
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL

**ANÁLISIS DE
COMUNIDADES MICROBIANAS EN LA MICROBIOTA PULMONAR
DE INDIVIDUOS SANOS Y PACIENTES CON TUBERCULOSIS DE
PULMÓN**

QUE PRESENTA LA ALUMNA:

Elizalde Rodríguez Itzel

Matrícula: 2162032842

ASESORES

EXTERNO:

Dra. Eugenia Luisa Silva-Herzog Márquez
Laboratorio de Farmacogenómica, INMEGEN.

INTERNO:

Dra. Ruth Soto Castor
Laboratorio de Ecología Microbiana, UAM-Xochimilco.

Ciudad de México

FEBRERO, 2021

ÍNDICE

1.- Introducción	3
2.- Marco teórico	6
2.1. Microbioma humano: Definición, origen, factores que lo determinan, alteraciones y funciones	6
2.2. Ejemplos de microbiomas	9
a) Cutáneo	9
b) Genital	11
c) Oral	11
d) Gastrointestinal	12
2.3. Microbioma pulmonar: antecedentes, composición y factores que lo determinan	14
2.4. Enfermedades respiratorias y microbioma pulmonar	17
2.5. El pulmón: composición y función	18
a) Surfactante pulmonar	18
b) Epitelio alveolar	18
c) Endotelio capilar	19
2.6. Tuberculosis	19
3.- Metodología	23
4.- Resultados y discusión	24
4.1 Revisión de artículos	24
4.2 Abundancias relativas a nivel filo y género	26
4.3 Descripción de géneros	33
a) <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	33
b) <i>Haemophilus spp</i>	39
c) <i>Rothia spp</i>	45
d) <i>Veillonella spp</i>	47
e) <i>Moraxella spp</i>	49
5.- Conclusiones	51
6.- Literatura citada	52

I. Introducción

A lo largo de la historia, los microorganismos han tenido un papel fundamental en la evolución, no solo de ellos mismos sino también de la tierra y los distintos organismos que habitan en ella. Bacterias, virus, protozoarios y hongos son capaces de colonizar múltiples hábitats, incluso aquellos que presentan condiciones extremas, ya sea, elevadas temperaturas, pH ácidos, escasez de nutrientes, o ausencia de oxígeno. Los microorganismos colonizan también las plantas, los suelos, mares y los animales, incluido el hombre.

El cuerpo humano es un ecosistema complejo y diverso que está colonizado por diferentes grupos de microorganismos, siendo las bacterias el grupo más estudiado hasta el momento, (Villarreal, 2013). Podemos encontrar a múltiples microorganismos en nichos como la piel, los ojos, la boca, la vagina, el intestino, las vías respiratorias y las vías urinarias (Uzcátegui, 2016). Al conjunto de organismos que habitan dentro del cuerpo humano y ocupa un hábitat en específico se le conoce como *microbiota* (Moreno del Castillo *et al.*, 2018), mientras que el *microbioma* se refiere a la comunidad de microorganismos con sus elementos genéticos y las interacciones que establecen con el medio ambiente en donde se desarrollan, (Ariza-Andraca *et al.*, 2016).

El término de *microbioma* fue sugerido por primera vez por Whipps y colaboradores en 1988 en estudios de enfermedades de plantas (Whipps *et al.*, 1988). En la última década, el interés de la comunidad científica se ha enfocado en el estudio del microbioma humano, debido a su importancia en el balance entre salud y enfermedad (Moreno del Castillo *et al.*, 2018). Diversos estudios (Maynard, 2019; Dickson *et al.*, 2015; Man *et al.*, 2017; Uzcátegui, 2016; Foster *et al.*, 2017, Moreno del Castillo *et al.*, 2018) sugieren que el sistema inmune ha evolucionado para consolidar la coexistencia de los microorganismos que conforman el microbioma y otros sugieren una interacción con el sistema nervioso y el hormonal (Schluter *et al.*, 2012, Foster *et al.*, 2017, Moreno *et al.*, 2018, Costello *et al.*, 2012, García-Mazcorro *et al.*, 2015, Rakoff-Nahoum *et al.*, 2016).

El conocimiento científico sobre la comunidad de microorganismos se desarrolló inicialmente con cultivos específicos en el laboratorio. (González *et al.*, 2017). La base de la microbiología tradicional ha sido el cultivo bacteriano que utiliza una combinación específica de nutrientes y condiciones ambientales controladas para aislar y estudiar el desarrollo de estos organismos. Sin embargo, la mayoría de los microorganismos observables en la naturaleza, no se pueden cultivar mediante las técnicas tradicionales, (Moya, 2017). El avance de las tecnologías de secuenciación del DNA (con técnicas moleculares) ha impulsado un nuevo campo de investigación el del “microbioma humano”, el cual permite analizar comunidades microbianas que se establecen en el cuerpo humano sin necesidad de cultivarlas (González *et al.*, 2017).

Hoy en día se sabe que el microbioma humano tiene una relación muy estrecha en la regulación del metabolismo, la inmunidad y la síntesis de vitaminas, y recientemente se sabe que alteraciones en su composición pueden tener serias implicaciones en el desarrollo de ciertas patologías infecciosas y no infecciosa, (Corral del Bosque, 2015).

Gracias a estos avances, se ha demostrado que las vías respiratorias son uno de los nichos donde los microorganismos y su función se relacionan con el establecimiento y desarrollo de enfermedades crónicas y agudas, (Maynard, 2019). Es en este contexto, es que en este trabajo abordaremos el estudio del microbioma pulmonar y su relación con la tuberculosis (TB); una de las enfermedades infecciosas más importantes en el mundo asociada a un gran número de muertes.

Objetivo General:

- Analizar las comunidades bacterianas que se desarrollan en el pulmón, en individuos sanos y aquellos con tuberculosis.

Objetivos particulares:

- Identificar los géneros de las bacterias presentes en el pulmón, en individuos sanos y con tuberculosis.
- Analizar las abundancias relativas y prevalencia de los géneros bacterianos más representativos, presentes en la microbiota pulmonar en individuos sanos y con tuberculosis, como son: *Haemophilus*, *Rothia*, *Moraxella* y *Veillonella*.
- Describir las comunidades bacterianas (*Haemophilus*, *Rothia*, *Moraxella* y *Veillonella*) que se establecen en el pulmón en individuos sanos y con tuberculosis.
- Analizar las relaciones intraespecíficas e interespecíficas que permiten el desarrollo de comunidades bacterianas *Haemophilus*, *Rothia*, *Moraxella* y *Veillonella* que se asocian con la tuberculosis.

2. Marco Teórico

Microbioma humano

La *microbiota* se define como la comunidad de microorganismos que ocupan un hábitat específico, (Moreno del Castillo *et al.*, 2018). El *microbioma* se refiere a la comunidad de microorganismos con sus elementos genéticos y las interacciones que establecen con el medio ambiente en el que se encuentran, (Ariza-Andraca *et al.*, 2016).

El término de *microbioma* fue sugerido por primera vez por Whipps y colaboradores en 1988 en estudios de enfermedades de plantas, (Whipps *et al.*, 1988); sin embargo, fue Joshua Lederberg quien en 2001 lo popularizó, al referirse a la comunidad ecológica de microorganismos comensales, simbióticos y patógenos que literalmente comparten nuestro espacio corporal (Dickson *et al.*, 2016). Lederberg, Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1958, demostró que las bacterias comensales mantienen un intenso intercambio genético entre ellas y las células del hospedero, (Ariza-Andraca *et al.*, 2016).

El microbioma humano es un ecosistema interno constituido por el cuerpo humano y los microorganismos que en él conviven (Moya, 2017). Factores fisiológicos como la humedad, la temperatura o la presencia de nutrientes favorecen el desarrollo de comunidades bacterianas específicas en determinados ecosistemas del cuerpo humano, estableciéndose en diferentes partes del organismo (nichos) (Moya, 2017), como la piel, los genitales, la boca, la vía aérea, y sobretodo el tracto digestivo, (Ariza-Andraca *et al.*, 2016). En el hombre se han estudiado 15 nichos ecológicos o microbiomas y en la mujer 18 (Uzcátegui, 2016).

Más de 10^{13} microbios coexisten con las 10^{12} células en el organismo humano y se estima que alrededor de 40,000 especies de diferentes bacterias habitan el cuerpo humano, (Uzcátegui, 2016;). Estos microorganismos establecen una relación simbiótica, de comensalismo y/o de mutualismo con el individuo, en la cual los microorganismos obtienen oxígeno y nutrientes y el organismo humano lleva a cabo

funciones metabólicas, (Uzcátegui, 2016; Villarreal, 2013). Se ha propuesto que, dichos microorganismos no son perjudiciales para el hombre sino que al contrario, son esenciales para mantener la salud y realizar diversos procesos como la digestión de alimentos, la síntesis de nutrientes y la prevención de enfermedades, (Moya, 2017). Estudios más recientes proponen que el microbioma juega un papel esencial en el funcionamiento del organismo no solo a través de su participación en las funciones metabólicas sino también por su comunicación con el sistema nervioso, el sistema hormonal, el sistema inmune, así como con los diferentes microbiomas del cuerpo, (Schluter *et al.*, 2012, Foster *et al.*, 2017, Moreno del Castillo *et al.*, 2018, Costello *et al.*, 2012, García-Mazcorro *et al.*, 2015, Rakoff-Nahoum *et al.*, 2016).

Factores como la genética, la dieta, la edad y la interacción con el medio ambiente son determinantes en el establecimiento del microbioma; por ello cada individuo tiene su propio microbioma, (Moya, 2017). Desde el nacimiento, se hace una distinción entre el tipo de microorganismos que predomina en el neonato, éstos pueden ser similares a los que se encuentran en el intestino y vagina de la madre o como los que se encuentran en la piel, dependiendo si es nacimiento vaginal o por cesárea, (Moreno del Castillo *et al.*, 2018). Por ejemplo, la microbiota intestinal de los niños que nacen por cesárea tiene mayor proporción de especies como *Bacteroides sp*, *Escherichia-Shigella* y *Clostridium difficile*; en cambio los niños nacidos por parto vaginal, los géneros dominantes son *Bifidobacterium*, *Clostridium* y *Bacteroides*, (Moreno del Castillo *et al.*, 2018). Posteriormente la maduración microbiana se ve influenciada por el tipo de alimentación que reciben los niños, particularmente tras suspender la lactancia materna (Moreno del Castillo *et al.*, 2018). Otros factores que pueden asociarse a variaciones en la microbiota son como el sexo, el índice de masa corporal, el consumo de fibra que se encuentra en frutas y vegetales, así como el nivel de actividad física, (Moreno del Castillo *et al.*, 2018).

Estudios realizados en recién nacidos, revelaron que las bacterias presentes en el tracto digestivo del neonato proceden de la madre. Sin embargo, con el transcurso del tiempo van variando las poblaciones bacterianas, lo que indica que el ser

humano dispone de mecanismos para la modulación de su microbiota, (González *et al.*, 2017). Maynard (2019), menciona que el establecimiento de microorganismos en los recién nacidos, durante la lactancia, tiene consecuencias en la salud de los individuos a lo largo de toda su vida. Recientemente se ha encontrado que *Bifidobacterium* y *Bacteroidetes* spp. tienen un efecto protector contra la obesidad y el establecimiento y desarrollo de estos géneros bacterianos está relacionado con el tipo de alimentación que recibe el neonato, (Ruíz *et al.*, 2010).

