con sobrepeso demostraron diferencias en el contenido de estas bacterias intestinales, con relación a embarazadas que presentaban un peso corporal en el rango normal. Ambos grupos fueron analizados en el mismo período de gestación, pero no se compararon con mujeres no embarazadas como grupo control (35) (38).

Se detectó un número reducido de *Bifidobacterium* y *Bacteroides*, con un mayor número de *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* y *E. coli* en mujeres con sobrepeso en comparación con mujeres embarazadas de peso normal. El contenido de *E. coli* fue mayor en mujeres con aumento excesivo de peso que en mujeres con aumento normal de peso, durante el embarazo. En cambio, los niveles de *Bifidobacterium* y *Akkermansia muciniphila* mostraron una tendencia opuesta. Por otra parte, el aumento del número de bacterias totales y de *Staphylococcus* se relacionó con un aumento de los niveles de colesterol plasmático. El mayor contenido de *Bacteroides* se relacionó con un mayor nivel de colesterol HDL y ácido fólico y una reducción de los niveles de triacilglicéridos. Un contenido mayor de *Bifidobacterium* estuvo relacionado con un aumento de los niveles de ácido fólico. Sin embargo, el incremento de *Enterobacteriaceae* y *E. coli* se relacionó con mayor presencia de ferritina y con la reducción de transferrina, mientras que los niveles de *Bifidobacterium* mostraron la tendencia opuesta (35) (38).

Algunas evidencias apuntan a que el intestino infantil es colonizado desde su permanencia en el útero por bacterias procedentes de la madre y que el primer meconio es rico en géneros de los filos *Firmicutes* y *Proteobacteria* (40) (41). La presencia de uno u otro género depende de la forma en que nace el niño, de modo que si el niño nace de forma natural se favorece la presencia de *Firmicutes* (*Lactobacillus*) y *Bacteroidetes* (*Prevotella*) (41). Mientras que en niños nacidos por cesárea, dominan bacterias características de la piel como *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium* (39) (40) (41) (Tabla I).

Es evidente que el paradigma acerca del entorno estéril del útero durante el embarazo, ha ido cambiando en los últimos tiempos. Prueba de ello es que se han encontrado algunos hongos en muestras intestinales de niños con edad entre 0 y 2 años, con una representación de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Candida* y se ha demostrado que algunas especies de *C. albicans* y *Malassezia* spp. se transfieren de la madre a su descendencia a través del canal del parto. La prevalencia de *Candida* spp. puede manifestarse en un 23% en recién nacidos, lo cual podría duplicarse hasta el 50% a los 4 meses de su nacimiento (42).

En la fase posparto, el recién nacido adquiere un patrón microbiano enriquecido a partir de la leche mater-

Tabla 1. Cambios detectados en la microbiota durante el embarazo, nacimiento y posterior al parto, en la madre y el niño (33) (34) (35) (36).

	Cambios relacionados con la microbiota en la madre			Cambios relacionados con la microbiota en el niño	
	Primer trimestre de embarazo	Tercer trimestre de embarazo	Después del parto	En el nacimiento	De 0 a 3 años
Composición de la microbiota intestinal	Similar a la de mujeres sanas y no embarazadas	<p>-Incremento de la abundancia de miembros de los filos <i>Actinobacteria</i> y <i>Proteobacteria</i></p> <p>-Reducción de la riqueza individual (<math>\alpha</math>-diversidad)</p> <p>-Incremento de la <math>\beta</math>-diversidad</p>	<p>-Podría verse alterada debido al síndrome de fatiga crónica, cambios en el ritmo circadiano y el sueño, con disminución de la diversidad microbiana (<i>Bifidobacterium</i> y <i>Lactobacillus</i>). Estas alteraciones producen cambios en la permeabilidad de la mucosa e incremento de estados proinflamatorios</p>	<p>-El primer meconio es rico en géneros como <i>Escherichia</i>, <i>Enterococcus</i>, <i>Leuconostoc</i>, <i>Lactococcus</i> y <i>Streptococcus</i>.</p> <p>-Presencia de <i>Lactobacillus</i> y <i>Prevotella</i> (cuando el nacimiento es de forma natural).</p> <p>-Presencia de <i>Streptococcus</i>, <i>Corynebacterium</i> y <i>Propionibacterium</i> y menor abundancia de <i>Bifidobacterium</i> y <i>Bacteroides</i> (cuando el parto es por cesárea).</p>	<p>-Adquiere entre un 40 y un 60% de la microbiota intestinal con similitudes al patrón del adulto.</p> <p>-Entre 1 y 6 años es mayor la representación de <i>Prevotella</i> (filo <i>Bacteroidetes</i>) y menor de <i>Firmicutes</i>, menor contenido de <i>Enterobacteriaceae</i> (<i>Shigella</i> y <i>Escherichia</i>), cuando la alimentación fue al estilo del campo africano; mientras que en niños alimentados al estilo occidental el patrón fue diferente.</p>
Microbiota oral	<p>-En muestras del surco gingival, en embarazadas se detectó un incremento de <i>Porphyromonas gingivalis</i>, de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> y de <i>Candida</i>.</p> <p>-En muestras supragingivales la diversidad de Shannon de las mujeres embarazadas es significativamente mayor que la de las mujeres no embarazadas. Presencia de <i>Neisseria</i>, <i>Porphyromonas</i> y <i>Treponema</i>, más abundante en el grupo de embarazadas. <i>Streptococcus</i> y <i>Veillonella</i> más abundantes en mujeres no embarazadas.</p>		<p>-Nueve meses después del parto, la composición de la microbiota salival fue similar a la composición durante el embarazo.</p>	<p>-Adquiere al nacer, <i>Streptococcus</i> y <i>Actinomyces</i>. En las siguientes horas después del nacimiento, puede adquirir hasta 67 especies más, incluyendo <i>Veillonella</i> y <i>Fusobacterium</i>.</p>	<p>-Durante este período, la microbiota oral del niño se caracteriza por una gran variabilidad. El conocimiento actual indica que alcanza una estabilidad similar a la de un adulto alrededor de los dos años de edad.</p>
			<p>-En el tercer trimestre del embarazo y el posparto, los principales filos de la microbiota salival son <i>Firmicutes</i> y <i>Bacteroidetes</i>, seguidos de <i>Proteobacteria</i>. Los géneros predominantes son <i>Prevotella</i>, <i>Veillonella</i>, <i>Streptococcus</i> y <i>Haemophilus</i>.</p>		
Microbiota de la placenta	No descripto	<p>-Presencia de bacterias aeróbicas y anaeróbicas.</p>	No descripto	<p>-Fundamental fuente de microbiota oral, presente en el momento del nacimiento.</p>	No procede

Tabla I. Cambios detectados en la microbiota durante el embarazo, nacimiento y posterior al parto, en la madre y el niño (33) (34) (35) (36).  
(Continuación)

	Cambios relacionados con la microbiota en la madre			Cambios relacionados con la microbiota en el niño	
	Primer trimestre de embarazo	Tercer trimestre de embarazo	Después del parto	En el nacimiento	De 0 a 3 años
Microbiota vaginal		-Incremento de determinadas especies de <i>Lactobacillus</i> , dependiendo de la ubicación geográfica o etnia ( <i>L. jensenii</i> se incrementó en mujeres asiáticas y caucásicas; mientras que <i>L. gasseri</i> estuvo ausente en mujeres negras). -Disminución de $\alpha$ -diversidad y $\beta$ -diversidad.	-Cambia dramáticamente, sobre todo las especies de <i>Lactobacillus</i> . -La correcta asepsia ayuda a restablecer los principales géneros de <i>Actinobacteria</i> , <i>Firmicutes</i> , <i>Proteobacteria</i> y <i>Bacteroidetes</i> .	-Principal fuente de <i>Lactobacillus</i> , para el intestino del niño, durante el nacimiento.	No procede

na. La presencia de géneros de los tres principales filos (*Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Actinobacteria*) (Tabla I) en el intestino del niño, procedente de esta fuente materna, es un factor esencial para la degradación de determinados hidratos de carbono que se van incorporando a partir de la dieta y facilitan la posterior evolución en su crecimiento corporal (30) (43) (44).

Gracias a la dieta que va cambiando en la medida que se le incorporan alimentos de origen vegetal (frutas, verduras como dieta blanda, cereales, derivados proteicos, etc.), con el tiempo (aproximadamente 3 años), el niño adquiere la microbiota intestinal con similitudes al patrón del adulto (43) (Tabla I). Estos cambios dependen en gran medida, de si la leche es de origen materno o fórmula, del estilo de vida (condiciones socio-demográficas), eventos, factores ambientales y frecuencia en el consumo de antibióticos (30).

El mecanismo de aceptación de determinados géneros depende del naciente sistema homeostático del niño. Al nacer, el intestino delgado del niño es colonizado por una microbiota de baja diversidad, la cual expone el antígeno microbiano y los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Al mismo tiempo, se producen estímulos inmunes innatos endógenos; que consiguen que la estimulación del receptor tipo Toll (TLR) perinatal induzca una hiporrespuesta innata y una reprogramación en el epitelio intestinal y de las células mieloides (45).

En fechas cercanas al nacimiento, las células T y B salen del timo y de la médula ósea, respectivamente. Pos-

teriormente, se dirigen a los tejidos linfoides secundarios, incluidos los ganglios linfáticos mesentéricos y los tejidos linfoides asociados al intestino (placas de Peyer y tejidos linfoides intestinales solitarios). Es probable que la microbiota (inicialmente transferida de la madre al nacer) se una a la IgAs materna cedida a través de la leche materna, la cual protege al antígeno microbiano del sistema inmunitario adaptativo. La IgAs materna y las células T reguladoras derivadas del timo neonatal (Treg) contribuyen al estado inicial del sistema inmunitario adaptativo, durante la fase posnatal (45).

#### Adquisición de un patrón bacteriano durante el crecimiento del niño

En la etapa de destete se incrementa la variedad de microbios en el hospedador, a través de la ingestión de alimentos sólidos que contienen hidratos de carbono complejos. Paralelamente, se produce la iniciación de la respuesta inmune adaptativa frente a los microbios y antígenos procedentes de la dieta. De este modo, en esta etapa, se pueden encontrar criptas con células de Paneth productoras de péptidos antimicrobianos y se favorece la producción de moco regulada en las células caliciformes, las cuales protegen al epitelio de la microbiota (45).

Al mismo tiempo, las células caliciformes comienzan a transportar los antígenos del lumen a las células dendríticas subyacentes (CD), en la lámina propia. Las

CD, a su vez, presentan los antígenos a las células T vírgenes y se induce una activación inmunitaria transitoria (adaptativa). La etapa de destete está caracterizada por citoquinas proinflamatorias, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). En esta fase se inducen células Treg que promueven la tolerancia y ajustan el sistema inmunológico de la mucosa para una respuesta adecuada a los estímulos inmunitarios en la vida posterior, protegiendo al niño de enfermedades inmunomediadas (45).

Después del destete, la composición de la microbiota se estabiliza y es menos sensible a perturbaciones, como la entrada de patógenos o el tratamiento con antibióticos. Los antígenos del lumen se facilitan a las células presentadoras de antígenos de una manera altamente controlada y la respuesta inmune homeostática está dominada por células Treg promotoras de tolerancia que, a su vez, ya son capaces de inducir la producción de IgA endógena por las células plasmáticas (45).