Modificaciones en la dieta, el consumo de fármacos, especialmente antibióticos e incluso cambios de temperatura pueden provocar un desequilibrio en la microbiota normal o *disbiosis*, que puede desencadenar enfermedades como la diabetes, obesidad, intestino irritable, depresión, autismo o enfermedades autoinmunes (Moya, 2017). Esta disbiosis, puede ser ocasionada por el desequilibrio entre las distintas especies que conforman la microbiota, y también por un desequilibrio en su relación con el hospedero, (Dickson *et al.*, 2015; Foster *et al.*, 2017). La disbiosis puede establecerse a través de tres formas o procesos:

Primero: “ganancia de la función”, que ocurre cuando hay un crecimiento desbordado de ciertos patógenos adquiridos y ocasiona enfermedades infecciosas como el cólera y la neumonía por estreptococo, ambas pueden derivar en una inflamación crónica

Segundo, disbiosis por “pérdida de la función”, se da cuando bacterias “protectoras” y su función son suprimidas o eliminadas resultando en el establecimiento de enfermedades crónicas como Enfermedad Intestinal Inflamatoria, obesidad, y asma, (Wilkins *et al.*, 2019; Muñoz-Garach *et al.*, 2016);

La tercera se da por la combinación de las dos anteriores: la eliminación de ciertos microorganismos “protectores” y el crecimiento exacerbado de patógenos desencadenando enfermedades como la infección de *Clostridium difficile* recurrente, o exacerbaciones en la fibrosis Quística, (Britton *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2018).

El mantenimiento del balance de las comunidades microbianas tiene un impacto directo en la salud del individuo; incluyendo el aprovechamiento de nutrientes, la maduración del sistema inmune, la inhibición de patógenos, la síntesis de vitaminas (K, B₁₂ y folato), el metabolismo de sales biliares, entre otras, (Moreno del Castillo *et al.*, 2018).

Tipos de microbioma

a) Cutáneo

Como se mencionó anteriormente, el cuerpo humano alberga una abundante cantidad de microorganismos dispersos en diferentes sitios, uno de ellos es la piel.

La piel es un órgano complejo que recubre la superficie corporal, su peso es aproximadamente el 15% del peso total del organismo, posee un grosor de entre 1 y 4 mm. Histológicamente se divide en dos tipos dependiendo grosor:

- a) Piel palmoplantar: es gruesa y recubre pies y manos.
- b) Piel fina: recubre el resto del cuerpo.

En la piel se distinguen tres capas que son: **epidermis** (la más superficial), la **dermis** (subyacente a la epidermis) y la **hipodermis** (es la capa más profunda de la piel), (Romera, 2018; Maynard, 2019). Estas distintas capas dan lugar a diferentes microambientes que influyen en la composición y variabilidad de su microbiota, (Díaz *et al.*, 2020).

La epidermis es una de las capas cutáneas de las que se tiene una mejor comprensión de su microbiota, casi la mayoría (80%) de los microorganismos que encontramos aquí son aerobios y sin esporulación como cocos y cocobacilos. La dermis no se ha caracterizado completamente, sin embargo se sabe que las comunidades microbianas que alberga es la menos compleja y variable de las capas, pues su composición es universal para individuos sanos. Finalmente, en lo más profundo de la dermis y los folículos pilosos encontramos taxones anaerobios y microaerófilos que son menos abundantes pero más diversos y es el reservorio

de patógenos potenciales para individuos susceptibles como *Cutibacterium acnés*, (Claesen *et al.*, 2020; Bay *et al.*, 2020).

Se estima que aproximadamente 1 billón de microbios por cm² se distribuyen a través de todas las capas de la piel, (Prieto *et al.*, 2018; Díaz *et al.*, 2020). Los filos bacterianos que colonizan la piel son diecinueve, aunque la mayoría se representa por cuatro filos principales: *Actinobacteria* (51.8%), *Firmicutes* (24.4%), *Proteobacteria* (16.5%) y *Bacteroidetes* (6.3%); en cuanto a los géneros bacterianos que dominan el microbioma cutáneo de individuos sanos son *Propionibacterium* (*P. acnes*), *Staphylococcus* (*S. epidermidis* y *S. hominis*), y *Corynebacterium* (Prieto *et al.*, 2018; Meisel *et al.*, 2016). La mayoría de estas bacterias se encuentran en la superficie de la epidermis, alrededor de las glándulas sebáceas y sudoríparas (Prieto *et al.*, 2018).

El microbioma cutáneo está implicado en tres funciones principales: mantenimiento de la propia comunidad microbiana (limpieza y descomposición de productos naturales, producción de energía y generación de metabolitos); desarrollo y mantenimiento de la respuesta inmunológica (interacciones con el huésped); y funciones especializadas como la regulación del pH, (Dimitriu *et al.*, 2019; Bay *et al.*, 2020; Díaz *et al.*, 2020). La microbiota cutánea, se adapta y modifica en las diferentes etapas de la vida y se ha visto implicada en procesos tan simples como la cicatrización de heridas hasta patologías complejas como la dermatitis atópica, el acné y la rosácea, (Díaz *et al.*, 2020).

Recientemente el microbioma cutáneo se ha relacionado con la supresión de los genes asociados a virulencia, el metabolismo de lípidos, la tumorigénesis, el envejecimiento, la función nerviosa sensorial y el sistema inmune innato del hospedero, (Dimitriu *et al.*, 2019; Bay *et al.*, 2020; Díaz *et al.*, 2020). Debido a la relación que tiene con el sistema inmune innato, se piensa que las enfermedades infecciosas y las no infecciosas como las enfermedades cardiovascular, diabetes, enfermedad mental, obesidad, síndrome metabólico o intestino irritable pueden estar relacionadas con alteraciones en dicho microbioma; también por la gran

cantidad de anaerobios que habitan en este nicho y responsables de las enfermedades antes mencionadas, (Moya, 2017).

b) Genital

El tracto genital femenino es otro nicho comúnmente ocupado por microorganismos. La vagina es huésped de diversas especies de microorganismos aerobios y anaerobios simultáneamente que varían de acuerdo a la edad y condiciones fisiológicas de la mujer, (Uzcátegui, 2016).

La concentración de bacterias que se presenta en la vagina y en el cérvix está dominada por *Lactobacillus* (*L. crispatus*, *L. jensenii*, y *L.gasseri*), que protegen la mucosa del establecimiento de patógenos y mantienen un ecosistema saludable e impiden el riesgo de infección mediante tres mecanismos: a) la adherencia específica al epitelio, b) la producción de compuestos antimicrobianos y c) la coagregación con los patógenos, lo que potencia su efecto microbicida (Martín *et al.*, 2008; Moya, 2017).

Las alteraciones en la microbiota vaginal pueden tener gran relevancia para la salud pública. Recientemente se ha encontrado que las comunidades microbianas en la vagina están implicadas no solo en infecciones sépticas posparto y neonatal, también se relacionan con la enfermedad inflamatoria pélvica, el aborto espontáneo, el parto prematuro y la adquisición y transmisión del VIH, (Van De Wijgert *et al.*, 2014).

c) Oral

La microbiota oral fue la primera en ser identificada, cuando Anton van Leeuwenhoek en 1863 iniciaba sus observaciones microscópicas de saliva y observó microorganismos en las placas dentales, (Coll *et al.*, 2015).

El oral es uno de los microbiomas mejor caracterizados en la actualidad. Representa el 25% del microbioma humano, e incluye la microbiota de los dientes, el surco gingival, la lengua, las mejillas, el paladar blando y duro, entre otros. Se

estima que alrededor de 19,000 filotipos forman parte de dicho ecosistema (Coll *et al.*, 2015; Moya 2017). Muchas de las bacterias que colonizan estos sitios, se presentan como biopelículas bacterianas más que como entes aislados (Moya 2017).

El complejo entorno de la cavidad bucal y la abundancia de nutrientes permite el establecimiento y desarrollo de numerosos microorganismos, entre los que destacan las bacterias como *Prevotella*, *Veillonella*, *Streptococcus*, *Haemophilus*, *Fusobacterium*, *Neisseria* y *Corynebacterium*, (Huttenhower *et al.*, 2012; Huffnagle *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2019).

El microbioma oral se establece pocos minutos después del nacimiento cuando se establecen comunidades bacterianas que participan en un equilibrio dinámico con el sistema inmunológico del huésped. La disbiosis en este ecosistema deriva en el desarrollo de las enfermedades más comunes que afectan a los humanos como la caries, la enfermedad periodontal e infecciones endodónticas, (Kumar, 2017).

d) Gastrointestinal

Uno de los nichos más estudiado en el área del microbioma humano, es el microbioma gastrointestinal. Es uno de los microbiomas con mayor abundancia bacteriana: 50% de la masa fecal está constituida por bacterias (Uzcátegui, 2016). Contiene 100 billones de microorganismos y se estima que hay más de 1, 000 especies diferentes con más de 3 millones de genes, (Moya, 2017).

El tracto gastrointestinal posee características de temperatura, osmolaridad, oxigenación y suministro de nutrientes que promueven el establecimiento y desarrollo de una abundante cantidad de microorganismos, (González *et al.*, 2017). La mayoría de especies que se encuentran en este nicho son bacterias estrictamente anaerobias, (Urrea *et al.*, 2017).

Las bacterias dominantes en el tracto gastrointestinal pertenecen a los filos: *Bacteroides* (25%), *Firmicutes* (60%) y *Actinobacteria*, (Urrea *et al.*, 2017; Campo-

Moreno *et al.*, 2018). Por la dominancia de microorganismos que presentan se ha clasificado en dos divisiones: *Firmicutes* (Gram-positivos) donde predomina el género *Ruminococcus*, y *Bacteroides* (Gram-negativos) con el género *Bacteroides*; éstas representan el 90% de la flora intestinal, (Ariza-Andraca *et al.*, 2016).

La microbiota gastrointestinal es adquirida rápidamente después del nacimiento, siendo relativamente estable durante la vida adulta y esencial para la homeostasis humana, (Urrea *et al.*, 2017). En estudios realizados, se ha observado que la microbiota intestinal se estabiliza por lo general a los 4 años de edad y permanece relativamente estable hasta la séptima década de la vida, (Ariza-Andraca *et al.*, 2016). Su composición varía a lo largo de sus diferentes secciones, (Moya, 2017). Por ejemplo, el estómago presenta un ambiente ácido (pH 2) y aerobio, con baja diversidad de bacterias, predominan aquellas bacterias que son aerobias y resistentes a la acidez, como *Helicobacter pylori* (Moya, 2017). En el intestino delgado, hay un pH de 4 y poco oxígeno, por lo que encontramos especies anaerobias, principalmente especies del género *Streptococcus* y *Lactobacillus* y conforme nos alejamos más del intestino delgado, la diversidad de organismos comienza a aumentar debido a que las concentraciones de oxígeno van disminuyendo, (Moya, 2017). El intestino grueso tiene un hábitat con baja concentración de oxígeno (casi anaerobio) y un pH neutro, contiene una mayor cantidad de bacterias y mayor diversidad (González *et al.*, 2017). Finalmente, en el íleon terminal y sobretodo en el colon es donde se presenta el mayor contenido bacteriano ya que es ahí donde se produce la mayor concentración de anaerobios (Moya, 2017).

Alrededor de un tercio de la microbiota intestinal es común para la mayoría de la población, aunque hay cambios importantes en poblaciones con hábitos alimenticios diferentes (dieta “urbana” alta en calorías y baja en fibra y dieta “rural” alta en fibra y baja en calorías); además de que existe una proporción de microorganismos específicos de cada persona, (Moya, 2017).

Como se mencionó anteriormente, las bacterias que encontramos en el tracto gastrointestinal cumplen importantes funciones relacionadas con la salud como, estimular el sistema inmune, proteger al huésped ante la invasión de patógenos y mejorar la digestión, en especial de carbohidratos complejos, (Urrea *et al.*, 2017).

Microbioma pulmonar

Hasta hace poco tiempo se consideraba que el tracto respiratorio era un nicho estéril o “libre de bacterias”, sin datos o investigaciones recientes que avalaran esta teoría.

El primer estudio que sugirió esta condición de “esterilidad” fue de Hildebrandt en 1888, en el cual realizó cultivos de la mucosa nasal y traqueal de conejos y observó poco crecimiento bacteriano, concluyendo que el pulmón y las vías respiratorias de humanos sanos eran estériles o libres de bacterias, (Hildebrandt, 1888); esta hipótesis se vio reforzada por protocolos basados en cultivos que buscaban identificar patógenos específicos de importancia clínica y la presencia de otros microorganismos se interpretaba como contaminación de la muestra y no como la presencia de otras especies bacterianas, (O'Dwyer *et al.*, 2016).

Las condiciones extremas de las vías respiratorias: como la escasez de nutrientes, la hidrofobicidad, la salinidad, la temperatura, concentraciones altas de oxígeno, etcétera que pueden parecer desfavorables para el crecimiento de microorganismos se han tomado como evidencia de esterilidad.

Con la implementación de métodos diagnósticos basados en la cuantificación de ADN bacteriano se ha demostrado que el pulmón y en general las vías respiratorias cuentan con un microbioma único y extenso, en el cual las interacciones entre los microorganismos y el huésped son parte fundamental de la salud, y que un desequilibrio (disbiosis) en el microbioma respiratorio puede aumentar la susceptibilidad de padecer diversas enfermedades crónicas como el asma, EPOC, fibrosis quística, entre otras, (Carrasco *et al.*, 2017).

El concepto de microbiota pulmonar en estado de salud es relativamente nuevo, aunque se ha examinado extensivamente la función de la microbiota en la patología de neuropatías crónicas, (Maynard, 2019).

Desde el primer estudio independiente de cultivo de un microbioma pulmonar sano en el año 2010, (Hilty *et al.*, 2010), se han publicado más de 50 estudios demostrando la presencia de bacterias en las vías respiratorias superiores e inferiores y una marcada diferencia en su composición a lo largo del tracto respiratorio. Investigaciones recientes han revelado que la compleja variedad de microorganismos presentes en las vías respiratorias son particularmente abundantes en la capa mucosa y las superficies epiteliales del sistema respiratorio inferior, (Eshetie *et al.*, 2019)

El sistema respiratorio se puede dividir en tracto respiratorio superior (TRS) y tracto respiratorio inferior (TRI), ambos participan del intercambio gaseoso (alcanzando un intercambio de aire de hasta 7000 litros al día) y están en contacto directo con el medio exterior, (Man *et al.*, 2017; Dickson *et al.*, 2016). En los adultos, las vías respiratorias tienen una superficie de 70 m², superficie que supera por 30 o 40 veces la superficie de la piel, (Man *et al.*, 2017; Carrasco *et al.*, 2017) y a lo largo de la cual los gradientes fisiológicos van cambiando dando lugar a micronichos, (Man *et al.*, 2017). A pesar de que las vías respiratorias están anatómicamente interconectadas, contienen una microbiota significativamente distinta en cuanto a su composición, riqueza y abundancia, lo que se debe a la heterogeneidad de las condiciones locales y las variaciones ambientales y regionales del tracto respiratorio, (Man *et al.*, 2017; Dickson *et al.*, 2016).

El tracto respiratorio superior (nariz, cavidad nasal, faringe y laringe), está compuesto por un epitelio cubierto de moco y tiene un flujo constante de saliva, aire, y microbios inhalados. El microbioma del TRS está compuesto predominantemente por los filos *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* y *Fusobacterium*, aunque se observan diferencias en los perfiles bacterianos en las diferentes partes del sistema (Steenhuijsen *et al.*, 2015 en García-Revilla, 2017).

Por otro lado, el microbioma del tracto respiratorio inferior (tráquea, bronquios, bronquiolos y alvéolos), está compuesto predominantemente por el filo *Proteobacteria*, seguido de *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*. El TRI conecta la laringe con los árboles bronquiales y está revestido por un epitelio muy similar al de TRS hasta su llegada a los alvéolos, que están recubiertos por una capa delgada de surfactante (complejo multicomponente de diferentes fosfolípidos, neutro lípidos y proteínas específicas que recubren la superficie alveolar), (Man *et al.*, 2017; Huffnagle *et al.*, 2017).

La microbiota pulmonar adulta está dominada por los filos *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Bacteroidetes*, junto a *Actinobacteria* y *Fusobacterium*, que constituyen el 98% de la microbiota del esputo, (Corral del Bosque, 2015).

A nivel género, el tracto respiratorio inferior (TRI) está compuesto predominantemente por los géneros *Prevotella*, *Veillonella* y *Streptococcus* y en menor proporción *Fusobacterium* y *Haemophilus*, (Man *et al.*, 2017; Huffnagle *et al.*, 2017; Maynard, 2019).

En un individuo sano, la composición de las comunidades microbianas en el pulmón están determinadas por el equilibrio entre la inmigración y eliminación microbiana; mientras que en la enfermedad la tasa relativa de crecimiento de los diferentes componentes del microbioma aunados a la respuesta inmune son los factores determinantes, (Maynard, 2019; Dickson *et al.*, 2015; Dickson *et al.*, 2016).

Las fuentes de inmigración microbiana, incluyen la inhalación, la microaspiración subclínica desde el tracto respiratorio superior y la dispersión directa a lo largo de la mucosa de las vías respiratorias; la eliminación microbiana está impulsada por el aclaramiento mucociliar, la tos y las defensas inmunitarias del huésped; finalmente, la tasa de crecimiento está determinada por las condiciones ambientales locales incluyendo la disponibilidad de nutrientes, la temperatura, la tensión de oxígeno, la competencia o asociación con la microbiota residente, así como la respuesta inflamatoria del huésped, (Eshetie *et al.*, 2019; Maynard, 2019).

La colonización bacteriana en la enfermedad pulmonar avanzada es un fenómeno que se conoce desde hace tiempo y sugiere que el enriquecimiento de especies se debe a que éstas están bien adaptadas a las condiciones ambientales específicas del tracto respiratorio lesionado, lo que les da una ventaja adaptativa y supera la influencia de la inmigración y eliminación bacteriana en el ecosistema respiratorio, (Dickson *et al.*, 2015).

Enfermedades respiratorias y microbioma pulmonar

Las enfermedades respiratorias tanto infecciosas como no-infecciosas, son la cuarta causa de muerte y de disminución en Años de Vida Ajustados por la Discapacidad (AVAD) (GBD, 2019, OMS, 2019). En todas estas enfermedades se ha demostrado una disbiosis característica del microbioma pulmonar.

Durante las enfermedades pulmonares agudas y crónicas se ha corroborado que hay un aumento en las abundancias de la clase *Gammaproteobacteria*, grupo compuesto por grupos taxonómicos potencialmente patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* (se involucrada con enfermedades pulmonares); su desarrollo se relaciona con procesos inflamatorios, pues los grupos pertenecientes a esta clase utilizan subproductos inflamatorios (catecolaminas y citoquinas inflamatorias) para sobrevivir y prosperar, (O'Dwyer *et al.*, 2016; Dickson *et al.*, 2016).

La presencia de enfermedades pulmonares altera tanto la dinámica poblacional de la inmigración y eliminación de microbios, como el terreno del ecosistema respiratorio y las condiciones de crecimiento local. Los cambios anatómicos y fisiológicos (pH, oxígeno disponible, etc.) que se dan en el cuerpo humano definen cada enfermedad pulmonar y se traducen en condiciones ambientales específicas y comunidades microbianas alteradas. El microbioma pulmonar de los individuos sanos difiere de aquellos individuos con enfermedades pulmonares, (Dickson *et al.*, 2016).

Pulmón

El pulmón es un órgano muy vulnerable al exponer una superficie media de 70 m² (en el varón adulto) en contacto con el medio externo, lo que supone una vía potencial de entrada para patógenos, alérgenos y contaminantes vehiculizados por el aire que se inhala día a día, (Picardi, 2014). Es el órgano del aparato respiratorio encargado del intercambio gaseoso. A partir de la tráquea, el árbol bronquial se divide en conductos de cada vez menor tamaño, (bronquios y bronquiolos) hasta dar origen a los sacos alveolares donde se lleva a cabo el proceso respiratorio (oxigenación de la sangre y liberación de dióxido de carbono a través del epitelio alveolar), (Picardi, 2014).

La zona de intercambio gaseoso está formada por:

(a) **Surfactante pulmonar**: es un complejo multicomponente de diferentes fosfolípidos, neutro lípidos y proteínas específicas que recubren la superficie alveolar que se dispone como una fina película sobre la delgada capa acuosa del fluido alveolar. Constituye la primera barrera que debe atravesar el oxígeno para alcanzar el torrente sanguíneo. El surfactante tiene dos funciones principales: disminuir la tensión superficial en la interfase aire-líquido en el pulmón, para mantener abierta la superficie de intercambio gaseoso en el proceso de inspiración/espriación evitando que el pulmón colapse; y se relaciona con la defensa del hospedero por sus propiedades antiinflamatorias y microbicidas (proteínas SP-A y SP-D,) (Picardi, 2014; Jiménez *et al.*, 2009; López- Rodríguez *et al.*, 2014; Hidalgo, 2004).

(b) **Epitelio alveolar**: está formado por dos tipos de células: los *neumocitos tipo I*, y *tipo II*. Los **neumocitos tipo I** son células planas que constituyen el 90-95% de la superficie del alvéolo expresan canales iónicos y aquaporina S y tienen un papel de mantenimiento del fluido alveolar. Los **neumocitos tipo II**, tienen morfología cúbica (típica de célula secretora), tienen una distribución más dispersa y representan sólo el 5-10% de la superficie alveolar. Son las células encargadas de la síntesis y secreción del surfactante pulmonar, (Picardi, 2014; Ventrice *et al.*, 2017).

(c) **Endotelio capilar:** lleva a cabo funciones como la síntesis y liberación de agentes vasoactivos (angiotensina II, prostaciclina, tromboxano A₂, óxido nítrico (NO) y endotelinas) que regulan el tono vascular y vasoconstricción pulmonar hipóxica; también produce enzimas (enzima convertidora de angiotensina (ECA), lipoproteinlipasas y nucleotidasas), receptores, moléculas transductoras de señales intracelulares y moléculas de adhesión celular y segrega factores de crecimiento, citoquinas, especies reactivas al oxígeno (ROS) e interviene la regulación de la coagulación y trombólisis, (Picardi, 2014; Ventrice *et al.*, 2017).

En el tracto respiratorio existen mecanismos de defensa innatos como las células T y las citoquinas que actúan localmente facilitando la eliminación de microorganismos y permitiendo el mantenimiento de la esterilidad de la superficie respiratoria, (Picardi, 2014).

Tuberculosis

La tuberculosis (TB) es la principal causa de muerte por un agente infeccioso, (antes de la pandemia por SARS CoV 2 2020 -), por encima del VIH y se estima que solo en 2018 alrededor de 10 millones de personas contrajeron dicha enfermedad y 1.5M murieron (OMS, 2020). En 1993 la OMS la declaró emergencia global de salud pública. Se estima que un tercio de la población mundial está infectada de forma latente por *Mycobacterium tuberculosis (Mtb)* (OMS, 2019), y tiene entre un 5 y 10% de probabilidad de desarrollar tuberculosis (TB) activa a lo largo de su vida, (Wu *et al.*, 2013; Herrera Díaz, 2020).

La tuberculosis es una enfermedad altamente contagiosa, que se transmite principalmente por vía aérea cuando el enfermo tuberculoso, bacilífero (es decir portador de bacilos), al hablar, estornudar y toser, elimina múltiples gotas, aerosolizadas y cargadas de bacilos, (Corral del Bosque, 2015). El mayor número de contagios se da a través de las personas con lesiones pulmonares cavitarias debido al gran número de bacterias contenidas en la lesión, (Morán López *et al.*, 2001).