El uso de antibióticos en el niño, las continuas hospitalizaciones y los alimentos contaminados incrementan la susceptibilidad a enfermedades digestivas ocasionadas por *Clostridioides difficile* (46) y por *C. albicans* (infecciones fúngicas más frecuentes en sangre, pulmones y vía gastrointestinal), en niños menores de 12 meses (47). Estas enfermedades se consideran una de las causas de muerte más frecuentes por alteración de la microbiota intestinal (46) (47) (48).

Estos factores se han relacionado con la susceptibilidad encontrada en los niños menores de 3 años a padecer asma, alergias (eczemas, rinitis alérgicas y sensibilización atópica), a consecuencia de un desequilibrio en la relación en el contenido de los filos *Bacteroides* y *Firmicutes*, en el intestino (49). A esto podrían sumarse las condiciones carenciales en el consumo de alimentos, la resistencia de los patógenos a los antibióticos y la poca efectividad de las vacunas para erradicar completamente las enfermedades microbianas como causas de la alta incidencia y prevalencia de epidemias históricas en todos los rangos de edad (50).

De Filippo *et al.* (51) realizaron uno de los trabajos de mayor significación en cuanto al efecto positivo de la dieta de carácter primitivo en los niños, procedentes de zonas rurales de África. Estos autores analizaron la composición bacteriana de las heces de estos niños que se alimentaban acorde con el patrón de subsistencia de los campesinos del Neolítico y de otro grupo de niños sanos alimentados al estilo de los países europeos desarrollados (estilo occidental). Los resultados demostraron el incremento del filo *Bacteroidetes* y menor representación de *Firmicutes* en los niños africanos, con un menor contenido de *Enterobacteriaceae* que el encontrado en los niños europeos (Tabla I). El género *Prevotella* estuvo relacionado con el estado saludable de estas comunidades africanas (51).

## Géneros bacterianos presentes en el adulto sano

Aunque la microbiota intestinal está integrada por bacterias, virus, hongos y arqueas, las bacterias han sido las más estudiadas. En las bases de datos de *PubMed* (*National Library of Medicine, NIH*), mientras 30 de los resultados de búsquedas están relacionados con los virus presentes en la microbiota intestinal, poco más de 500 referencias se relacionan con hongos y más de 25 000 referencias han contribuido al conocimiento de los complejos mecanismos que vinculan al hospedador con las bacterias comensales y patógenas (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov, consultado: 10/01/2021).

Cada individuo tiene un núcleo estable de bacterias en una escala temporal de meses que se retroalimenta de otros factores ambientales, modulando al conjunto de microbios residentes (autóctonos) y a los llamados microbios viajeros (alóctonos). La dieta es uno de los determinantes de la variedad e incremento en el número de bacterias para garantizar un microbioma intestinal del sujeto adulto con un contenido aproximado de  $10^{14}$  microbios (52). Las alteraciones en la dieta ocasionan el 57% de las variaciones, mientras que los factores genéticos son responsables del 12% (53).

Los principales filos bacterianos *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* y *Verrucomicrobia* colonizan normalmente el intestino del sujeto sano adulto (54). No es posible establecer los valores de rangos normales en este contenido porque existen diferencias entre individuos sanos de una misma zona geográfica, entre diferentes zonas geográficas, estilos de vida y entre zonas de muestreo en el sistema gastrointestinal de un mismo individuo (55).

Se ha demostrado que en el núcleo bacteriano intestinal de la población europea, más del 80% de los individuos estudiados contenían 32 especies de los géneros: *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Bacteroides*, *Dorea*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Coproccoccus*, *Alistipes*, *Collinsella*, *Parabacteroides* y *Bifidobacterium* (31). En este estudio se encontró que *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Blautia* y *Roseburia* son géneros representativos, tanto en las poblaciones rurales como urbanas del mundo. De ellos, *Faecalibacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Ruminococcus* y *Roseburia* son importantes para la fermentación de hidratos de carbono precursores de butirato que intervienen en el mantenimiento saludable de las células colónicas (31).

En el colon del sujeto adulto también coexisten agentes patógenos primarios tales como: *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *E. coli* y *B. fragilis* pero con una abundancia baja (57) (58).

Por otra parte, se refiere que la abundancia del filo *Proteobacteria* es notablemente baja, en contraste con la alta abundancia de los géneros *Bacteroides*, *Prevotella* y *Ruminococcus* en el microbioma intestinal saludable (58).

La distribución de determinados géneros es diferencial teniendo en cuenta la localización longitudinal bacteriana (a lo largo del tracto gastrointestinal) y la localización axial (desde el lumen a la superficie de la mucosa del intestino) (6) (59). Según estudios realizados por Swidsinski *et al.* (59), predominan en el lumen (que pueden ser identificados en las heces): *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus*, mientras que *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Akkermansia* son predominantes en la mucosa y están asociados con el moco (detectados en la capa de moco y criptas epiteliales del intestino delgado) (59).

Que se favorezca la presencia de un género de bacterias u otro depende de algunos sistemas de regulación de la expresión génica en la población microbiana local. La presencia de algunos metabolitos inductores del crecimiento bacteriano y moléculas de señalización que son moduladoras de dicha expresión, garantizan la comunicación entre las bacterias gram negativas y gram positivas a través del llamado *quorum sensing* (sistema de señalización QS). En este mecanismo participan las moléculas QS, responsables de la autoinducción en la densidad celular circundante y la activación de la regulación compensatoria de la función celular apropiada (60). El adecuado funcionamiento de estos sistemas puede ser una de las razones por las que en sujetos sanos existe un equilibrio relativo entre los filos bacterianos.

Estos sistemas podrían proporcionarle a la bacteria la capacidad de burlar el mecanismo de defensa inmunitaria del hospedador o evadir la acción de los compuestos antimicrobianos y medicamentos, en los eventos patogénicos a través de la formación de *biofilms*. En este marco, se establece una cooperación entre grupos de bacterias para construir una barrera, la cual no consiguen alcanzar de manera individual (61).

Sin embargo, este tipo de regulación podría significar un mecanismo favorable para el hospedador si el resultado fuera el crecimiento de bacterias beneficiosas que depende de los compuestos que adquiere durante su consumo de alimentos. En algunos estudios se ha demostrado que el sistema de activación celular QS (AI-2) en especies de *Prevotella* (filo *Bacteroidetes*), es inducido por la glucosa (60), mientras que el crecimiento de algunas especies de *Roseburia* (*Firmicutes*) es inducido por un sistema QS, en presencia de L-fucosa disponible en algunos polisacáridos de la dieta (62).

Estos sistemas de regulación interfilos son parte de los complejos mecanismos regulatorios en el intestino (62) y resulta interesante que no existe un solo tipo de modelo de regulación QS, lo cual podría explicar el hecho de que la diversidad en la alimentación proporciona una mayor variedad de moléculas activadoras de estos mecanismos y, por lo tanto, un incremento en la diversidad bacteriana.

Uno de los sistemas QS en el que se centra la atención actual es en el que interviene el aminoácido triptófano, procedente de la dieta, mediante el cual se regula la secreción de péptidos antimicrobianos por parte de las células de Paneth del epitelio intestinal a través de la vía de activación de mTOR. En esta vía, el triptófano disponible es internalizado en la célula por el transportador B<sup>0</sup>AT1 que a su vez, necesita de ACER2 para su expresión. En ausencia de ACER2, el triptófano no puede ser absorbido eficientemente por las células epiteliales y se produce una alteración en la secreción de péptidos antimicrobianos que podría ocasionar la modificación del patrón de la microbiota intestinal y el incremento de la susceptibilidad del intestino a la inflamación (17).

Perlot y Penninger sugirieron desde el año 2013 (17) que éste podría ser uno de los mecanismos mediante el cual los coronavirus SARS-CoV podrían actuar negativamente sobre la diversidad bacteriana comensal, bloqueando la disponibilidad del receptor ACR2 para la cooperación en la internalización de triptófano (17).

En los continentes europeo y asiático se han realizado estudios referidos en la presente revisión. Sin embargo, existen pocos estudios desarrollados en América Latina relacionados con la microbiota intestinal y su variabilidad de acuerdo con la zona geográfica y sus diferencias con respecto a América del Norte. Esta caracterización sería de gran interés para poder comprender la influencia de los factores socio-demográficos en el patrón microbiano (63).

En este sentido, es importante destacar un estudio realizado en los EE.UU. que contribuyó significativamente al conocimiento del posible efecto de la emigración en la conformación de un microbioma y su estabilidad generacional. El estudio partió de la premisa de que los emigrantes procedentes de América Latina y el Caribe constituyen la mayoría de la población de origen extranjero que vive en los EE.UU. El análisis metagenómico de muestras de heces de adultos hispanos y de nacidos en los EE.UU. mostró mayor abundancia relativa de *Bacteroides* que el resto de los géneros bacterianos. Sin embargo, se encontró un mayor contenido de *Prevotella* en personas nacidas en América Latina que en hispanos nacidos en los EE.UU. La heterogeneidad presente en el patrón bacteriano de la población de latinos se explicó por las diferencias detectadas en primera generación (emigrantes nacidos en América Latina) y segunda generación (descendientes de los latinos emigrantes y que nacieron en EE.UU.). Cada uno de estos grupos tenía su propio patrón de microbioma, de manera que algunos taxones (*Ruminococcaceae*, *Clostridiales*, *Bifidobacterium*, *Blautia*, *Enterobacteriaceae* y *Sutterella*) fueron abundantes según el lugar de nacimiento del sujeto (64).

Como bien plantearon Carbonetto *et al.* (65), todos los estudios que formaron parte del Proyecto del Microbioma Humano, se realizaron en poblaciones de

EE.UU. y Europa y en ningún caso, en América Latina. Los resultados del análisis metagenómico realizado por estos autores a partir de diferentes muestras del sistema gastrointestinal de 20 sujetos sanos, durante el desarrollo de un estudio piloto acerca de la microbiota en la Argentina, mostraron diferencias en el microbioma de los sujetos, con relación a poblaciones de EE.UU. En la población argentina procedente de una zona metropolitana prevaleció *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae* y *Prevotellaceae*, mientras que la familia *Bacteroidaceae* fue menos abundante (65).

De esta manera, sería una gran contribución establecer qué patrones de microbioma caracterizan las poblaciones con mayor resistencia ante el contagio y propagación de una enfermedad de tipo bacteriana, viral o fúngica.

### Alteración de la microbiota en el sujeto enfermo

Una de las revisiones más completas acerca de la implicación de la microbiota en la etiología de gran número de enfermedades y las posibilidades de su caracterización como herramienta para el diagnóstico y la aplicación terapéutica, es la realizada por Kho y Lal (66). Estos autores abordaron cómo el desequilibrio en el patrón bacteriano conduce a la disfunción de la maquinaria del hospedador, contribuyendo a la patogénesis y/o a la progresión hacia un amplio espectro de enfermedades inflamatorias intestinales (enfermedades inmuno-mediadas), enfermedad celíaca (trastorno autoinmune multisistémico), trastornos neuropsiquiátricos, metabólicos (obesidad), diabetes tipo 1 y tipo 2, enfermedades cardiovasculares e hipertensión, entre otras (66).

La obesidad y la diabetes *mellitus* tipo 2 alcanzan magnitudes epidémicas, a consecuencia del incremento alarmante de la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles (66) (67). Este incremento se ve favorecido por cambios evidentes en los estilos de vida, en niveles económicos y sociales que conducen a la ingestión de alimentos de bajo costo y bebidas envasadas (67). Los altos costos de los tratamientos de la diabetes *mellitus* tipo 2 y las enfermedades relacionadas, así como la mortalidad prematura de aproximadamente el 80% de los afectados, son las mayores preocupaciones de los sistemas de salud, por lo que la prevención es uno de los objetivos de la Organización Mundial de la Salud (67).