La mayoría de los casos de tuberculosis son causados por bacterias del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB), que incluye a *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* y *M. cannetii*, (Chaves *et al.*, 2010); sin embargo *M. tuberculosis* es la que se aísla con mayor frecuencia de las muestras clínicas de pacientes con tuberculosis, (Ramírez *et al.*, 2002).

La infección incluye tanto formas pulmonares como extrapulmonares y diseminadas, siendo la tuberculosis pulmonar la más frecuente (Corral del Bosque, 2015). Aproximadamente el 80% de los casos de TB activa son de afectación pulmonar, es decir, casos de tuberculosis bacteriológicamente confirmados que involucran el parénquima pulmonar o el árbol traqueobronquial, (Chávez, 2018).

La tuberculosis puede manifestarse de forma activa, cuando hay síntomas y es transmisible, o de forma latente, donde no hay sintomatología clínica ni transmisión. En la TB latente, el cuerpo ha contenido el crecimiento y reproducción de la micobacteria, pero no la ha eliminado, por lo cual la bacteria persiste en el organismo, (Barrios-Payán *et al.*, 2010).

Se distinguen dos tipos de TB:

a) Tuberculosis primaria: se da principalmente en la población infantil o adultos jóvenes (personas sin inmunidad específica) y personas inmunodeprimidas (VIH). En estos casos, la tuberculosis se desarrolla inmediatamente o dentro de los primeros cinco años de la infección inicial, generalmente el foco o localización se da en la zona pulmonar intermedia y es frecuente el derrame pleural, (acumulación de líquido pleural entre los pulmones y la pared torácica), (Miranda *et al.*, 2004; Araujo *et al.*, 2008; Chávez, 2018).

b) Tuberculosis secundaria: es la forma más común de enfermedad en los adultos, ocurre debido a una reactivación exógena de una antigua infección latente, generalmente se localiza en los lóbulos superiores del pulmón y la diseminación se da vía canalicular (bronquios y bronquiolos en el pulmón, tumores renales en el riñón, conductos galactóforos en la glándula mamaria, etc).

Por lo regular se observan lesiones caseosas o reblandecidas que forman cavernas por medio de las cuales se puede diseminar el bacilo tuberculoso a través del árbol bronquial (Miranda *et al.*, 2004; Araujo *et al.*, 2008; Chávez, 2018; Morán López *et al.*, 2001).

Dentro de las manifestaciones clínicas sistémicas se incluyen febrículas recurrentes, anorexia, sudoración nocturna y baja de peso persistente, aunadas a síntomas respiratorios como tos, expectoración (mucopurulenta/hemoptoica) o franca hemoptisis en casos avanzados. Las manifestaciones radiológicas son dependientes de factores del huésped, incluyendo la exposición previa, la edad y su estado inmune; y en determinadas ocasiones, es difícil distinguir entre TB primaria o TB secundaria, (Miranda *et al.*, 2004).

La primera interacción que tiene *M. tuberculosis* con el hospedero es con componentes del sistema inmune innato, como macrófagos alveolares y células dendríticas, induciendo así la secreción de citocinas y quimiocinas que promueven la apoptosis. Esta primera interacción inicia la respuesta inflamatoria local, caracterizada por el reclutamiento exagerado de células mieloides al pulmón, (Chávez-Galán *et al.*, 2009).

Tras la infección por inhalación de *M. tuberculosis* se produce una pérdida rápida en la diversidad de la microbiota intestinal, probablemente en respuesta a los cambios inmunológicos del hospedador durante la infección por tuberculosis lo que parece sugerir que los cambios en la microbiota gastrointestinal no se deben a la presencia de *M. tuberculosis* en el intestino, sino a una señalización inmunitaria desde el pulmón al intestino, (Corral del Bosque, 2015).

En estudios recientes se ha revelado que el desarrollo de la tuberculosis puede estar determinado no solo por el agente causal de la enfermedad (*M. tuberculosis*), sino también por la interacción de las comunidades microbianas locales y factores inmunológicos, (Eshetie *et al.*, 2019).

Son pocos los estudios que se han enfocado en estudiar la microbiota pulmonar y su relación en el establecimiento y desarrollo de la TB; sin embargo, se ha observado que la composición de la microbiota pulmonar de individuos sanos difiere de pacientes con TB (Wu *et al.*, 2013; Eshetie *et al.*, 2019).

3. Metodología

Se realizó un análisis bibliográfico que permitiera la caracterización y comprensión del microbioma humano, su relación con el sistema inmune y el desarrollo de algunas patologías; posteriormente la búsqueda se enfocó en el microbioma pulmonar y su relación con la tuberculosis de pulmón.

Para la realización de los dos primeros objetivos se hizo una revisión bibliográfica de artículos utilizando términos como **microbioma**, **microbioma pulmonar** y **tuberculosis**, que incluyeran el microbioma pulmonar de individuos sanos y pacientes con TB, así como las abundancias relativas de las comunidades microbianas establecidas en ambas condiciones (controles sanos y enfermedad). Los artículos seleccionados utilizaron la secuenciación dirigida del gen 16S rRNA y fueron publicados entre 2010 y 2020, es decir tenían un período de antigüedad de máximo 10 años.

Para la descripción de comunidades bacterianas en el pulmón y el análisis de las relaciones intraespecíficas e interespecíficas de dichas comunidades se realizó una búsqueda de información y se seleccionaron los géneros *Haemophilus* spp., *Rothia* spp., *Moraxella* spp., *Veillonella* spp. los cuales tienen distintos comportamientos tras la infección de *M. tuberculosis*.

También se realizó la descripción de *M. tuberculosis*, al ser el agente etiológico de la TB, (Corral del Bosque, 2015). Los artículos elegidos se tuvieron que extender a 20 años ya que la descripción e identificación de algunos géneros es antigua.

4. Resultados

4.1 Revisión bibliográfica

Se hizo la revisión de 40 artículos que abordaban temas de la tuberculosis, el microbioma pulmonar y de la disbiosis del microbioma pulmonar y el desarrollo de la TB. De los 40 artículos, 8 tuvieron información importante, pero no era relevante para la realización de este análisis, por lo cual fueron descartados. Se seleccionaron 34 artículos para la extracción de datos y se descartaron 22 debido a que no proporcionaban la información como abundancias relativas o índices de riqueza microbiana, necesarios para este análisis. Los 12 artículos restantes se basaban en 5 artículos, principalmente. (Figura 1).

Finalmente se seleccionaron 5 artículos, ya que estos tenían los parámetros (abundancias relativas a nivel filo y/o a nivel género) que se buscaban para los objetivos planteados en la presente investigación. Solo dos de los artículos no presentaban los porcentajes de abundancias relativas a nivel género, pero contenían información en cuanto a la abundancia relativa a nivel filo (Tabla 1).

Figura 1. Estrategia de búsqueda de artículos para el análisis del microbioma pulmonar en la TB.

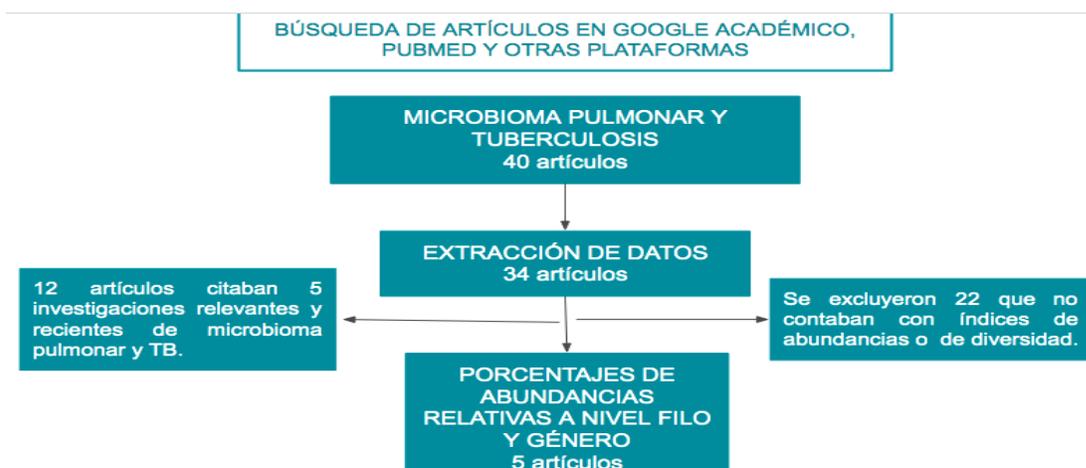


Tabla 1. Artículos seleccionados para el análisis de abundancias relativas.

Título	Autor (es)	Año	DOI
Complex sputum microbial composition in patients with pulmonary tuberculosis.	Zelin Cui, Yohua Zhou, Hong Li, Shulin Zhang, Shenjie Tang y Xiaokui Guo	2012	https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2180-12-276
Sputum microbiota in tuberculosis as revealed by 16s rRNA pyrosequencing.	Man Kit Cheung, Wai Yip Lam, Wendy Yin Wan Fung, Patrick Tik Wan Law, Chun Hang Hau, Wenyan Nong, Kai Man, Hoi Shan Kwan y Stephen Kwork Wing Tsui.	2013	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054574
Sputum microbiota associated with new, recurrent and treatment failure tuberculosis	Jing Wu, Wei Liu, Lei He, Fuli Huang, Jiazhen Chen, Peng Cui, Yaojie Shen, Jing Zhao, Wenjie Wang, Yan Zhaing, Min Zhu, Wenhong Zhang y Ying Zhang.	2013	https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054574
Respiratory tract clinical sample selection for microbiota analysis in patients with pulmonary tuberculosis.	Luz Elena Botero, Luisa Delgado-Serrano, Martha Lucía Cepeda, José Ricardo Bustos, Juan Manuel Anzola y Patricia del Portillo.	2014	https://link.springer.com/article/10.1186/2049-2618-2-29

Título	Autor (es)	Año	DOI
Microbiome diversity in the sputum of patients with pulmonary tuberculosis	P. Krishna, A. Jain y P. S. Bisen.	2016	https://link.springer.com/article/10.1007/s10096-016-2654-4#Tab2

En dos de los artículos seleccionados se encontraron los porcentajes de las abundancias relativas a nivel filo de pacientes con TB y controles sanos, en la tabla 2 se desglosa la información.

Tabla 2. Abundancias relativas a nivel filo en controles sanos y pacientes con TB.

		Artículos			
		Cui et al., 2012		Cheung et al., 2013	
ABUNDANCIAS RELATIVAS	Phyla	Controles	TB	Controles	TB
	Actinobacteria	2.89%	21.20%	ND	ND
	Bacteroidetes	29%	7.64%	17%	19.20%
	Firmicutes	37.02%	41.62%	43.60%	37.60%
	Proteobacteria	16.37%	17.99%	27.10%	31.20%
	Fusobacteria	ND	ND	ND	ND
	Crenarchaeota	3.16%	7.50%	ND	ND

Como se observa en la tabla 2, Cui y *et al.*, (2012) reportaron una abundancia relativa dominante de los filos *Firmicutes* con 37.02%, *Bacteroidetes* con 29.01% y *Proteobacteria* con 16.37%, durante la salud. En los casos con TB, la abundancia relativa de *Firmicutes* aumenta alcanzando abundancias relativas superiores al 41%, al igual que *Proteobacteria* que presenta un aumento en su abundancia relativa con 17.99%; mientras que *Bacteroidetes* disminuye drásticamente llegando a valores por debajo del 8% de abundancia relativa. Estos resultados no son consistentes con lo mencionado por Man *et al.*, (2017), Segal *et al.*, (2013), y Morris *et al.*, (2013), donde señalan que durante la salud los filos dominantes son *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Las diferencias entre lo reportado por Cui *et al.*, (2012), y los autores Man *et al.*, (2017), Segal *et al.*, (2013) y Morris *et al.*, (2013), pueden deberse a contaminación de muestras (Man *et al.*, 2017), la diferencia en las

técnicas utilizadas para el muestreo, o bien a factores genéticos y ambientales que dependen de la población de estudios seleccionada para el análisis, pues como lo menciona Lim *et al.*, (2016) estos factores tienen gran influencia en la microbiota del esputo. Es importante señalar que los estudios de Segal *et al.*, (2013) y Morris *et al.*, (2013) fueron realizados en poblaciones geográficamente diferentes y con características distintas a la población seleccionada para el estudio de Cui *et al.*, (2012), por lo cual la comparación de resultados puede presentar sesgos. Sin embargo, Cheung *et al.*, (2013) realizaron el estudio en una población con características similares a la seleccionada por Cui *et al.*, (2012) (pacientes con TB y controles sanos) y los resultados de ambos estudios muestran diferencias en cuanto a las abundancias relativas, Cheung *et al.*, (2013) reporta que la abundancia relativa de *Firmicutes* disminuye en los casos TB con 37.60% y en el grupo control alcanza un 43.60%; mientras que *Bacteroidetes* aumenta en TB con 19.20% y en controles sanos disminuye a 17%, lo mismo sucede con *Proteobacteria* que presenta un aumento de las abundancias relativas en los casos de TB con un de 31.20% y 27.10% en controles sanos, lo cual es consistente con lo mencionado por Corral del Bosque (2015), respecto a que *Firmicutes* es predominante en controles sanos, mientras que *Bacteroidetes* y *Proteobacteria* aumentan en pacientes con TB. Aunado a lo anterior, Segal *et al.*, (2013) y Morris *et al.*, (2013), reportaron que los filos dominantes durante la salud son *Firmicutes* y *Bacteroidetes*.

Tabla 3. Presencia/ausencia de filos en enfermos con TB y controles sanos.

1=presencia, 0=ausencia.

		Artículos	
		Botero et al., 2014	
PRESENCIA	Phyla	Controles	TB
	Actinobacteria	1	1
	Bacteroidetes	1	1
	Firmicutes	1	1
	Proteobacteria	1	1
	Fusobacteria	1	1
	Crenarchaeota	ND	ND

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos por Botero *et al* (2014), donde reportaron la presencia/ausencia de los filos en casos con TB y controles sanos. De acuerdo a estos autores, tanto en los pacientes con TB como en controles sanos hay presencia dominante de cinco filos: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Fusobacterium*. Estos resultados concuerdan con lo mencionado por Corral de Bosque (2015), en cuanto a la presencia de *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Fusobacterium* en el esputo.

Como se puede observar en todos los estudios el microbioma pulmonar hubo diversas alteraciones ante la infección de *M. tuberculosis* desde nivel filo, lo cual puede estar muy relacionado con las alteraciones en las abundancias relativas de los géneros, como se muestra a continuación.

En la Tabla 4 se desglosan los datos obtenidos en tres de los artículos seleccionados para este análisis con respecto a las abundancias relativas a nivel género.

Tabla 4. Porcentajes de las abundancias relativas a nivel género encontradas en controles sanos y pacientes con TB.

		Artículos					
		Cheung et al., 2013		Wu et al., 2013		Krishna et al., 2016	
ABUNDANCIAS RELATIVAS	Géneros	Controles	TB	Controles	TB	Controles	TB
	<i>Neisseria</i>	22%	28%	ND	24-30%	16.80%	ND
	<i>Moraxella</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>Prevotella</i>	14.40%	16.80%	60%	0-16%	ND	ND
	<i>Haemophilus</i>	ND	ND	ND	ND	15.40%	ND
	<i>Rothia</i>	ND	ND	ND	ND	ND	4.30%
	<i>Veillonella</i>	ND	ND	ND	ND	ND	7.80%
	<i>Streptococcus</i>	22%	27.80%	20%	36-50%	20.50%	27.50%
	<i>Leptotrichia</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	<i>Corynebacter</i>	ND	ND	ND	ND	<1%	ND
	<i>Treponema</i>	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Como se observa en la (Tabla 4), las abundancias relativas a nivel género de *Neisseria* y *Streptococcus* aumentaron en los pacientes con TB, esto de acuerdo al estudio realizado por Cheung *et al.*, (2013), donde la abundancia relativa de *Neisseria* aumento de 22% en controles sanos a 28% en pacientes con TB; lo mismo

ocurre con *Streptococcus* que aumenta de 22% en controles sanos a 27.8% en pacientes con TB y *Prevotella* con un 14.4% en controles sanos aumenta a 16.8% en TB. Esto es consistente con lo mencionado por Corral del Bosque (2015), respecto a que en pacientes con TB, los géneros *Neisseria*, *Streptococcus* y *Prevotella* son más abundantes que en los controles sanos. Lo mismo señala Maynard (2019), de los géneros *Prevotella* y *Streptococcus*. Sin embargo, en el estudio realizado por Wu *et al.*, (2013) se observa que la abundancia relativa del género *Prevotella* disminuyó drásticamente pasando de un 60% en el grupo control a un porcentaje de entre 0 y 16% en casos de TB; y en el caso de *Streptococcus* hubo un aumento de su abundancia relativa en los casos TB obteniendo valores mínimos de 35% y máximos de 50%, en cambio en el grupo control la abundancia relativa no rebasó el 20%, lo cual no es consistente con Corral del Bosque (2015), quien menciona que el género *Streptococcus* se puede encontrar en ambos grupos (TB y controles sanos), pero tiene predominio en los controles sanos.

Por otra parte, Krishna *et al.*, (2016), uno de los estudios más recientes, reportó valores de abundancia relativa de los géneros *Haemophilus* con 15.4% en controles sanos, y *Rothia* con 4.3% y *Veillonella* con 7.8% en pacientes con TB; esto coincide con Eshetie *et al.*, (2019), quien menciona que *Haemophilus* solo se encuentra en controles sanos, mientras que *Veillonella* y *Rothia* solo se presentan en pacientes con TB y son más abundantes que otros géneros. El aumento de las abundancias relativas de *Veillonella* y *Rothia* en los pacientes con TB, podrían estar relacionadas con la activación de la respuesta inmune que de acuerdo con de acuerdo a Gehrig *et al.*, (2014) y a Dickson *et al.*, (2016), las lesiones pulmonares y la inflamación de las vías respiratorias provoca un incremento en la producción de moco y aumento de la temperatura, lo cual favorece el desarrollo de microorganismos anaerobios como es *Veillonella* y en el caso de *Rothia* que es un anaerobio facultativo y también puede crecer con bajas concentraciones de oxígeno.

Finalmente, Cui *et al.*, (2012) reportaron la presencia / ausencia de géneros encontrados en individuos sanos y pacientes con TB, de acuerdo a estos autores algunos géneros son característicos de la TB (Tabla 5).

Tabla 5. Presencia / ausencia de géneros bacterianos en las muestras de pacientes con TB y controles sanos. 2=presencia dominante, 1=presencia y 0= ausencia.

PRESENCIA	Géneros	Artículos	
		Cui et al., 2012	
		Controles	TB
	<i>Neisseria</i>	2	1
	<i>Klebsiella</i>	1	2
	<i>Prevotella</i>	2	2
	<i>Haemophilus</i>	2	1
	<i>Rothia</i>	1	2
	<i>Veillonella</i>	2	2
	<i>Streptococcus</i>	2	2
	<i>Actinobacter</i>	1	2
	<i>Pilibacter</i>	1	2
	<i>Fusobacterium</i>	2	1
	<i>Campylobacter</i>	2	1
	<i>Parvimonas</i>	2	1
	<i>Pseudomonas</i>	0	2
	<i>Brevibacillus</i>	0	2
	<i>Porphyromonas</i>	2	1

Cui *et al.*, (2012) reportaron que géneros como *Pseudomonas* y *Brevibacillus* son característicos de pacientes con TB, pues presentan dominancia en las muestras de los pacientes con este padecimiento y en individuos sanos los valores de 0 indican la ausencia de dichos géneros. Esto difiere con lo reportado por Wu *et al.*, (2013), pues de acuerdo a este autor, los géneros característicos de la TB son *Bergeyella* y *Sharpea*; y respecto a *Pseudomonas* se puede encontrar en pacientes sanos y en casos TB, pero es más abundante en los pacientes con TB.

En el caso de *Veillonella* y *Streptococcus* son igualmente dominantes en pacientes con TB y controles sanos. Esto coincide con lo informado por Wu *et al.*, (2013), respecto a que *Veillonella* y *Streptococcus* presentan mayor abundancia en los casos con TB. Sin embargo, Maynard (2019) menciona que *Veillonella* y *Streptococcus* son predominantes durante la salud y Corral del Bosque (2015) solo señala al género *Streptococcus* se puede encontrar en los controles sanos y en los casos de TB, siendo éste último grupo donde se presenta con mayor abundancia.

Los géneros *Haemophilus*, *Neisseria*, *Fusobacterium*, *Porphyromonas* y *Campylobacter*, son dominantes en las muestras de los controles sanos pero también están presentes en las muestras de enfermos con TB. Esto difiere con lo reportado por Krishna *et al.*, (2016) respecto a la presencia de *Haemophilus* que solo se encontró en los controles sanos. Por otra parte, Corral del Bosque (2015) menciona que *Neisseria* se presenta en controles sanos pero en más abundante en enfermos con TB.

En el caso de *Rothia*, *Klebsiella*, *Acinetobacter* y *Pilibacter* son más dominantes en el grupo TB que en controles sanos. De acuerdo a Dickson *et al.*, (2015), el enriquecimiento de estos géneros puede deberse a que están mejor adaptadas a las condiciones ambientales que proporciona el tracto respiratorio lesionado, dándoles una ventaja adaptativa a ciertos grupos.

Como se observa anteriormente, el microbioma respiratorio presenta alteraciones en controles sanos y pacientes con TB tanto a nivel filo como a nivel género, esto es consistente a lo mencionado por Eshetie *et al.*, (2019), Wu *et al.*, (2013), Dickson *et al.*, (2016) y Hilty *et al.*, (2010) con respecto a que la microbiota pulmonar de individuos sanos difiere de la microbiota pulmonar de individuos con alguna enfermedad pulmonar como el asma o TB. De acuerdo a Gehrig *et al.*, (2014), la diferencia entre estos microbiomas puede deberse a que diversos subproductos de la respuesta inmune como las catecolaminas y las citoquinas inflamatorias pueden ser utilizados por determinadas especies bacterianas y de acuerdo a Dickson *et al.*, (2015), esto aumenta el suministro de nutrientes de las vías respiratorias alterando las condiciones de crecimiento bacteriano. Por otra parte, Herrera-Barrios *et al.*,

(2005) mencionan que citocinas como IL-2, INF- γ , IL-12, IL-18 y TNF- α son producidos para el control de *M. tuberculosis*, lo cual desencadena una respuesta inflamatoria y Dickson *et al.*, (2016) que cualquier inflamación en el tracto respiratorio provocará una serie de respuestas del huésped que van a alterar las condiciones de crecimiento microbiano en las vías respiratorias.

Para este análisis tomamos los géneros *Haemophilus*, *Rothia*, *Veillonella* y *Moraxella* ya que se observó que cada una de estos se comporta de manera diferente ante la colonización de *Mycobacterium tuberculosis*. Por ejemplo, de acuerdo a Cui *et al.*, (2012), el género *Veillonella* mantiene una presencia dominante en controles sanos y en casos con TB, por el contrario *Haemophilus* es uno de los géneros que disminuye su abundancia relativa tras la infección de *M. tuberculosis* y en el caso de *Rothia*, su presencia es dominante en el grupo de TB lo que podría indicar que su abundancia aumenta (Tabla 6).

Tabla 6. Presencia / ausencia de los géneros seleccionados para el presente análisis, de acuerdo a los datos recopilados durante la revisión.