La diabetes tipo 2 es el resultado de complejas interacciones entre los genes del individuo y algunos factores de riesgo como la edad, antecedentes familiares, dieta, el estilo de vida sedentario y la obesidad. Uno de los factores externos con mayor relevancia es la variación en el patrón de la microbiota intestinal, como causa y/o consecuencia de estas enfermedades, e incluso, de enfermedades cardiovasculares (68).

Karlsson *et al.* realizaron un estudio de caracterización metagenómica bacteriana en las heces de 145 mujeres europeas en un grupo control y un grupo de pacientes con diabetes tipo 2. Los resultados mostraron una correlación positiva entre el incremento de los niveles de glucosa sérica y la abundancia de especies de *Lactobacillus*. Estas especies no se comportaron de la misma forma en mujeres chinas con esta enfermedad, analizadas en un estudio anterior. Como resultado, se encontró en las mujeres diabéticas, un incremento en *Clostridium* (mezcla de tres patógenos oportunistas: *C. bolteae*, *C. hathewayi* y *C. clodtridioforme* asociados con bacteriemia e infecciones en seres humanos) y la disminución de *Roseburia* (68).

La etiología de las enfermedades inflamatorias digestivas sigue siendo desconocida; sin embargo, tanto en colitis ulcerosa (CU) y enfermedad de Crohn (EC) las causas pueden ser la presencia de un agente infeccioso o de un antígeno procedente de la alimentación que provoque una respuesta inflamatoria alterada que termina atacando al propio intestino. Estas enfermedades aparecen en individuos genéticamente predispuestos, en los que la conjunción de factores ambientales exteriores y las bacterias intestinales producen una respuesta inflamatoria intestinal anómala que se perpetúa en el tiempo, produciendo la enfermedad (69).

En estas enfermedades inflamatorias se describe una significativa disminución en la diversidad microbiana, en particular, de la abundancia de las bacterias gram positivas anaerobias (por ejemplo, *Ruminococcaceae* y *Lachnospiraceae*) y un concomitante incremento en las bacterias anaerobias facultativas, tales como enterococos y estreptococos (70) (71) y de gram negativas, tales como *Proteobacterias* (en particular los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*) (72) (73) (74).

En algunos estudios se ha observado la disminución de *Bacteroidetes* (72) (73), mientras que en otros, se describió el incremento en la cantidad de estas bacterias (74) (75); sin embargo, no se registraron cambios en la abundancia de *Lactobacillus* y de *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*) (75) (76).

En cualquier caso, la mayoría de los estudios coincide en términos de un incremento significativo de *Enterobacteriaceae*, especialmente *E. coli*, asociada a la mucosa y en muestras fecales de los pacientes. En los pacientes con enfermedad de Crohn se ha podido identificar una variante de *E. coli* específica de esta enfermedad, denominada enteroadherente (77) (78).

Algunas enfermedades dérmicas pueden estar vinculadas a los trastornos en el perfil bacteriano intestinal. En un estudio realizado en Buenos Aires (Argentina) se analizaron muestras de heces de pacientes afectados por psoriasis y sujetos no afectados (grupo control) para profundizar en el conocimiento de aquellos géneros bacterianos como marcadores en distintas etapas de esta enfermedad. En estos pacientes se detectó un incre-

mento en el contenido de *Firmicutes* y una reducción de *Bacteroidetes*. Los géneros con mayor representación en pacientes, fueron *Faecalobacterium* y *Blautia*, mientras que *Bacteroides* y *Paraprevotella* fueron mayoritarios en los controles. El incremento de severidad de la enfermedad en los pacientes se vio caracterizado por la disminución en la biodiversidad bacteriana (79).

Una aproximación en el establecimiento de biomarcadores diferenciales de tipo bacteriano en las heces, podría representar una herramienta complementaria en el seguimiento de los pacientes y su aplicación en determinadas terapias de restauración de la mucosa intestinal.

### Contribución del agua en el patrón bacteriano de la microbiota intestinal

Otro de los factores externos a tener en cuenta por su posible aporte de microbios al patrón intestinal, es el consumo de agua y sus fuentes de disponibilidad.

Las fuentes de agua envasada contienen, generalmente, una microbiota muy variada que incluye las siguientes especies bacterianas: *Achromobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Alcaligenes* spp., *Acinetobacter* spp., *Cytophaga* spp., *Moraxella* spp., y *Pseudomonas* spp. (80).

Las cuencas de suministro de agua mineral pueden afectarse a causa de inundaciones provocadas por los cambios climáticos y por contaminaciones de las aguas subterráneas (81).

Andrade *et al.* (81) refirieron que sólo existen 14 estudios relevantes publicados entre 1980 y 2017 que profundizaron en cuanto a la posibilidad del agua subterránea como vector importante de infecciones.

La abundancia de bacterias en el agua, como *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, entre otras, puede constituir un riesgo para la salud humana. Algunos casos de gran connotación relacionados con la contaminación de agua envasada, se han producido a causa de la presencia de *Vibrio cholerae* en 82 casos confirmados en Portugal en 1974. También se detectó este tipo de contaminación por *Campylobacter jejuni* en el personal militar norteamericano que se encontraba en prácticas en Grecia en el año 1997. Posteriormente, en el año 2006, se demostró la asociación estadística entre la contaminación por *Salmonella enterica* en niños inmunodeprimidos en Gran Canaria (España) y el consumo de agua envasada, con la presencia de esta bacteria en el agua y en la fábrica donde se envasaba (82).

La *Food and Drug Administration* (FDA) de los EE.UU. ha incrementado las exigencias en el control microbiológico del agua, procedente de fuentes públicas y de agua envasada destinada al consumo. Estas regulaciones exigen la ausencia de bacterias coliformes y *E. coli*, para garantizar la salud (83).

### Patrón de consumo de alimentos y salud

La composición de la dieta que consume el individuo es uno de los factores fundamentales en el equilibrio mutualista de los microbios beneficiosos y el hospedador. Las bacterias intestinales están involucradas en la descomposición de diversos polifenoles y productos secundarios polifenólicos presentes en una gran variedad de plantas, frutas y derivados de plantas como el té, el cacao y el vino, beneficiosos para ese estado saludable, en seres humanos. Estos polifenoles se manifiestan como derivados glicosilados de glucosa, galactosa y ramnosa, entre otros (30).

Los alimentos que contienen estos polifenoles forman parte del patrón de consumo al “estilo mediterráneo” (CAEM), beneficioso por la disponibilidad de productos ricos en estos derivados (como las aceitunas y el aceite de oliva). Los metabolitos resultantes de la transformación bacteriana de estos polifenoles presentan múltiples efectos protectores asociados con la inhibición del estrés oxidativo, la reducción de los niveles de lipoproteínas de baja densidad oxidadas y de factores de riesgo cardiovascular, así como también la inhibición de la inflamación (32).

El CAEM se caracteriza por un consumo frecuente de verduras, frutas, cereales (preferentemente granos enteros), legumbres, nueces, de un consumo reducido de pescado o mariscos, carne blanca y huevos, cantidades moderadas de productos avícolas y lácteos y baja ingesta de alcohol (vino) (83). Este estilo de alimentación constituye un paradigma en el mantenimiento de las mejores condiciones (dieta, ejercitación, ausencia de estrés) para garantizar la salud. La alta adherencia a este patrón, reduce la mortalidad y la incidencia de enfermedades crónicas (cáncer, síndrome metabólico y cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas, diabetes *mellitus* tipo 2, enfermedades del hígado graso y alergia) (84).

En una revisión realizada por Ostan *et al.* (85) se sugiere continuar profundizando en el conocimiento de las vías moleculares y celulares del efecto individual de los componentes de este estilo de alimentación.

En España, se han abordado estudios que demuestran la asociación entre el grado de ingesta y la presencia de determinados géneros bacterianos, en sujetos con una alta adherencia al CAEM. En un estudio realizado en la Comunidad Valenciana (86) se demostró una menor proporción de hombres con ingesta de tipo CAEM (45,5%) que de mujeres (62,5%), con una mayor riqueza bacteriana en sujetos que mantenían el CAEM (índice Chao), una baja relación *Firmicutes/Bacteroidetes*, menor abundancia del género *Clostridium* y mayor asociación con una bacteria de la familia *Christensenellaceae* [familia asociada con la pérdida de peso en modelos de ratones, según Goodrich *et al.* (87)].

Los estilos de consumo de alimentos son importan-



tes, sobre todo, para definir cuáles son los factores que permiten asegurar la resistencia ante patógenos epidémicos, en una población de determinada zona geográfica. Los estudios realizados en pacientes infectados con *C. difficile*, durante la epidemia que afectó a la población de los EE.UU. entre los años 2000 y 2003, sugirieron la posible relación entre el azúcar trehalosa presente en alimentos (frecuentemente utilizado en *sushi*, vegetales y helados como aditivo edulcorante protector frente a altas temperaturas) y la propagación de determinados ribotipos de esta bacteria. Utilizando modelos de ratón y las cepas aisladas de estos pacientes, se concluyó que la adopción y el uso generalizado del disacárido trehalosa en la dieta humana podría haber desempeñado un papel importante en la aparición de estas cepas epidémicas e hipervirulentas (88).

Actualmente, uno de los estilos de alimentación más extendido es el llamado estilo *sushi factor*, asociado con la presencia de una microbiota intestinal especializada en la digestión de algas marinas, estudiado a partir de las tradiciones japonesas (46). Los estudios realizados por Hehemann *et al.* (88) han demostrado que algunos genes (codificadores de la producción de enzimas hidrolíticas que actúan sobre polisacáridos de algas) presentes en *Bacteroidetes* de origen marino, han sido transferidos, probablemente, a *Bacteroidetes* presentes en el intestino de individuos japoneses. Estos géneros de *Bacteroidetes* marinos pudieron haber llegado a través del consumo de algas, como un mecanismo facilitador para el aprovechamiento energético en el intestino de estas poblaciones (89).

Estos modelos de alimentación se han ido exportando de una zona geográfica a otra, por lo que las diferencias culturales tradicionales en cuanto a la dieta van formando parte de nuevas culturas mixtas de alimentación. Por este motivo, su incorporación y adaptación de la microbiota a estos estilos permite hablar de la globalización de la microbiota (46).

Mah *et al.* (90) profundizaron en el conocimiento acerca de otros estilos de consumo de alimentos y condiciones socio-económicas a través de un estudio de caracterización microbiológica en heces de niños (3 años) que vivían en zonas rurales de Tailandia (Theppa), procedentes de familias de bajos ingresos económicos (la mayoría agricultores y granjeros) y de niños procedentes de la zona metropolitana de Singapur (con aceptables condiciones económicas). El estudio estaba encaminado a la profundización en el conocimiento acerca de la posible relación entre la alta prevalencia de enfermedades alérgicas en Singapur y el patrón de la microbiota intestinal (90).

Se realizaron aislamientos de cultivos, se identificaron y cuantificaron los microbios presentes en heces. En esta caracterización, las familias tailandesas tenían más hijos (una media de 4), consumían menos antibióticos y poseían una mayor ingesta de yogur. El nivel de

rinitis (inflamación de fosas nasales sin padecer gripe) fue mayor que en los niños de zonas urbanas (90).