		Artículos			
		Cui et al., 2012		Krishna et al., 2016	
		Controles	TB	Controles	TB
PRESENCIA	Géneros				
	<i>Haemophilus</i>	2	1	2	ND
	<i>Rothia</i>	1	2	ND	1
	<i>Veillonella</i>	1	1	ND	1
	<i>Moraxella</i>	ND	ND	ND	ND

A continuación se hace una descripción de *M. tuberculosis*, agente causal de la tuberculosis, y se detalla la información encontrada sobre los géneros *Haemophilus*, *Rothia*, *Veillonella* y *Moraxella*.

4.2 Descripción de géneros

a) *Mycobacterium tuberculosis*

El género *Mycobacterium* pertenece a la familia *Mycobacteriaceae*, orden Actinomycetales, filo *Actinobacteria*. Son microorganismos delgados, aerobios, no esporulados, no capsulados e inmóviles. Son bacilos ácido-alcohol-resistentes (BAAR), debido a la composición de su pared celular, la cual es rica en lípidos de alto peso molecular (Llop Hernández *et al.*, 2001). Este género incluye bacilos y cocobacilos de 0.2µm a 0.6 µm de ancho y de 1 a 10 µm de longitud, se les considera Grampositivos (Alcocer *et al.*, 1993; Chhotaray *et al.*, 2018).

El tiempo de generación de las micobacterias oscila entre 2 (especies de crecimiento rápido) y 20 horas (especies de crecimiento lento), dependiendo de la especie considerada. La mayoría de especies son saprófitas, se adaptan rápidamente a crecer en sustratos simples, utilizando amoníaco y aminoácidos como fuente de nitrógeno y glicerol, glucosa, citrato, alcanos y olefinas como fuente de carbono (Alcocer *et al.*, 1993).

La distribución de micobacterias en la naturaleza es muy amplia, hasta el momento se han descrito más de 200 especies (Chávez, 2018), las cuales se pueden encontrar en la vegetación, agua y suelos (Alcocer *et al.*, 1993); *Mycobacterium avium*, se ha podido aislar en estos y otros ambientes (Dorrnsoro *et al.*, 2007). Por otra parte, también se encuentran en animales incluyendo al hombre (Alcocer *et al.*, 1993).

Las micobacterias son capaces de sobrevivir durante semanas o meses sobre objetos inanimados, siempre que estén protegidas de la luz solar. Resisten la desecación y la congelación, pero la luz ultravioleta y el calor (>65° C durante 30 minutos) las inactiva (Dorrnsoro *et al.*, 2007). En condiciones desfavorables, el bacilo es capaz de entrar a una fase de latencia, modificando su metabolismo y crecimiento, puede pasar de un crecimiento rápido aerobio a un crecimiento lento microaerófilico, es decir, requieren una mínima cantidad de oxígeno. De esta

manera, la micobacteria puede mantenerse viable y latente en el organismo durante largos períodos, hasta que el estado del sistema inmune del hospedero sea favorable para multiplicarse y producir los síntomas de la enfermedad (Alvarez, 2011) como es el caso de la TB latente.

El hombre es el reservorio de micobacterias patógenas (Llop Hernández *et al.*, 2001). Hasta el momento, dentro de las 200 especies descritas en este género se han identificado 25 especies infecciosas para el ser humano. *Mycobacterium leprae* y *Mycobacterium tuberculosis* son especies estrictamente patógenas, mientras que el resto son colonizadores saprófitos o patógenos oportunistas (Chávez, 2018).

Mycobacterium tuberculosis fue identificado como el agente causal de la tuberculosis, a finales del siglo XIX por Robert Koch, quien consiguió aislarlo de lesiones pulmonares de pacientes y lo nombró como *Bacterium tuberculosis*; posteriormente Lehmann y Neumann en 1896 lo rebautizaron con el nombre que conocemos actualmente “*Mycobacterium tuberculosis*” (Chávez, 2018).

Como mencionamos anteriormente, la gran mayoría de los casos de tuberculosis son causados por el Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (CMTB): *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. microti* y *M. cannetii*. Los miembros de este complejo comparten el 99.95% de identidad a nivel DNA, pero poseen una amplia variabilidad fenotípica en cuanto a huésped blanco, tipo de enfermedad y gravedad de la misma (Chaves *et al.*, 2010). Al igual que el resto de las especies del género *Mycobacterium*, las especies del CMTB son anaerobias, aunque se pueden comportar como microaerófilas, es decir que sus requerimientos de oxígeno son bajos, y también pueden utilizar lípidos como fuente de carbono (Chávez, 2018). Probablemente las especies que constituyen este complejo descienden de un ancestro común (Chávez, 2018). Las especies que forman parte de este complejo son altamente resistentes a condiciones ambientales extremas o desfavorables, ya que pueden resistir pH ácidos e incluso temperaturas muy bajas incluso de congelación (Chávez, 2018). Todas las especies que forman parte de este complejo producen tuberculosis; sin embargo

M. tuberculosis es la que se aísla con mayor frecuencia de las muestras clínicas de pacientes con tuberculosis (Ramírez *et al.*, 2002).

De acuerdo a Fontalvo (2015), la riqueza de peptidoglicano, glicolípidos y polisacáridos que posee en su pared celular, así como los ácidos micólicos, el ácido micoserósido, fenolticerol, lipoarabinomanano y arabinogalactano contribuyen a la longevidad, la respuesta inflamatoria y a la patogénesis de la micobacteria, debido a que estos componentes le confieren protección del medio ambiente, protección y resistencia a antibióticos y activan las reacciones inflamatorias de la respuesta inmune en el huésped, (Ramírez *et al.*, 2002). La envoltura de *M. tuberculosis* posee características estructurales que le proporcionan resistencia a agentes microbicidas, a fármacos y a la destrucción por calor; dicha envoltura está constituida por cápsula, pared celular y membrana plasmática. La cápsula es la capa más externa de la envoltura de las micobacterias, sirve de protección y tiene interacción directa con los elementos de la respuesta inmune, entre sus principales componentes están el ácido micólico y glicolípidos que junto con algunas proteínas son responsables de las características antigénicas de la bacteria, (Gorocica *et al.*, 2005).

Después de la cápsula, separada por el espacio periplasmático se encuentra la pared celular, los principales componentes que posee son peptidoglicanos y ácidos micólicos unidos por enlaces covalentes D-arabino-D-galactán. También tiene gran cantidad de glicolípidos particularmente a-a'-trehalosa dimicolato (TDM) y a-a'-trehalosa monomicolato (TMM), lo que le da un carácter hidrofóbico. El TDM o "factor cuerda" es una molécula mixta localizada en la capa periférica de la envoltura, es muy abundante en todas las micobacterias patógenas y se relaciona con la virulencia de éstas. El factor cuerda está formado por un complejo de tres macromoléculas: peptidoglicano, arabinogalactano y micolatos que por su naturaleza química favorece la inflamación crónica y la formación de granulomas en el pulmón; también se ha relacionado con la inhibición de la fusión de lisosomas con los fagosomas en los macrófagos lo cual es clave para la supervivencia de *M. tuberculosis* en estas células, (Gorocica *et al.*, 2005; Llop

Hernández *et al.*, 2001; Araujo *et al.*, 2008). La pared celular también está constituida por el complejo macromolecular mAGP (ácidos micólicos–arabinogalactano–peptidoglucano), que limita la acción de agentes antimicrobianos, protege a la micobacteria de fluctuaciones ambientales y le permite subsistir en los tejidos por períodos prolongados de tiempo (Gorocica *et al.*, 2005).

Figura 1. Estructura de la pared celular de *M. tuberculosis* (tomado de Gorocica *et al.*, 2005).

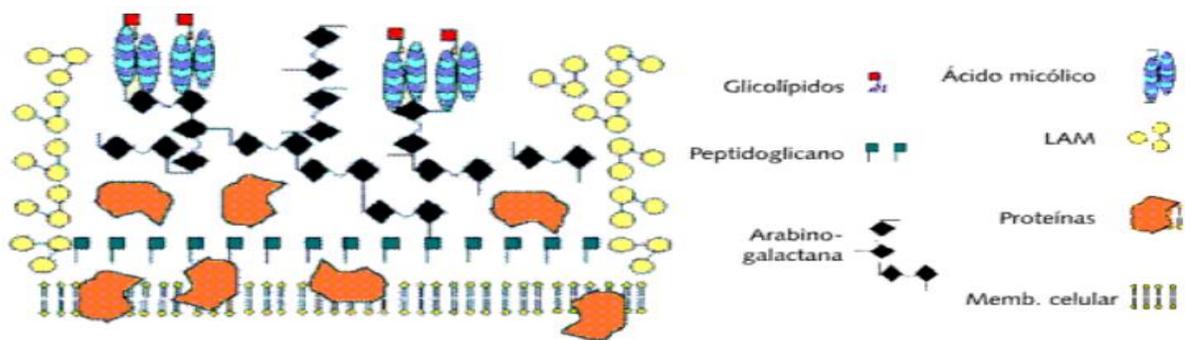


Figura 1. Representación esquemática de la pared celular de *M. tuberculosis*. La bacteria está envuelta dentro de una bicapa lipídica típica de membrana citoplasmática que permanece debajo del peptidoglucano rígido (PG). Cierta número de proteínas se encuentran en asociación con PG y entre la membrana, los PG y algunas de ellas pueden ser inmunogénicas.

Finalmente, la membrana plasmática se caracteriza por los fosfolípidos que presentan alto contenido de glicosilados lo que da lugar a moléculas como lipoarabinomannan (LAM), importantes en la patogénesis de la tuberculosis (Gorocica *et al.*, 2005).

En años recientes, se han identificado proteínas específicas de *M. tuberculosis* entre las que se encuentran L-alanina deshidrogenasa (Ag de 40 kDa), isopropil malato sintasa (Rv3710), nicotinato-nucleótido pirofosfatasa (Rv1596), Mpt64 (Rv180c), Esat-6 y Cfp10, todas ellas se han encontrado solo en *M. tuberculosis* siendo Mpt64 la que se reconoce como una de las proteínas con mayor potencial como antígeno protector además del Ag85B, el Ag de 38 kDa, Esat-6 y Mtb8.4 (Alvarez, 2011). Se ha reportado que los antígenos de *M. tuberculosis* ESAT-6, CPF-10, 27 KDa y 38 Kda están relacionados con la secreción de citocinas Th1

(INF- γ y TNF α) y la producción de ácido nítrico los cuales son importantes para generar la respuesta granulomatosa y la inmunidad mediada por células efectivas contra la infección de *M. tuberculosis* (Araujo *et al.*, 2008; Ramirez *et al.*, 2002).

M. tuberculosis posee también mecanismos de evasión que le permiten permanecer en un estado latente o bacteriostático, incluyendo la persistencia en macrófagos dentro de los granulomas lo que le permite la interrupción de la fusión fagolisosomal debido a la alta concentración de amoníaco que produce el bacilo tuberculoso y sus derivados como la ureasa micobacteriana y la glutamino-sintetasa, ((Araujo *et al.*, 2008). *M. tuberculosis* puede detener la maduración del lisosoma mediante la liberación de derivados sulfatados a partir de la glicoproteína de la pared micobacteriana (trehalosa2-sulfato), (Araujo *et al.*, 2008).

Otra estrategia que evita la fusión fagosoma-lisosoma consiste en una proteína llamada TACO (tryptophane aspartate-containing coat protein, p57 o coronina 1), la cual se encuentra en casi el 90% de los fagosomas que contienen bacilos vivos, la función de dicha proteína es mantener unida la membrana plasmática con el citoplasma celular de manera que se integran las señales extracelulares recibidas con el citoplasma (Chavéz-Galán *et al.*, 2009).

Después de la fagocitosis de *M. tuberculosis* los macrófagos alveolares y las células dendríticas promueven la producción de IL-12 lo que induce una respuesta TH1. Recientemente, se ha reportado la producción de IFN- γ es dependiente de IL-12 en los macrófagos alveolares infectados con micobacterias (Araujo *et al.*, 2008). El elevado número de monocitos que producen IL-12 en enfermos con tuberculosis sugieren que durante el proceso infeccioso existe una migración importante de linfocitos T al sitio de infección donde son activados y expresan IL-12R que interacciona con IL-12, constituyendo una fuente importante de IFN- γ en el sitio de la infección (Herrera-Barrios *et al.*, 2005).

El IFN- γ es clave en el control de la infección por *M. tuberculosis*. Esta citocina

es producida por las células CD4⁺ y CD8⁺ durante la infección tuberculosa y por las células citotóxicas naturales (NK) (Herrera-Barrios *et al.*, 2005).

En los años 90's se inició un proyecto del genoma completo de las cepas del complejo *M. tuberculosis*. El genoma de *M. tuberculosis* H37Rv, considerada como la cepa de referencia, está compuesto por DNA circular de 4.411.532 Mb, tamaño similar al de *E. coli*; se ha estimado la existencia de 4,043 genes que codifican 3,995 proteínas y 50 RNA's estables. Hasta ahora solo la mitad de ORF's (Open Reading Frame por sus siglas en inglés o marco abierto de lectura) tienen una función biológica asignada; también existe un predominio de los nucleótidos G-C de 65.6% y de los aminoácidos alanina, isoleucina, lisina, fenilalanina y tirosina, (Chávez, 2018). La porción de G-C es homogénea a lo largo de todo el genoma y no solo en regiones puntuales, lo que denota que dicho genoma no es impactado por la transferencia horizontal de islas de patogenia (agrupaciones de elementos genéticos de un microorganismo en el que los genes codifican factores de virulencia), (Fontalvo, 2015).

Antes de que se completara la secuencia del *M. tuberculosis* H37Rv, se describieron cuatro elementos de segmentos de inserción "IS" (segmentos de DNA que pueden insertarse en una molécula blanco) en la micobacteria llamadas IS6110, IS1081, IS1547 y el elemento IS-like (Fontalvo, 2015). La mayoría de las secuencias de inserción del *M. tuberculosis* H37Rv, se encuentran en regiones intergénicas o no codificantes, a menudo cerca de las regiones del ARN de transferencia (ARNt). En el genoma de la cepa H37Rv se han encontrado 16 copias de secuencias de inserción IS6110 con 1355 pb, las cuales han sido utilizadas para el estudio de la epidemiología molecular de la tuberculosis y se han hallado seis copias de IS1081, el elemento más estable; aparte de otra familia REP13E12 localizada a lo largo del genoma del *M. tuberculosis*, presente solo en los miembros de este complejo (Fontalvo, 2015; Chávez, 2018).

En diversos estudios se ha reportado que géneros como *Haemophilus spp.*, *Rothia spp.*, *Veillonella spp.* y *Moraxella spp.* sufren modificaciones en cuanto a

la presencia / ausencia y abundancia relativa que presentan antes y después de la infección de *M. tuberculosis*. Esto podría sugerir la competencia o coexistencia de estos géneros con la micobacteria, esto según aumente o disminuya su abundancia relativa.

A continuación, se presentan algunas de las características generales de los géneros bacterianos antes mencionados que se utilizaron para realizar el presente análisis (Tabla 7).

Tabla 7. Características de los géneros seleccionados para este análisis.

Género	Phylum	Gram+/Gram-	Metabolismo
<i>Haemophilus</i>	Proteobacteria	Gramnegativa	Anaerobio facultativo
<i>Rothia</i>	Actinobacteria	Grampositiva	Aerobio/Anaerobio facultativo
<i>Veillonella</i>	Firmicutes	Gramnegativa	Anaerobio
<i>Moraxella</i>	Proteobacteria	Gramnegativa	Aerobio

b) *Haemophilus* spp.

Género perteneciente al filo *Proteobacteria*, familia *Pasteurellaceae*.

Está conformado por cocobacilos Gram-negativos, de tamaño pequeño (1µm), pleomorfos (pueden alterar su morfología, función y reproducción de acuerdo a las condiciones ambientales), inmóviles y anaerobios facultativos (Leidy *et al*, 1960; Peter, 1994 en Tamargo, 2005).

H. influenzae posee DMK (dimetilmenaquinona), única quinona producida por *H. influenzae* que se utiliza para el transporte de electrones, lo cual le permite desarrollarse en condiciones aeróbicas o anaeróbicas. En condiciones aeróbicas utiliza el oxígeno como aceptor final de electrones y en condiciones anaeróbicas

usa la fermentación como medio para la obtención de energía, ocupando el nitrato como aceptor final de electrones. *H. influenzae* posee capacidad de fermentar carbohidratos como la glucosa, sacarosa y xilosa, obteniendo como productos finales los ácidos láctico, succínico y acético lo que produce ureasa y triptofanasa, no produce gas, (Leidy *et al*, 1960; Peter, 1994 en Tamargo, 2005). Son organismos quimioorganotróficos, es decir, reducen los nitratos a nitritos y en la mayoría de los aislamientos hay oxidasa y catalasa positivos, (Organización Panamericana de la Salud, 2004).

H. influenzae se puede desarrollar en las mucosas de humanos, en ambientes húmedos con concentraciones de CO₂ de entre 5% y 10%, con un pH de 7.4 a 7.8 en temperaturas 35 a 37°C, es una bacteria no esporulada y alcanza su máximo crecimiento de las 18 a 24 horas, (Trucco, 2002; Dajani *et al*, 1979; Mendelman *et al.*, 1999 en Tamargo, 2005).

Los miembros de este género forman parte de la microbiota respiratoria superior humana y de otros animales como aves y caninos, (Gatti *et al.* 2004). Para el desarrollo de estas bacterias se requiere del factor de crecimiento X (hemenina) y V (nicotinamida adenina dinucleótido "NAD"), los cuales están presentes en la sangre, por ello su denominación como *Haemophilus* que significa "amigo de la sangre", (Trucco, 2002).

Esta bacteria fue identificada por Robert Koch en 1883 (Gatti *et al.*, 2004), posteriormente Pfeiffer lo aisló del esputo y pulmones de pacientes que habían muerto durante la pandemia de la "Gripe Rusa" en el periodo de 1889-1890 en Europa, (Organización Panamericana de la Salud, 2004; García Ferrero, 2018). Sin embargo, fue hasta 1931 que Margaret Pittman clasificó seis serotipos capsulados (a-f) de *H. influenzae*, al observar las diferencias antigénicas del polisacárido capsular de dicha bacteria, (Gatti *et al.* 2004), (Organización Panamericana de la Salud, 2004). La mayoría de cepas de *H. influenzae* presentes en la microbiota normal del tracto respiratorio no presentan cápsula (son no tipificables), (Llop

Hernández *et al.*, 2001), estos microorganismos pueden causar frecuentes leves infecciones en tracto respiratorio, (Campos, 2003; Whittaker, *et al.*, 2017).

Hasta el momento, se conocen 16 especies de *Haemophilus* (Llop Hernández *et al.*, 2001) dentro de las cuales, las especies *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *H. ducreyi*, *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus*, *H. segnis* y *H. aphrophilus* (Trucco, 2002), relacionadas con enfermedades en humanos.

Para la identificación de miembros del grupo, es necesario que se demuestre la necesidad de los factores de crecimiento X y V; especies como *H. influenzae* y *H. haemolyticus* requieren de ambos factores para su crecimiento, mientras que *H. paraphrophilus*, *H. segnis*, *H. aphrophilus*, *H. aegyptius* y *H. ducreyi* requieren sólo del factor X y *H. parainfluenzae* y *H. parahaemolyticus* solo del factor V (Llop Hernández *et al.*, 2001).

H. influenzae se aísla exclusivamente de humanos, predominantemente en el tracto respiratorio; las cepas de este microorganismo se dividen en dos grupos dependiendo de la presencia o ausencia de una cápsula de polisacárido. Las cepas encapsuladas son reactivas con sueros de tipificación (cepas tipificables), mientras que las no capsuladas no lo son, por ello se denominan no tipificables, (Agrawal *et al.*, 2011; Falla *et al.*, 1994).

Desde el punto de vista clínico *H. influenzae* causa dos clases de infección, una invasora, generalmente aguda, grave, producida por cepas con cápsula polisacárida (tipificables), sobre todo el serotipo b (Hib), y la segunda clase no invasora es generalmente causada por cepas no capsuladas o no tipificables, generalmente son menos graves, aunque más frecuentes (Campos, 2003; Whittaker *et al.*, 2017).

Las cepas tipificables de *H. influenzae* pueden expresar hasta seis antígenos polisacáridos capsulares diferentes (a, b, c, d, e y f) en la superficie capsular, determinando así la clasificación en serotipos (a, b, c, d, e y f). Los antígenos

capsulares se relacionan con un grado mayor de patogenicidad, siendo el serotipo b causante de infecciones invasivas en lactantes y niños (Agrawal *et al.*, 2011), causando enfermedades como meningitis purulenta y severas infecciones del tracto respiratorio inferior, (Llanes *et al.*, 1997), (Organización Panamericana de la Salud, 2004) como septicemia y neumonía, (Whittaker *et al.*, 2017).

La presencia de *H. influenzae* b en la orofaringe puede dar lugar a un estado transitorio de portador asintomático, y en ocasiones, la colonización origina una infección sintomática localizada en mucosas respiratorias altas (otitis media, sinusitis, rinofaringitis), y posteriormente en el tracto respiratorio bajo (neumonía, meningitis, epiglotitis, pericarditis, osteo-artritis, celulitis, entre otras) (Leibovitz *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2004 en Tamargo, 2005; Fernández *et al.*, 2000).

El antígeno capsular tipo b es un fosfato de poliribosa-ribitol (PRP) lo cual difiere de los otros cinco serotipos que tienen como constituyente básico una hexosa, algunas hexosaminas y/o un grupo fosfato complemento lo que hacen posible que *H. influenzae* b permanezca por más tiempo en los epitelios mucosos. Estos componentes capsulares le confieren especificidad inmunitaria y se utilizan para su identificación; además, la cápsula de *Hib* produce una proteasa IgA que inhibe la fijación de IgA humanas y es una de las propiedades antifagocíticas de la cápsula que le confiere mayor protección contra la lisis bacteriana por anticuerpos, (Tamargo, 2005; Ruíz, 2019).

En trabajos recientes se han identificado otros factores de virulencia asociados a cepas tipificables y no tipificables de *H. influenzae*, éstos se han descrito como pili, los cuales se adhieren a la mucosa nasal; también, PRP, PRRP y LOS (lipooligosacárido que forma parte de la membrana interna de *H. influenzae*) son otros de los componentes de la membrana externa necesarios para la virulencia de este microorganismo.

Tamargo (2005), menciona que la edad y la presencia de anticuerpos séricos contra el polisacárido capsular de *H. influenzae* b, influyen en que la colonización orofaríngea derive o no en una enfermedad invasiva. Se ha estimado que la concentración sérica mínima de anticuerpos anti PRP asociados con la protección frente a la enfermedad invasiva causada por *H. influenzae* tipo b, está en el espectro de 0.04 a 1 µg/1mL. En los trabajos publicados en la literatura internacional, el valor de referencia de inmunidad natural que se utiliza es de 0.15 µg / mL, concentración sérica que asegura una rápida eliminación de las bacterias que pudieran traspasar la mucosa faríngea e invadir el torrente sanguíneo (*BOL PEDIATR*, 1998).

Los anticuerpos frente al polirribosil-ribitol fosfato activan la acción bactericida y opsonizante mediada por el complemento *in vitro* e intervienen en la inmunidad protectora contra infecciones sistémicas en humanos (*BOL PEDIATR*, 1998).