Los resultados demostraron que el consumo de agua en Singapur se producía a partir del agua tratada de grifo y sólo el 17,4% de las familias tailandesas tuvieron acceso a la red de agua (el resto se abastecían de fuentes naturales, pozos, estanques y lagos). Los niveles de bacterias lácticas, coliformes y *Staphylococcus* fueron mayores en niños tailandeses, donde la mayoría de las bacterias coliformes correspondieron a *E. coli* y *K. pneumoniae*, mientras que no se demostraron diferencias entre las poblaciones en cuanto a los niveles de *Enterococcus*. Los resultados no fueron conclusivos, pero sugirieron posibles diferencias en el patrón total de bacterias intestinales, entre poblaciones asiáticas (90).

Otro estudio metagenómico realizado en heces de niños sanos, con un rango de edad entre 8 y 11 años, procedentes de regiones con diferentes estilos de consumo de alimentos en Tailandia (regiones del noroeste y central) demostró que los niños del noroeste tenían un mayor consumo de carne (de pollo y vacuna), amplia variedad de fuentes de hidratos de carbono (fideos, arroz fermentado y batata), incluidas las verduras y las frutas, lo cual se correlacionó con una mayor abundancia de *Lactobacillus*, *C. coccoides*, *E. rectale*, *Clostridium leptum*, *Prevotella* y *B. fragilis* (91). Los niños de la zona central tenían preferencia por el arroz, consumo de cereales en el desayuno y leche de vaca, lo cual demostró una estrecha correlación con un menor contenido de los géneros anteriormente descritos. Sin embargo, no se mostraron diferencias entre las poblaciones en cuanto al contenido de *Bifidobacterium* spp. y *Enterobacteriaceae*. Estos resultados sugirieron que un consumo frecuente de variedades de hidratos de carbono, fuentes de proteínas, frutas y verduras en los niños del norte puede ser uno de los factores favorables en el mantenimiento de la gran abundancia de especies bacterianas de ambos filos: *Firmicutes* y *Bacteroidetes* (91).

En el año 2018, el mundo entero se estremeció con la noticia de que un pequeño grupo de niños tailandeses había quedado atrapado en las profundidades de una cueva, durante varios días y fueron rescatados vivos. La pregunta general ante estos hechos fue: ¿cómo pudieron sobrevivir 12 niños (11-16 años) y su entrenador de fútbol atrapados por fuertes lluvias en la cueva durante 17 días, a una distancia de 4 km de la superficie, con el sólo abastecimiento de agua de las fuentes subterráneas contaminadas por las lluvias y sin ingerir alimentos? Todos fueron rescatados y se recuperaron satisfactoriamente (92) (93). Estos sucesos nos invitan a analizar qué posibles factores contribuyen a la supervivencia de sujetos procedentes de zonas geográficas económicamente desfavorecidas, pero con un estilo de alimentación y ejercitación que les podrían proteger ante situaciones de estrés. ¿Podría ser uno de estos factores su patrón de microbiota intestinal?

## Epidemias y microbiota intestinal: ¿oportunistas?

Hasta aquí se han revisado algunos de los factores que pueden dar respuesta a las razones por las que el mantenimiento del equilibrio en la microbiota intestinal individual es fundamental para garantizar el equilibrio taxonómico y cuantitativo de la microbiota colectiva.

Sin lugar a dudas, los patógenos son oportunistas, aprovechan cualquier elemento que afecte el estado de portador y favorezca su mecanismo patogénico en el organismo.

El estado de portador fue ilustrado por Lawley *et al.* (94), a través de un estudio realizado en un modelo de ratones inmunocompetentes, los cuales presentaban el intestino colonizado por *C. difficile* en estado portador (la bacteria está presente pero no en estado virulento). En este estado, la bacteria expresaba bajos niveles de esporas y no se transmitían infecciones a los ratones que convivían durante el estudio. Para simular el estado de pacientes humanos hospitalizados, los ratones fueron tratados con antibióticos. El tratamiento desencadenó un estado altamente contagioso caracterizado por una reducción drástica en la diversidad de especies de la microbiota intestinal, con un incremento en el crecimiento de *C. difficile* y altos niveles de excreción de esporas. Una vez interrumpido el tratamiento con antibióticos, se logró la recuperación de la microbiota intestinal en los ratones inmunocompetentes y se suprimieron los altos niveles de *C. difficile*. Sin embargo, en aquellos ratones en los que se detectó una deficiencia en la vía de señalización de la respuesta inmune innata, se manifestó una enfermedad intestinal grave y el síndrome de disfunción multiorgánica que imita a la situación que se presenta en pacientes hospitalizados (94).

Las enfermedades bacterianas frecuentes oportunistas de mayor impacto son las causadas por *V. cholerae*, *Shigella*, *Helicobacter pylori*, *Yersinia*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens*. En los EE.UU., por ejemplo, se registran cerca de 18 000 casos de shigelosis cada año. Como muchos casos leves no se diagnostican, el número de casos puede ser veinte veces mayor, según el Centro de Control de Enfermedades de Atlanta, Estados Unidos (*Centers for Disease Control and Prevention*; CDC). En los países en desarrollo, esta enfermedad es común y está siempre presente en algunas comunidades (95).

Uno de los mecanismos de acción de estas bacterias oportunistas es el que opera a través de los sistemas de vesículas de membrana externa (VME), estructuras bacterianas que permiten el transporte de las enzimas proteolíticas, compartidas por otras bacterias, hacia la superficie de bacterias que carecen de estas funciones. En estos grupos de bacterias patógenas que se benefician, en cuanto al intercambio de enzimas y toxinas, se encuentran *Shigella*, *Neisseria*, *Bacteroides*, *Pseudomonas*, *H. pylori*, *Vibrio*, *Salmonella*, *Brucella melitensis*, *C. jejuni*,

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Xenorhabdus nematophilus*. La acción de toxinas está también asociada con algunos tipos de estas vesículas (96) y se transportan de manera natural formando parte de las mismas (97).

Un ejemplo ilustrativo de este tipo de colaboración interfilos en las bacterias patógenas colonizadoras, es el hecho de que la bacteria *E. coli* enterohemorrágica carece de enzimas hidrolasas que actúan sobre la mucina intestinal para producir fucosa (azúcar importante en la inducción de sus genes virulentos para la colonización en el intestino). Sin embargo, una especie de *Bacteroides* (*B. thetaiotaomicron*) dispone de esta batería enzimática (fucosidasas) que escinden la fucosa de la mucina intestinal (moco) en crecimiento. Este intercambio entre *B. thetaiotaomicron* y *E. coli* incrementa la disponibilidad de fucosa para esta última. Por lo tanto, el incremento de los niveles de *Bacteroides* puede favorecer la patogénesis enterobacteriana (98).

Es frecuente la infección por *H. pylori* como patógeno oportunista y puede considerarse de magnitudes epidémicas, a nivel mundial. Los mayores indicadores de prevalencia se refieren en Brasil (>70%), Rusia (>70%), Portugal (86,4%), Italia (56,2%), España (54,9%), Grecia (52,1%), Francia (46,9%), Tailandia (43,6%) y en menor medida (no obstante, considerable) en Alemania (35,3%), países escandinavos (35,5%), Reino Unido (35,5%), Noruega (30,7%), Australia (24,6%), Nueva Zelanda (24,0%), Suiza (18,9%) y países del Caribe (50-70%). La adquisición de este patógeno está relacionada con edades tempranas de la niñez, en regiones donde los sistemas sanitarios y de aguas limpias son deficitarios (99). Estos datos demuestran que en los países desarrollados también es frecuente, probablemente, a causa de otros trastornos como el estrés y el deterioro de los patrones tradicionales de alimentación.

La transmisión de *H. pylori* puede darse también entre parejas, lo cual podría indicar que puede existir un estado portador, ya que pueden ser casos asintomáticos, en cuanto a sintomatología digestiva y negatividad de las pruebas serológicas (100).

Se conoce que la infección por *H. pylori* puede ser la causa de enfermedades del tracto gastrointestinal de tipo no neoplasia (enfermedad de úlcera péptica, gastritis atrófica crónica) y de tipo neoplasia (adenocarcinoma de estómago, linfoma gástrico originario del crecimiento del tejido linfoidal asociado a la mucosa) (101).

Los métodos diagnósticos son efectivos para la detección de este patógeno, según el estado del organismo humano, la medicación que han recibido previamente a las pruebas y la edad del paciente. La prueba del aliento o *test* de la ureasa (TU) es eficiente en los estados iniciales de la infección; sin embargo, en estados avanzados es necesaria la combinación de pruebas no invasivas e invasivas, como la exploración esofagogastroduodenoscopia con el correspondiente examen histopatológico de muestras de biopsia, la prueba de presen-

cia de sangre en heces, PCR de las muestras y el estudio de cultivos bacterianos, entre otros (101).

El incremento de la prevalencia e incidencia de las enfermedades inflamatorias digestivas en Europa Occidental es alarmante, aunque es inferior al de otras enfermedades de gran impacto, como el cáncer, la diabetes y las enfermedades autoinmunes. La prevalencia en los cinco países europeos más poblados de Europa (Alemania, Francia, Reino Unido, Italia y España), EE.UU. y Japón ha aumentado un 2,8%, desde el año 2011 hasta la actualidad. Se estima que el crecimiento anual se podría acentuar hasta 2021, situándose en alrededor del 2,9%, cifra que equivale a casi tres millones y medio de casos diagnosticados (102).

La colitis ulcerosa es más frecuente que la enfermedad de Crohn, con un 67% y un 33%, respectivamente. Las mayores tasas de prevalencia e incidencia de la enfermedad del intestino irritable se encuentran en Europa Occidental y Norteamérica. Sin embargo, los países asiáticos, latinoamericanos y de Europa Oriental mantienen niveles más bajos. En cambio, los estudios en el continente africano son muy limitados y los datos disponibles son poco confiables (102).

Algunos autores plantean que en el futuro será necesario abordar estudios epidemiológicos previos, acerca del contenido de la microbiota intestinal, para poder emprender los sistemas de vacunación (103). Parker *et al.* (103) realizaron una revisión que demostró que la respuesta de las vacunas orales podría depender de varios tipos de bacterias de la microbiota intestinal, entre ellos, de *Bacteroidetes*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*.

Dado el escenario actual, frente a una de las pandemias más serias a nivel mundial a causa del nuevo coronavirus SARS-CoV-2, sería recomendable tener en cuenta los factores analizados y continuar con estrategias relacionadas con estudios epidemiológicos, diagnóstico y prevención, relacionados con la microbiota intestinal y su papel en la infección a causa de este tipo de virus.

### Virus como oportunistas y posible colaboración con algunas bacterias. Algunos mecanismos homeostáticos implicados

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es una enfermedad infecciosa respiratoria emergente causada por el coronavirus que produce el síndrome respiratorio agudo severo 2 (conocido con las siglas SARS-CoV-2) extendido por el mundo, con connotación de pandemia. En sus mecanismos de invasión, el virus SARS-CoV-2 se une a los receptores de la enzima convertidora de angiotensina 2 para invadir a las células humanas y, estos receptores, se expresan, en gran medida en el epitelio intestinal y en el pulmonar (104).

A escasos meses de que se iniciase esta pandemia en el año 2020, Gu *et al.* (104) compartieron sus resultados

con la comunidad científica, acerca de los hallazgos obtenidos en pacientes hospitalizados por COVID-19 (desde enero hasta marzo de 2020) y los compararon con los resultados previos obtenidos en pacientes hospitalizados por la gripe por influenza A estacional (H1N1), entre enero y marzo de 2018.

En este estudio se analizó la abundancia de algunos géneros bacterianos en heces, caracterizados taxonómicamente y cuantificados a través de métodos metagenómicos. Según estos autores, las manifestaciones y rutas de transmisión de H1N1 son similares a las de COVID-19. La inclusión de un grupo control de sujetos sanos (GCS) permitió proponer algunas bases teóricas para la diferenciación en el diagnóstico de estas dos enfermedades, sus posibles conexiones con algunos géneros bacterianos, que podrían en un futuro considerarse como marcadores del tipo de enfermedad, presentes en la microbiota intestinal, así como algunos elementos diferenciales en el proceso de homeostasis (104).

Los resultados de este estudio demostraron que la abundancia relativa de los filos *Actinobacterias* y *Firmicutes* disminuyó significativamente en el grupo H1N1 en comparación con los grupos COVID-19 y GCS, lo cual se debió, en gran parte, a una significativa reducción en las clases *Actinobacteria*, *Erysipelothrichia* y *Clostridia* (104).

El análisis a nivel de familias bacterianas mostró una reducción de los representantes bacterianos anaeróbicos *Lachnospiraceae* y *Ruminococcaceae*, productores de butirato, en los pacientes con H1N1. Este resultado se asoció con la reducción de la abundancia de *Blautia*, *Agathobacter*, *Anaerostipes*, *Fusicatenibacter*, *Eubacterium hallii*, *Lachnospiraceae*, *Dorea*, *Faecalibacterium* y *Ruminococcus-2*. De manera similar, en los pacientes del grupo COVID-19 se redujo dramáticamente la abundancia de la familia *Ruminococcaceae* y varios géneros de la familia *Lachnospiraceae* (*Fusicatenibacter*, *Anaerostipes*, *Agathobacter*, *Lachnospiraceae* no clasificada y *E. hallii*) al ser comparada con GCS. Sin embargo, el número de *Streptococcus*, *Rothia*, *Veillonella* y *Actinomyces* fue elevado en pacientes del grupo COVID-19, comparado con el de los grupos H1N1 y GCS (104).

Por lo tanto, se concluyó que el microbioma del grupo H1N1 estaba dominado por *Enterococcus*, *Prevotella*, *Fingoldia* y *Peptoniphilus*, mientras que en el microbioma del GCS predominaron *Blautia*, *Romboutsia*, *Collinsella* y *Bifidobacterium*. De ahí que los seis biomarcadores finales (*Fusicatenibacter*, *Romboutsia*, *Anaerostipes*, *E. hallii*, *Ruminococcus* y *Blautia*) fueron seleccionados para diferenciar el grupo H1N1 y GCS, mientras que cinco biomarcadores finales (*Fusicatenibacter*, *Romboutsia*, *Intestinibacter*, *Actinomyces* y *Erysipelatoclostridium*) fueron seleccionados para distinguir el grupo COVID-19 del GCS (104).

Por último, uno de los aportes de este trabajo fue el hecho de proponer posibles marcadores que diferencian el perfil de la microbiota en ambas enfermedades: siete biomarcadores finales (*Streptococcus*, *Fusicatenibac-*

*ter*, *Collinsella*, *Dorea*, *Agathobacter*, *E. hallii* y *Ruminococcus*) y la connotación que puede suponer el aumento relativo de la abundancia de patógenos oportunistas, incluidos *Streptococcus*, *Rothia*, *Veillonella*, *Erysipelatoclostridium* y *Actinomyces*, en pacientes con COVID-19 (104).

En este análisis comparativo dentro del mismo grupo COVID-19, se demostró que no existían diferencias en cuanto a riqueza, diversidad y estructura de la microbiota bacteriana entre pacientes con COVID-19 (15 pacientes con categoría de severidad general y 15 pacientes con categoría severa). En todos los diferentes grados de severidad en la enfermedad, los biomarcadores se correlacionaron con los marcadores clínicos (PCR para identificación del ARN de SARS-CoV-2, procalcitonina, niveles del dímero D, citoquinas inflamatorias IL-2, IL-4 e IL-6). Como resultado, se encontró que existía una correlación positiva entre las citoquinas inflamatorias IL-2, IL-4 e IL-6 y la abundancia de algunos géneros de bacterias, presentes en pacientes con H1N1 (*Finnegoldia*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus*, *Intestinibacter* y *Prevotella*) (104).

Se estima que *Rothia* contribuye a la patogenicidad de la neumonía, especialmente en personas inmunodeprimidas y pacientes con catéteres retenidos. En un estudio anterior realizado por estos autores (104), se sugirió que *Streptococcus* y *Rothia* estaban asociadas con la susceptibilidad a la infección pulmonar bacteriana secundaria, en pacientes con infección por el virus aviar H7N9 y que los cambios en el ambiente entérico e inmunológico, cuando *Actinomyces* estuviese presente, podrían agravar el daño causado por la enfermedad inflamatoria intestinal (104).

Otro elemento importante en la respuesta homeostática fue que los niveles de IL-2 e IL-4 aumentaron significativamente en los pacientes con H1N1 y correlacionaron positivamente con la abundancia de estas bacterias, probablemente porque la infección por influenza altera el perfil microbiano intestinal a través de un mecanismo dependiente de los interferones de tipo I, inducidos en el pulmón (104).

Algunas evidencias previas habían demostrado que la infección por influenza respiratoria provocaba lesiones pulmonares mediante la movilización de derivados pulmonares (CCR9 y células T CD4) hacia el intestino delgado y estimulaban la producción de interferón- $\gamma$  por estas células (105).

La presencia de ARN del SARS-CoV-2 en muestras de heces de pacientes y el hecho de que la duración de esta molécula en las heces es más prolongada que su excreción por vías respiratorias, ha sido uno de los importantes aportes para confirmar la implicación del eje intestino-pulmón (104).

Una de las claves en el mecanismo de virulencia de este virus es la relacionada con los receptores ACE2 presentes en pulmones (abundantes en personas fumadoras), caracterizados como mono-carboxipeptidasas que convierten la hormona angiotensina II en un vasodilata-

dor angiotensina (2) (3) (4) (5) (6) (7). Este último se une al receptor MAS1-R, que al parecer, juega un papel importante en muchas vías de respuestas antiinflamatorias de los mecanismos de protección tisular (105).

La interacción del virus SARS-CoV-2 con ACE2 de los neumocitos tipo 2, a través de su glicoproteína de espícula presente en la superficie viral (proteína S), activa la acción enzimática de la enzima receptor (mediada por el sistema de renina-angiotensina) sobre la proteína S. Dicha interacción genera mediadores peptídicos que regulan la entrada viral (regulada además, por una proteasa serino-dependiente transmembrana asociada a la superficie celular conocida como TMPSS2) (105).

El receptor ACE2 se expresa de manera abundante en el epitelio gastrointestinal e interviene en el reconocimiento del virus, cuando éste alcanza el sistema. La interacción del virus con los receptores durante el proceso de virulencia puede interferir en la absorción de nutrientes (como el aminoácido triptófano), que normalmente interactúan con ACE2. Con la reducción de la disponibilidad de estos receptores en la vía protectora de conversión de la angiotensina II, se altera la homeostasis intestinal y se producen síntomas similares a la gastroenteritis (104) (105).

La susceptibilidad a contraer COVID-19, detectada en personas afectadas por enfermedades del intestino inflamado, es evidente. Aunque la enfermedad manifiesta pequeños y medianos síntomas de resfriado en la mayoría de los pacientes, ésta conduce, frecuentemente, a complicaciones letales (neumonía progresiva, síndrome de estrés agudo respiratorio y falla orgánica a consecuencia de una hiperinflamación y el llamado síndrome de tormenta de citoquinas. Esto se debe a que la infección se produce por las dos vías mencionadas: pulmón e intestino (105).

La fusión y penetración de los componentes virales, a través de endosomas, inducen la liberación de quimioquinas por las células infectadas del hospedador, lo cual conduce a la acumulación de neutrófilos en el sitio de la infección. Los neutrófilos también liberan citoquinas y quimioquinas que atraen a otras células del sistema inmune (monocitos y linfocitos T). En este punto, es de destacar la respuesta inmune exagerada que se genera (más alta en los pacientes no sobrevivientes que en los sobrevivientes, en cuanto a los niveles altos de neutrófilos (105).

En los pacientes con COVID-19, la activación de las células T estuvo presente; de manera que se demostró que las células T CD4+ son importantes mediadoras de la inmunidad humoral protectora a través de la estimulación de células B productoras de anticuerpos antivirales específicos. Por otra parte, se demostró que las células T CD8+ son consideradas una de las claves en la actividad citotóxica y la protección local, ante la infección. Si estas respuestas no fuesen suficientemente efectivas en COVID-19, la llamada tormenta de citoquinas (IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, TNF e IL-17), conduce a una linfohistiocitosis hemofagocítica secundaria en el esta-

do grave de la enfermedad, con severas implicaciones en el sistema gastrointestinal (104).

Por otra parte, los niveles de anticuerpos IgA, IgG e IgM encontrados en los pacientes con COVID-19 fueron similares, tanto en los diagnosticados con categoría leve como en los de diagnóstico severo, lo cual sugirió que no hubo un deterioro general en la actividad de las células B ni en los niveles del complemento con el incremento de la severidad (105).

En algunos estudios realizados en pacientes graves, se detectó una disminución en la cantidad de linfocitos, mayor número de neutrófilos y una elevada cantidad relativa de neutrófilos/linfocitos, con una disminución del porcentaje de monocitos, eosinófilos y basófilos. Por lo tanto, se ha hecho énfasis en la neutrofilia como factor de riesgo para la progresión en la severidad y fallecimiento de los pacientes, así como en la elevación de los marcadores de inflamación, como procalcitonina, proteína C, dímero D y ferritina (105).

Algunos resultados obtenidos durante los primeros meses de la pandemia causada por SARS-CoV-2 han permitido postular posibles modelos homeostáticos involucrados en la infección y gravedad de la enfermedad, resumidos por Neurath (106).

Los desórdenes homeostáticos durante la infección por SARS-CoV-2 fueron investigados en otro estudio, a través de la comparación de los niveles de un número representativo de posibles componentes de la regulación anti y proinflamatoria, en pacientes hospitalizados que permanecían en la unidad de cuidados intensivos (UCI), pacientes no incluidos en UCI (grupo no UCI) y sujetos sanos (107).

En el grupo de pacientes UCI se detectaron los mayores valores de interleuquinas IL-1beta, IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-13 e IL-17, del factor de crecimiento de fibroblastos, del factor de estimulación colónica de granulocitos (G-CSF), del factor de estimulación colónica de macrófagos, de interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), del TNF, del factor de crecimiento endotelial, de la proteína MCP-1 de monocitos, de la proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1 $\alpha$ ), del factor de crecimiento derivado de las plaquetas y de la proteína MIP-1 $\beta$ . En todos los casos se compararon con los de los sujetos sanos. Sin embargo, en estos pacientes no se mostraron cambios en los niveles de IL-5, IL-12 e IL-15 (107).

La comparación de estos patrones en los pacientes UCI (estado severo de la enfermedad) y no UCI (estado leve) demostró un incremento de IL-2, IL-7, IL-10, TNF, G-CSF, MCP-1 y MIP-1 $\alpha$ , con la severidad de la enfermedad pero sin variación en los niveles de IL-6 (107).

En otro estudio similar al anterior, la combinación de los análisis del dímero D y los niveles de IL-6, permitió proponer la inclusión de IL-6 como biomarcador de COVID-19 (108).

Queda un largo camino por recorrer para establecer detalladamente el complejo mecanismo de estos

virus en epidemias locales o extensivas en términos de pandemias. Sin embargo, se ha abordado con gran rapidez el conocimiento de la etiología de COVID-19, sus posibles vías de contagio, medidas efectivas para evitar la propagación y obtención de vacunas preventivas (en el año 2020, se han registrado 85 833 resultados en las bases de referencias PubMed de la Biblioteca Nacional Médica de Estados Unidos; <https://www.ncbi.nlm.gov/> revisado: 23 de diciembre de 2020).

Los elementos analizados podrían explicar la susceptibilidad de personas con determinados factores de riesgo para contraer la infección por SARS-CoV-2 (afecciones respiratorias, trastornos cardiovasculares e hipertensión, diabetes, obesidad, cáncer, enfermedades inflamatorias digestivas, edades avanzadas, a los que se podría añadir estrés y probablemente un patrón de consumo de alimentos al estilo occidental).

La caracterización basada en las técnicas de medios de cultivo sigue siendo de gran utilidad. Sin embargo, los métodos metagenómicos, metabolómicos y metatranscriptómicos han abierto una nueva línea de posibilidades para la identificación del panel bacteriano, viral y de hongos, en cuanto a genes, proteínas constituyentes, moléculas de señalización, vías metabólicas e inmunológicas y sus funciones (109) (110) (111) (112) (113) (114).

De ahí la utilidad de la caracterización metagenómica de la taxonomía microbiana intestinal como criterio diagnóstico complementario y preventivo. Son tecnologías costosas, pero una vez establecidas, se amortizarían gracias a la información que brindan para la prevención de futuras enfermedades. La tecnología de la preparación de bibliotecas genómicas para el gen que codifica la subunidad 16S del ARNr de las bacterias (1500 pb) y la introducción de los métodos actuales de análisis computacional, hacen que el proceso se abarate de un año a otro. Una mayor fidelidad en la identificación se logra gracias a la amplificación de regiones hipervariables de este gen, que permite obtener fragmentos más pequeños (de alrededor de 500 pb) (111).

Existen diferentes plataformas (*uBiome*, *American Gut*, *BIOHM*, *DayTwo*, *THRYVE*, *VIOME*) para la caracterización de la taxonomía y contenido de todos los microorganismos presentes en el intestino (Tabla II), a través de la evaluación metagenómica en muestras de biopsias colorrectales y heces (115). Estos sistemas se basan en la autorrecolección de muestras y envío en condiciones adecuadas al centro de evaluación. Los resultados del estudio (que pueden tardar hasta 3 meses) son recibidos por los sujetos solicitantes, con la explicación requerida para que el médico especialista analice la efectividad de un tratamiento aplicado, cambios en la dieta y su efecto sobre la diversidad del microbioma. Algunas plataformas también incluyen recomendaciones, en cuanto a cambios en los estilos de consumo de alimentos (nutrición personalizada y proporción en los géneros bacterianos que garanticen el equilibrio en la microbiota) (115).

Tabla II. Descripción de las plataformas disponibles para la evaluación metagenómica de la taxonomía y diversidad de la microbiota intestinal (115).

Plataforma	Referencia	Servicio	Costo de la determinación (U\$S)
<i>uBiome</i>	<a href="https://vimeo.com/user14624541">https://vimeo.com/user14624541</a> , Acceso: 04/04/2020 <a href="https://www.indiegogo.com/projects/ubiome-sequencing-your-microbiome#/">https://www.indiegogo.com/projects/ubiome-sequencing-your-microbiome#/</a> Acceso: 04/04/2020	-Secuencia el ADN de los microorganismos intestinales para identificar los patógenos asociados con enfermedades como el síndrome del intestino irritable (SII) y la enfermedad de Crohn. -Ofrece <i>SmartGut</i> , una prueba ordenada por un médico que podría estar cubierta por un seguro médico. El médico recibirá un informe acerca del contenido y géneros del microbioma y posible relación con infecciones específicas y enfermedades intestinales.	89 - 399
<i>American Gut</i>	<a href="http://americangut.org/">http://americangut.org/</a> Acceso: 04/04/2020	-Este proyecto de investigación financiado secuencia el gen que codifica la subunidad 16S ARNr para la identificación de bacterias y microorganismos unicelulares. Los resultados se comparten de forma anónima en repositorios abiertos para ayudar a una mayor investigación de microbiomas en todo el mundo. -Proporciona un informe sobre qué bacterias y qué otros microorganismos están presentes. El microbioma del sujeto se compara con los más de 10 000 en la base de datos del proyecto. -Proporciona información acerca de la dieta y estilo de vida que podrían contribuir a su composición de microbioma.	99
<i>BIOHM</i>	<a href="https://biohmhealth.com/">https://biohmhealth.com/</a> Acceso: 04/04/2020	-Secuencia los genes de las bacterias y los hongos en el intestino a nivel de género y especie. También hay disponible una prueba específica para <i>Candida</i> . -Proporciona un perfil de su composición intestinal y una comparación con los niveles normales de cepas bacterianas a partir de los resultados obtenidos por el proyecto NIH ( <i>Human Microbiome Project</i> ) y/o cepas fúngicas de la Facultad de Medicina de la Universidad ( <i>Case Western Reserve University School of Medicine</i> ). -Proporciona información adicional acerca de recomendaciones de dieta y estilo de vida de un nutricionista registrado. -La plataforma también vende su propia línea de probióticos.	135
<i>DayTwo</i>	<a href="https://www.daytwo.com/en/">https://www.daytwo.com/en/</a> Acceso: 04/04/2020	-Dirigido a personas con diabetes y prediabetes. La plataforma utiliza una prueba de heces para secuenciar el ADN de su microbioma y una prueba de sangre para medir la HbA1C que proporciona una idea de los niveles de glucosa en sangre. -Proporciona un perfil de la composición y diversidad del microbioma. Contiene una aplicación que utiliza la nutrición personalizada dedicada a ayudar a controlar los niveles de glucosa en la sangre, a través de consejos personalizados sobre alimentos que se deben evitar y recomendaciones de comidas y meriendas.	349
<i>THRYVE</i>	<a href="https://www.thryveinside.com/">https://www.thryveinside.com/</a> Acceso: 04/04/2020	-Utiliza la secuenciación del gen <i>16S rRNA</i> para secuenciar su microbioma hasta el nivel de especie, al igual que lo hace la plataforma <i>American Gut</i> . -Proporciona un resumen de qué bacterias saludables están disminuidas y qué patógenos están aumentados y un "puntaje de bienestar" basado en cómo se comparan sus resultados con los datos del <i>American Gut Project</i> . -Proporciona recomendaciones dietéticas y de suplementos diarios personalizados.	105
<i>VIOME</i>	<a href="https://www.viome.com/">https://www.viome.com/</a> Acceso: 04/04/2020	-Utiliza el análisis de meta-transcriptoma para secuenciar todo el ARN en las heces e identificar todos los microorganismos intestinales vivos (bacterias, virus, bacteriófagos, arqueas, hongos, levaduras, parásitos, etc.) a nivel de especies y cepas. -La plataforma evalúa los metabolitos que producen los microbios después de una comida. -Ofrece planes personalizados de alimentación y nutrición para minimizar la producción de metabolitos nocivos y maximizar la producción de los beneficiosos.	399

De momento, estas plataformas están distribuidas en los EE.UU., el Reino Unido y Australia, entre otros, pero no de forma generalizada en todo el mundo. Por lo tanto, sería ventajosa su ampliación hacia aquellos países donde se ha demostrado el papel de la microbiota en el desarrollo de enfermedades epidémicas, lo cual garantiza la caracterización de la tendencia en el patrón de la microbiota intestinal, a tal punto que se podrían llegar a predecir puntos críticos sociodemográficos de mayor susceptibilidad a determinados patógenos.

La experiencia adquirida durante la actual pandemia causada por el SARS-CoV-2, ha permitido desarrollar pruebas, tales como: el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la detección de la presencia del ARN viral, a partir de muestras nasofaríngeas (116) y las tiras diagnósticas para detección de IgG/IgM, a partir de muestras de sangre tomadas 7 días después que las personas fueron infectadas por el virus (como control epidemiológico y de la evolución de los pacientes infectados) (117). De igual manera, se podrían implementar pruebas complementarias con la plataforma de tiras que permitan detectar la presencia de aquellos marcadores bacterianos presentes en heces, susceptibles a variación en este tipo de epidemias.

En la actualidad, no existen referencias disponibles acerca de la existencia de métodos rápidos de tiras o los conocidos como genosensores (118) (119) para detección múltiple de varios filos. Existen sistemas de *microarrays*, como el que se utiliza para la detección e identificación de enterobacterias causantes de diarrea (CLART®EnteroBac) (120) que facilitan la identificación de los principales marcadores microbianos presentes en heces causantes de diarreas.

Ya se está en condiciones de colocar al microbioma como una prueba para el diagnóstico complementario de las enfermedades, conceder el papel que merece a este órgano adicional que el ser humano posee, para el mantenimiento de la salud, la defensa contra las infecciones, el tratamiento contra el cáncer y la inflamación, al cual no se le prestó una atención significativa (121) (122).

## Conclusiones

En poco tiempo se han acumulado nuevos conocimientos y se ha enriquecido el concepto de microbiota como algo esencial en la vida y la salud del ser humano y su importancia potencial en la lucha contra epidemias frente a agentes infecciosos, a otros trastornos como la obesidad, la diabetes, el cáncer, sus principales causas y efectos relacionados con el desbalance interno y en su relación con la ecología. Con las herramientas de la metagenómica estaremos mejor preparados para conocer más acerca de su equilibrio metabólico e inmunológico y alcanzar una salud estable.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a todos los profesionales bioquímicos, microbiólogos, médicos y epidemiólogos que continúan trabajando en el diagnóstico y prevención de enfermedades relacionadas con la microbiota intestinal. Al Dr. José Moreiro Socias y a la Sra. Begoña Alonso Zulueta, profesionales de Endocrinología y Nutrición, promotores de los estudios de microbiota intestinal, desde 2010.

## Fuentes de financiación

El presente trabajo fue realizado sin haberse recibido una financiación específica.

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

## Correspondencia

Dra. ILEANA MARTÍNEZ-CABRERA  
Calle Cort Lliure 4A, 1A.  
PALMA 07010. ILLES BALEARS. España.  
Correo electrónico: ileanamart@gmail.com

## Referencias bibliográficas

1. Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/file/80309/download?token=u4eZDDk51>; (Fecha de acceso: 23 de enero de 2021).
2. Liu Y, Tran DQ, Rhoads JM. Probiotics in disease prevention and treatment. *J Clin Pharmacol* 2018; 58 (10): 164-79.
3. Zoetendal EG, Akkermans AD, De Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis of 16S rRNA from human fecal samples reveals stable and host-specific communities of active bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1998; 64: 3854-9.
4. Preidis GA, Versalovic J. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics, and prebiotics: Gastroenterology enters the metagenomics era. *Gastroenterology* 2009; 136: 2015-31.
5. Martínez-Cabrera I, Capllonch-Amer G, Moreiro-Socías J, Alonso-Zulueta B, Vich F, Moll G, *et al.* Microbiota intestinal y salud en humanos: obesidad y diabetes *mellitus* tipo 2. *Rev Argent Endocrinol Metab* 2018; 55 (3): 157-66.
6. Martínez-Cabrera I, Patricia Ortega-Moya S, Calafat-Sard M, Dolz-Abadía C, Asensio-Landa VJ, Bauzá-Thorbrügge M, *et al.* Gut microbiota: characterization in some patients with active digestive disorders. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2019; 49 (2): 96-109.
7. Lavelle A, Lennon G, O'Sullivan O, Docherty N, Balfe A, Maguire A, *et al.* Spatial variation of the colonic microbiota in patients with ulcerative colitis and control volunteers. *Gut* 2015; 64: 1553-61.

8. Stanislowski MA, Dabelea D, Lange LA., Wagner BD, Lozupone CA. Gut microbiota phenotypes of obesity. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2019 Jul 1; 5 (1): 18.
9. Peterson CT, Sharma V, Elmén L, Peterson SN. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clin Exp Immunol* 2015; 179 (3): 363-77.
10. Yang D, Xing Y, Song X, Qian Y. The impact of lung microbiota dysbiosis on inflammation. *Immunology* 2019; 159: 156-66.
11. Balfour Sartor R. Gut microbiota: optimal sampling of the intestinal microbiota for research. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015 May; 12 (5): 253-4.
12. Putignani L, Del Chierico F, Vernocchi P, Cicala M, Cucchiara S, Dallapiccola B, *et al.* Gut microbiota dysbiosis as risk and premorbid factors of IBD and IBS along the childhood–adulthood transition. *Inflamm Bowel Dis* 2016 Feb; 22 (2): 487-504.
13. Corthésy B. Secretory immunoglobulin A: well beyond immune exclusion at mucosal surfaces. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2009 Jun; 31 (2): 174-9.
14. Sankaran-Walters S, Hart R, Dills C. Guardians of the gut: enteric defensins. *Front Microbiol* 2017; 8: 647.
15. Skelly AN, Sato Y, Kearney S, Honda K. Mining the microbiota for microbial and metabolite-based immunotherapies. *Nat Rev Immunol* 2019; 19: 305-23.
16. Ivashkin V, Zolnikova O, Potskherashvili N, Trukhmanov A, Kokina N, Dzhakhaya N, *et al.* Metabolic activity of intestinal microflora in patients with bronchial asthma. *Clin Pract* 2019; 9 (1): 1126.
17. Perlot T, Penninger JM. ACE2 - From the rennin-angiotensin system to gut microbiota and malnutrition. *Microbes Infect* 2013 Nov; 15 (13): 866-73.
18. Yamamoto EA, Jørgensen TN. Relationships between vitamin D, gut microbiome, and systemic autoimmunity. *Front Immunol* 2020; 10: 3141.
19. Wang J, Chen WD, Wang YD. The relationship between gut microbiota and inflammatory diseases: the role of macrophages. *Front Microbiol* 2020; 11: 1065.
20. Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease *Cell Host Microbe* 2018 Jun 13; 23 (6): 716-24.
21. Vigezzi C, Riera FO, Rodríguez E, Icely PA, Miró MS, Figueredo CM, *et al.* Candidiasis invasora: un enfoque a la infección en el sistema nervioso central. *Rev Argent Microbiol* 2021 Apr-Jun; 53 (2): 171-8.
22. Gu Y, Zhou G, Qin X, Huang S, Wang B, Cao H. The potential role of gut mycobiome in irritable bowel syndrome. *Front Microbiol* 2019 Aug 21; 10: 1894.
23. Osakunor DNM, Munk P, Mdluluzi T, Petersen TN, Brinch C, Ivens A, *et al.* The gut microbiome but not the resistome is associated with urogenital schistosomiasis in preschool-aged children. *Commun Biol* 2020 Apr 2; 3 (1): 155.
24. Shkoporov AN, Clooney AG, Sutton T, Ryan FJ, Daly KM, Nolan JA, *et al.* The human gut virome is highly diverse, stable and individual-specific. *Cell Host Microbe* 2019 Oct 9; 26 (4): 527-41.e5.
25. Bollyky PL, Secor PR. The innate sense of bacteriophages. *Cell Host Microbe* 2019; 25 (2): 177-9.
26. Gogokhia L, Buhrke K, Bell R, Hoffman B, Brown DG, Hanke-Gogokhia C, *et al.* Expansion of bacteriophages is linked to aggravated intestinal inflammation and colitis. *Cell Host Microbe* 2019; 25 (2): 285-99.e8.
27. Blaser MJ, Falkow S. What are the consequences of the disappearing human microbiota? *Nature Rev Microbiol* 2009; 7: 887-94.
28. Biedermann L, Rogler G. The intestinal microbiota: its role in health and disease. *Eur J Pediatr* 2015; 174 (2): 151-67.
29. Ewald DR, Sumner SCJ. Human microbiota, blood group antigens, and disease. *WIREs Syst Biol Med* 2018; 10: e1413.
30. Jandhyala SM, Talukdar R, Subramanyam C, Vuyyuru H, Sasikala M, Reddy DN. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol* 2015; 21 (29): 8787-803.
31. Dehingia M, Thangjam devi K, Talukdar NC, Talukdar R, Reddy N, Mande SS, *et al.* Gut bacterial diversity of the tribes of India and comparison with the worldwide data. *Sci Rep* 2015; 5: 18563.
32. Annunziata M, Calabriso N, Scoditti E, Massaro M, De Caterina R. The mediterranean diet: an evidence-based approach. En: Preedy VR, Watson RR, editors. *Mediterranean diet polyphenols*. Chapter 27. Academic Press; 2015. p. 291-300.
33. Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial changes during pregnancy, birth, and infancy. *Front Microbiol* 2016; 7: 1031.
34. Koren O, Goodrich JK, Cullender TC, Spor A, Laitinen K, Backhed HK, *et al.* Host remodelling of the gut microbiome and metabolic changes during pregnancy. *Cell* 2012; 150: 470-80.
35. Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Distinct composition of gut microbiota during pregnancy in overweight and normal-weight women. *Am J Clin Nutr* 2008; 88: 894-9.
36. Aagaard K, Riehle K, Ma J, Segata N, Mistretta TA, Coarfa C, *et al.* A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS ONE* 2012; 7: e36466.
37. Gupta P, Singh MP, Goyal K. Diversity of vaginal biome in pregnancy: deciphering the obscurity. *Front Public Health* 2020; 8: 326.
38. Santacruz A, Collado MC, García-Valdés L, Segura MT, Martín-Lagos JA, Anjos T, *et al.* Gut microbiota composition is associated with body weight, weight gain and biochemical parameters in pregnant women. *Br J Nutr* 2010; 104 (1): 83-92.
39. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, *et al.* Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 11971-5.
40. Gosalbes MJ, Llop S, Valles Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially as-



- sociated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin Exp Allergy* 2013; 43: 198-211.
41. Mackie RI, Sghir A, Gaskins HR. Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1035S-45S.
  42. Schei K, Avershina E, Øien T, Júlíusson PB, Underhill D, Salamiti S, *et al.* Early gut mycobiota and mother-offspring transfer. *Microbiome* 2017; 5 (107).
  43. Yatsunenkov T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, *et al.* Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012; 486: 222-7.
  44. Jeurink PV, van Bergenhenegouwen J, Jimenez E, Knippels LM, Fernandez L, Garssen J, *et al.* Human milk: a source of more life than we imagine. *Benef Microbes* 2013; 4: 17-30.
  45. Hornef MW, Torow N. 'Layered immunity' and the 'neonatal window of opportunity' – timed succession of non-redundant phases to establish mucosal host-microbial homeostasis after birth. *Immunology* 2020; 159 (1): 15-25.
  46. Velasquez-Manoff M. An epidemic of absence. A new way of understanding allergies and autoimmune diseases. New York (NY): Scribner Books Co; 2012.
  47. Liao XY, Qiu KY, Wu RH, Guo SY, Wang J, Huang K, *et al.* Clinical analysis of 164 children of blood disease complicated with invasive fungal disease. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2019; 27 (5): 1672-7.
  48. Hsu J-F, Lai M-Y, Lee C-W, Chu S-M, Wu I-H, Huang H-R, *et al.* Comparison of the incidence, clinical features and outcomes of invasive candidiasis in children and neonates. *BMC Infect Dis* 2018; 18: 194.
  49. Bridgman SL, Kozyrskyj AL, Scott JA, Becker AB, Azad MB. Gut microbiota and allergic disease in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2016; 116: 99-105.
  50. Kumar P, Choonara YE, Pillay V. A symbiotic glance at the complexities of signature microbiomic interventions: infusing balance. *S Afr J Sci* 2014; 110 (11/12): 1-5.
  51. De Filippo C, Cavalieri D, di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, *et al.* Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107: 14691-6.
  52. Del Chierico F, Vernocchi P, Bonizzi L, Carsetti R, Castellazzi AM, Dallapiccola B, *et al.* Early-life gut microbiota under physiological and pathological conditions: the central role of combined meta-omics-based approaches. *J Proteomics* 2012; 75: 4580-7.
  53. Zhang C, Zhang M, Wang S, Han R, Cao Y, Hua W, *et al.* Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice. *ISME J* 2010; 4: 232-41.
  54. Del Chierico F, Gnani D, Vernocchi P, Petrucca A, Alisi A, Dallapiccola B, *et al.* Meta-omic platforms to assist in the understanding of NAFLD gut microbiota alterations: Tools and applications. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 684-711.
  55. Lavelle A, Lennon G, O'Sullivan O, Docherty N, Balfe A, Maguire A, *et al.* Spatial variation of the colonic microbiota in patients with ulcerative colitis and control volunteers. *Gut* 2015; 64: 1553-61.
  56. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486: 207-14.
  57. Gillespie JJ, Wattam AR, Cammer SA, Gabbard JL, Shukla MP, Dalay O, *et al.* PATRIC: the comprehensive bacterial bioinformatics resource with a focus on human pathogenic species. *Infect Immun* 2011; 79: 4286-98.
  58. Hollister EB, Gao C, Versalovic J. Compositional and functional features of the gastrointestinal microbiome and their effects on human health. *Gastroenterol* 2014; 146 (6): 1449-58.
  59. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: A fluorescence *in situ* hybridization study in mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11 (8): 1131-40.
  60. Gorenc G, Lukas F, Avgustin G. Examination of ai-2 quorum sensing system in *Prevotella bryantii* and *Prevotella ruminicola*-like strains by using bioluminescence assay. *Acta Agricult Slovenica* 2007; 90: 107-13.
  61. La Sarre B, Federle MJ. Exploring quorum sensing to confuse bacterial pathogens. *Microbiol Mol Biol Rev* 2013; 77 (1): 73-111.
  62. Scott KP, Martin JC, Campbell G, Mayer CD, Flint HJ. Whole-genome transcription profiling reveals genes up-regulated by growth on fucose in the human gut bacterium *Roseburia inulinivorans*. *J Bacteriol* 2006; 188: 4340-9.
  63. Magne F, Puchi SA, Carvajal B, Gotteland M. The elevated rate of cesarean section and its contribution to non-communicable chronic diseases in Latin America: the growing involvement of the microbiota. *Front Pediatr* 2017; 5 (192): 1-11.
  64. Kaplan RC, Wang Z, Usyk M, Sotres-Alvarez D, Daviglius ML, Schneiderman N, *et al.* Gut microbiome composition in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos is shaped by geographic relocation, environmental factors, and obesity. *Genome Biol* 2019; 20: 219.
  65. Carbonett B, Fabbro MC, Sciara M, Seravalle A, Méjico G, Revale S, *et al.* Human microbiota of the Argentine population - A pilot study. *Front Microbiol* 2016 Feb 1; 7: 51.
  66. Kho ZY, Lal SK. The human gut microbiome – a potential controller of wellness and disease. *Front Microbiol* 2018; 9: 1835.
  67. Tabish SA. Is diabetes becoming the biggest epidemic of the twenty-first century? *Int J Health Sci (Qassim)* 2007; 1 (2): V-VIII.
  68. Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström Göran, Behre CJ, Fagerberg Björn, *et al.* Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; 498 (7452): 99-103.
  69. Medina E. Enfermedad inflamatoria intestinal (II): clasificación, etiología y clínica. *An Pediatr Contin* 2013; 11 (2): 59-67.

70. Fyderek K, Strus M, Kowalska-Duplaga K, Gosiewski T, Wedrychowicz A, Jedynak-Wasowicz U, *et al.* Mucosal bacterial microflora and mucus layer thickness in adolescents with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5287-94.
71. Gosiewski T, Brzychczy-Wloch M, Heczko PB. The application of multiplex PCR to detect seven different DNA targets in group B streptococci. *Folia Microbiol* 2012; 57 (3): 163.
72. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 13780-5.
73. Baumgart M, Dogan B, Rishniw M, Weitzman G, Bosworth B, Yantiss R, *et al.* Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of *Clostridiales* in Crohn's disease involving the ileum. *ISME J* 2007; 1: 403-18.
74. Sokol H, Seksik P, Rigottier-Gois L, Lay C, Lepage P, Podglajen I, *et al.* Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 106-11.
75. Bibiloni R, Mangold M, Madsen KL, Fedorak RN, Tanock GW. The bacteriology of biopsies differs between newly diagnosed, untreated, Crohn's disease and ulcerative colitis patients. *J Med Microbiol* 2006; 55: 1141-9.
76. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence *in situ* hybridization study in mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1131-40.
77. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N, *et al.* High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterol* 2004; 127: 412-21.
78. Kotlowski R, Bernstein CN, Sepehri S, Krause DO. High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease. *Gut* 2007; 56: 669-75.
79. Cas I, Gilberto F, Luce L, Dopazo H, Penas-Steinhardt A. Metagenomic analysis of gut microbiota in no-treated plaque psoriasis patients stratified by disease severity: development of a new Psoriasis Microbiome Index. *Sci Rep* 2020; 10 (1): 12754.
80. Warburton DW, McCormick JK, Bowen B. Survival and recovery of *Aeromonas hydrophila* in water: development and methodology for testing bottled water in Canada. *Can J Microbiol* 1994; 40: 145-8.
81. Andrade L, O'Dwyer J, O'Neill E, Hynds P. Surface water flooding, groundwater contamination, and enteric disease in developed countries: a scoping review of connections and consequences. *Environ Pollut* 2018; 236: 540-9.
82. Food Safety Authority of Ireland. Report of the Scientific Committee of the Food Safety Authority of Ireland: The consumption of bottled water containing certain bacteria or groups of bacteria and the implications for public health. 2009. Dublin. SBN 1-904465-63-3. <https://www.lenus.ie/bitstream/handle/10147/141681/Bottled%20water%20opinion%20paper%202009%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Fecha de acceso: 1 de marzo de 2020).
83. Edberg SC. Microbial health risks of regulated drinking waters in the United States: a comparative microbial safety assessment of public water supplies and bottled water. En: Claborn D, editor. *Topics in Public Health* 2015.
84. Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulos A, Dernini S, *et al.* Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Pub Health* 2011; 14 (12A): 2274-84.
85. Ostan R, Lanzarini C, Pini E, Scurti M, Vianello D, Bertarelli C, *et al.* Inflammaging and cancer: a challenge for the mediterranean diet. *Nutrients* 2015; 7: 2589-621.
86. Garcia-Mantrana I, Selma-Royo M, Alcantara C, Collado MC. Shifts on gut microbiota associated to mediterranean diet adherence, specific dietary intakes on general adult population. *Front Microbiol* 2018; 9: 890.
87. Goodrich JK, Waters JL, Poole AC, Sutter JL, Koren O, Blekhman R, *et al.* Human genetics shape the gut microbiome. *Cell* 2014; 159 (4): 789-99.
88. Collins J, Robinson C, Danhof H, Knetsch CW, van Leeuwen H, Lawley TD, *et al.* Dietary trehalose enhances virulence of epidemic *Clostridium difficile*. *Nature* 2018; 553: 291-4.
89. Hehemann JH, Correc G, Barbeyron T, Helbert W, Czjzek M, Michel G. Transfer of carbohydrate-active enzymes from marine bacteria to Japanese gut microbiota. *Nature* 2010; 464: 908-14.
90. Mah KW, Sangsupawanich P, Tunyapanit W, van Bever H, Shek LP, Chua KY, *et al.* Gut microbiota of children living in rural south Thailand and urban Singapore. *Allergol Int* 2008; 57 (1): 65-71.
91. La-Ongkham O, Nakphaichit M, Leelavatcharamas V, Keawsompong S, Nitisinprasert S. Distinct gut microbiota of healthy children from two different geographic regions of Thailand. *Arch Microbiol* 2015; 197 (4): 561-73.
92. Arana I. Rescate en Tailandia: algunos de los niños rescatados salieron "dormidos" de la cueva en Tailandia. *El Mundo (España)* 2018 Jul. Disponible en: <https://www.elmundo.es/internacional/2018/07/11/5b45b8cee2704e15728b4621.html>. (Fecha de acceso: 18 de agosto de 2019).
93. Vidal Liy M. Rescatados otros cuatro niños de la cueva de Tailandia. *El País (España)* Mae Sai (Tailandia). 2018; Jul 11; Disponible en: [https://elpais.com/internacional/2018/07/09/actualidad/1531128804\\_560904.html](https://elpais.com/internacional/2018/07/09/actualidad/1531128804_560904.html) (Fecha de acceso: 18 agosto de 2019).
94. Lawley TD, Clare S, Walker AW, Goulding D, Stabler RA, Croucher N. Antibiotic treatment of *Clostridium difficile* carrier mice triggers a supershedder state, spore-mediated transmission, and severe disease in

- immunocompromised hosts. *Infect Immun* 2009; 77 (9): 3661-9.
95. OPS-OMS (Organización Panamericana de la Salud - Organización Mundial de la Salud). Peligros biológicos. Inocuidad de alimentos - Control sanitario - HACCP 2016. Disponible en: [https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10838%3A2015-peligros-biologicos&catid=7678%3Ahacpp&Itemid=41432&lang=es](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3A2015-peligros-biologicos&catid=7678%3Ahacpp&Itemid=41432&lang=es) (Fecha de acceso: 12 de agosto de 2019).
  96. Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the host-pathogen interaction. *Genes Dev* 2005; 19: 2645-55.
  97. Altindis E, Fu Y, Mekalanos JJ. Proteomic analysis of *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 11 (15): e1548-56.
  98. Pacheco AR, Curtis MM, Ritchie JM, Munera D, Waldor MK, Moreira CG, *et al.* Fucose sensing regulates bacterial intestinal colonization. *Nature* 2012; 492 (7427): 113-7.
  99. Hooi JKY, Lai WY, Ng WK, Suen MMY, Underwood FE, Tanyingoh D, *et al.* Global prevalence of *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2017; 153 (2): 420-9.
  100. Rodríguez E, Bermúdez L, Trujillo M, González L, Torres L, Reyes O, *et al.* Evidencia de transmisión de la infección de *Helicobacter pylori* entre parejas. *Rev CENIC Ciencias Biológicas* 2010; 41: 1-7.
  101. Sankararaman S, Moosavi L. Urea breath test. Treasure Island (FL). StatPearls Publishing; 2020 Jan. NCB. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542286/> (Fecha de acceso: 31 de marzo de 2020).
  102. Ondategui-Parra S. Enfermedad inflamatoria intestinal: situación actual y retos asistenciales. 2016 Ernst & Young, S.L. Disponible en: <https://studylib.es/doc/5558292/enfermedad-inflamatoria-intestinal-situaci%C3%B3n-actual-y-retos>. (Fecha de acceso: 31 de marzo de 2020).
  103. Parker EP, Ramani S, Lopman BA, Church JA, Ituriza-Gómara M, Prendergast AJ, *et al.* Causes of impaired oral vaccine efficacy in developing countries. *Future Microbiol* 2018; 13: 97-118.
  104. Gu S, Chen Y, Wu Z, Chen Y, Gao H, Lv L, *et al.* Alterations of the gut microbiota in patients with coronavirus disease 2019 or H1N1 influenza. *Clin Infect Dis* 2020 Dec 17; 71 (10): 2669-78.
  105. Wang J, Li F, Wei H, Lian ZX, Sun R, Tian Z. Respiratory influenza virus infection induces intestinal immune injury via microbiota-mediated Th17 cell-dependent inflammation. *J Exp Med* 2014; 211: 2397-410.
  106. Neurath MF. COVID-19 and immunomodulation in IBD. *Gut* 2020 Jul; 69 (7): 1335-42.
  107. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020; 395: 497-506.
  108. Gao Y, Li T, Han M, Li X, Wu D, Xu Y, *et al.* Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. *J Med Virol* 2020; 92 (7): 791-6.
  109. Gupta P, Singh MP, Goyal K. Diversity of vaginal microbiome in pregnancy: deciphering the obscurity. *Front Public Health* 2020; 8: 326.
  110. Kho ZY, Lal SK. The human gut microbiome - a potential controller of wellness and disease. *Front Microbiol* 2018; 9: 1835.
  111. Segata N, Boernigen D, Tickle TL, Morgan XC, Garrett WS, Huttenhower C. Computational meta'omics for microbial community studies. *Molecular Systems Biol* 2013; 9: 666.
  112. Wilmes P, Bond PL. Metaproteomics: studying functional gene expression in microbial ecosystems. *Trends Microbiol* 2006; 14: 92-7.
  113. Turnbaugh PJ, Gordon JL. An invitation to the marriage of metagenomics and metabolomics. *Cell* 2008; 134: 708-13.
  114. Gilbert JA, Hughes M. Gene expression profiling: metatranscriptomics. En: Kwon Y, Ricke S (eds) High-throughput next generation sequencing. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol 733. Totowa, NJ: Humana Press; 2011.
  115. Neimark J, Rawls B. Should you test your gut microbiome? Actualizado: 4/06/2018. Disponible en: <https://rawlsmd.com/health-articles/test-gut-microbiome>. (Fecha de acceso: 4 de abril de 2020).
  116. Genómica. Disponible en: <http://genomica.com/covid-19/> (Fecha de acceso: 23 de enero de 2021).
  117. Biogen Científica. *Kit de test rápido COVID-19 IgG/IgM* <https://www.biogen.es/es/content/36-kit-de-test-rapido-covid-19> (Fecha de acceso: 23 de enero de 2021).
  118. Summers FA, Mason RP, Ehrenshaft M. Development of immunoblotting techniques for DNA radical detection. *Free Radic Biol Med* 2013; 56: 64-71.
  119. Del Giallo ML, Ozkan Ariksoy D, Marrazza G, Mascini M, Ozsoz M. Disposable electrochemical enzyme-amplified genosensor for *Salmonella* bacteria detection. *Anal Lett* 2005; 38: 2509-23.
  120. Genómica, S.A.U. Detección e identificación genética de enterobacterias causantes de diarrea *CLART® Enterobac*. Versión 4, 2015. Madrid: Parque Empresarial Alvento; 2015. Disponible en: <http://genomica.com/productos-tecnologia-clart/> (Fecha de acceso 15 de mayo de 2020).
  121. Hsiao WWL, Metz Ch, Singh DP. The microbes of the intestine: an introduction to their metabolic and signaling capabilities. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008; 37: 857-71.
  122. Lazar V, Ditu LM, Gradisteanu GP, Gheorghe I, Curutiu C, Holban AM, *et al.* Aspects of gut microbiota and immune system interactions in infectious diseases, immunopathology and cancer. *Front Immunol* 2018; 9: 1830.

**Recibido: 21 de abril de 2020**

**Aceptado: 25 de marzo de 2021**