Gatti *et al.*, (2004), mencionan que los factores de riesgo para la enfermedad por *H. influenzae* b son: la edad (lactantes y niños menores de 5 años), familia numerosa, hacinamiento, concurrencia a jardín maternal, falta de lactancia natural, virosis respiratoria reciente, exposición a humo y pertenencia a determinada etnia.

A partir de 1989, los países de la Unión Europea y el Espacio Económico Europeo (UE / EEE) comenzaron a introducir la vacuna conjugada contra Hib en sus programas nacionales de inmunización de rutina; la mayoría de los países introdujeron la vacuna antes del año 2000. La introducción de la vacuna Hib condujo a la disminución y prevalencia de cepas tipificables pero aumentó la prevalencia de cepas no tipificables (HiNT), (Whittaker *et al.*, 2017).

En cuanto a, *H. influenzae* no tipificable (NTHi) es un patobionte (microbio endógeno benigno que en condiciones de disbiosis puede provocar diversas patologías) que coloniza e infecta exclusivamente a los humanos y se adaptan a la supervivencia en el tracto respiratorio humano, su nicho ecológico primario (Pettigrew *et al.*, 2018; Sebastián-Domingo *et al.*, 2018); generalmente es un comensal benigno de las vías

aéreas superiores humanas donde colonizan y causan infecciones en las mucosas de niños y adultos (Agrawal *et al.*, 2011). En condiciones de disbiosis, es un patógeno oportunista comúnmente aislado de las vías aéreas inferiores de pacientes con EPOC y puede persistir por meses o años dentro de los pulmones de estos pacientes, lo que contribuye a la inflamación crónica de las vías respiratorias, (Moleres *et al.*, 2018).

La enfermedad por *H. influenzae* no tipificable comienza con la colonización de la mucosa de las vías respiratorias superiores, seguida por la diseminación contigua al oído medio, los senos nasales o los pulmones. Para facilitar la colonización, *H. influenzae* expresa diversas adhesinas, que interactúan con moléculas específicas (si se sabe cuáles poner) en la superficie de las células epiteliales del huésped, (Hendrixson, 1998).

Los aislamientos de NTHi son sumamente diversos tanto fenotípicamente como genóticamente, estos pueden tener hasta 10 mil variaciones en un solo nucleótido. Una secuenciación reciente del genoma completo de un conjunto único de cepas NTHi recolectadas de pacientes con EPOC reveló una variación genética frecuente debido al mal emparejamiento de la cadena, (Moleres *et al.*, 2018) lo que facilita un alto grado de variación antigénica y fenotípica que, a su vez, favorece el escape de la respuesta inmune respiratoria, (Rodríguez, 2018).

La cepa *H. influenzae* Rd KW20, con un total de 1.830.137 Kb (Fleischmann *et al.*, 1995), una cepa no tipificable, fue el primer organismo de vida libre, perteneciente al filo Proteobacterias, que tiene un genoma completamente secuenciado y se ha convertido en organismo modelo para comparaciones entre genomas, (Kolker *et al.*, 2003).

Diversos estudios señalan que *H. influenzae* influye en diferentes componentes de la respuesta inmune de los pacientes con EPOC, lo que tiene implicaciones directas en la composición del microbioma pulmonar, (Wang *et al.* 2011).

c) *Rothia* spp

El género *Rothia* pertenece a la familia *Micrococcaceae*, orden *Actinomycetales*, clase Actinobacteria, (Von Graevenitz, 2004); son cocobacilos Gram-positivos, pleomórficos, aerobios o anaerobios facultativos, inmóviles y no formadores de esporas, (Silva, 2008; Trivedi *et al.*, 2015; Ramanan *et al.*, 2014). Este género incluye, al menos, cuatro especies: *Rothia mucilaginoso* y *Rothia dentocariosa*, las cuales forman parte de la microbiota de la cavidad oro-faríngea y han sido descritas como agentes causales de distintas patologías en humanos; finalmente *Rothia nasimurium* y *Rothia amarae* ambas encontradas en muestras de ratones y de agua de desagües, (Silva, 2008).

Georg y Brown en 1967, propusieron el género *Rothia* tomando la especie *Rothia dentocariosa* como la especie tipo, siendo ésta la única especie reconocida dentro del género, inicialmente; sin embargo, en el 2000, Collins y colaboradores describieron una nueva especie llamada *Rothia nasimurium* y en 2002 Fran y colaboradores propusieron otro miembro, *Rothia amarae* (Hammond, 1970; Kawamura *et al.*, 2004).

Rothia nasimurium es un comensal que forma parte de la microbiota humana. Recientemente se ha informado que este microorganismo tiene resistencia a múltiples fármacos como betalactámicos, aminoglucósidos, macrólidos, sulfonamidas, fluoroquinolonas, rifamicinas, tetraciclinas, lincosamidas y cloranfenicol; sin embargo, no hay informes sistemáticos que caractericen la genética y los mecanismos de resistencia a antibióticos de *Rothia nasimurium*, (Wang *et al.*, 2021).

Rothia dentocariosa, *Rothia mucilaginoso* y *Rothia aerea*, son bacterias que forman parte de la microbiota orofaríngea y del tracto respiratorio superior del hombre. *Rothia* spp. se asocia comúnmente con la caries dental y enfermedad periodontal; algunos de los síndromes clínicos asociados con la infección por los miembros de este género son bacteriemia, endocarditis, meningitis, peritonitis, infecciones óseas

y articulares, neumonía, infección de piel y tejidos blandos, endoftalmitis e infección por dispositivos protésicos e inclusive con infección sistémica, (Ramanan *et al.*, 2014). Morfológicamente, los organismos del género *Rothia* pueden parecerse a las especies *Nocardia* y *Actinomyces* pero se distinguen por los componentes de la pared celular, fisiología y reacciones bioquímicas, (Trivedi *et al.*, 2015).

En un estudio realizado por Tsuzukibashi y colaboradores en 2017, se observó la proporción de especies *Rothia* en muestras de saliva recolectadas de 20 sujetos utilizando ORSM (medio de cultivo desarrollado para el aislamiento exclusivo de especies de *Rothia*), donde *Rothia dentocariosa*, *Rothia mucilaginosa* y *Rothia aeria* representaron el 1.3%, 5.9% y 0.8% del número total de bacterias cultivables presentes en cavidades orales.

Rothia dentocariosa, es una bacteria aerobia o facultativamente anaeróbica, (Shin *et al.*, 2004); presenta una morfología variable, puede ser de forma cocácea, filamentosa y en ocasiones se han encontrado células difteroides o de forma cocobacilar, su tamaño oscila 1.0 y 1.5 μm de diámetro en células cocáceas y en células difteroides, cocobacilares y filamentosas de 1 y 5 μm de longitud y 1 μm de ancho; se reproduce asexualmente por división binaria, es inmóvil y no forma esporas, (Pardi *et al.*, 2003). No es una bacteria pigmentada, ni hemolítica y tampoco es acidorresistente, (Pardi *et al.*, 2003).

Su genoma tiene un contenido de G-C de entre 47 y 53%. Los azúcares de la pared celular son galactosa, fructosa, glucosa y ribosa. *Rothia dentocariosa* es una bacteria fermentativa, los principales productos finales del metabolismo de los carbohidratos son el ácido láctico y acético; crece más rápido en condiciones aeróbicas que en condiciones anaeróbicas, no necesita de CO_2 ni lípidos para desarrollarse, (Von Graevenitz, 2004).

Las infecciones graves que se le atribuyen a *Rothia dentocariosa* son endocarditis, neumonía, endoftalmitis y peritonitis, siendo la endocarditis la más frecuente en adultos; sin embargo, es poco común que este microorganismo cause infecciones significativas en humanos, (Shin *et al.*, 2004).

Rothia mucilaginosa es un coco inmóvil, encapsulado (dispuesto en grupos), no formador de esporas y puede aparecer en pares, tétradas o grupos irregulares; hasta el año 2000, *Rothia mucilaginosa* se conocía anteriormente como *Staphylococcus salivarius*, *Micrococcus mucilaginosus* y *Stomatococcus mucilaginosus*, (Brumunhent *et al.*, 2013). Es un anaerobio facultativo; sin embargo, también puede desarrollarse en ambientes aerobios, enriquecidos con CO₂ y con una temperatura de 35°C, en un tiempo aproximado de 24 horas, (Lim *et al.*, 2013; Silva, 2008); comúnmente se encuentra en la cavidad oral humana y el tracto respiratorio superior, y en ocasiones en el tracto gastrointestinal, el revestimiento epitelial del intestino delgado, los dientes, el calostro, la leche materna y las placas dentales; tiene actividad catalasa variable, reduce nitratos a nitritos e hidroliza la esculina y el contenido de G-C en su ácido desoxirribonucleico varía entre 56 y 60% en moles, (Lim *et al.*, 2013; Bergan *et al.*, 1982).

Rothia aeria se aisló por primera vez de muestras de aire en la estación espacial rusa Mir, su cepa de referencia JMC 11412 tiene una longitud total de 2.588.680 pb y contiene un porcentaje de G+C de 56.8%, (Tsuzukibashi *et al.*, 2017).

En diversos estudios realizados se ha observado que el género *Rothia* presenta un aumento en las abundancias relativas en pacientes con enfermedades pulmonares como bronquiectasias, (Lee *et al.*, 2018) y tuberculosis, (Wu *et al.*, 2013).

d) *Veillonella* spp

Las bacterias pertenecientes a este género son cocos Gram-negativos anaerobios, (Kolenbrander, 2006; Poppleton *et al.*, 2017). Esta bacteria fue descrita por primera vez por Veillon y Zurber en 1898 como *Staphylococcus parvulus*, y desde entonces se han aislado y descrito otras 13 especies de *Veillonella* tanto en humanos como en roedores. En 1933 el nombre de *Staphylococcus parvulus* fue renombrado por Prévot como *Veillonella párvula*, (Kolenbrander, 2006; Poppleton *et al.*, 2017).

Veillonella pertenece a los *Negativicutes*, un clado diverso de bacterias que pertenecen filogenéticamente al filo Firmicutes, son Gram-positivas (monodermo) pero mantienen una membrana externa (MO) con lipopolisacáridos similar a las bacterias Gram-negativas (diderm) clásicas, (Popleton *et al.*, 2017).

El género *Veillonella* es el grupo más abundante, aislado de la saliva humana (Kolenbrander, 2006). Actualmente, el género *Veillonella* se subdivide en 13 especies: *V. atypica*, *V. caviae*, *V. criceti*, *V. denticariosi*, *V. dispar*, *V. magna*, *V. montpellierensis*, *V. parvula*, *V. ratti*, *V. rodentium*, *V. rogosae*, *V. seminalis* y *V. tobetsuensis* (Mashima *et al.*, 2015); de las cuales *Veillonella dispar*, *Veillonella parvula*, *Veillonella atypica*, *Veillonella montpellierensis* y *Veillonella denticariosi* se han aislado frecuentemente de la cavidad bucal del hombre (Briseño *et al.*, 2008). Los hábitats primarios de las *Veillonellas* bucales son la lengua, la placa dental y la mucosa bucal (Hughes *et al.*, 1988).

La distribución de los microorganismos del género *Veillonella* en cavidad bucal se relaciona con la presencia de ácidos grasos (Briseño *et al.*, 2008). Por otra parte, *Veillonella* spp. Posee propiedades de coagregación que pueden afectar la colonización y ecología de otras comunidades microbianas orales, (Mashima *et al.*, 2015).

Los microorganismos pertenecientes a este género metabolizan lactato y succinato, reducen la cisteína, cistina, tiosulfato y dan lugar a la formación de radicales sulfhidrilos (SH₂), (Briseño *et al.*, 2008).

Veillonella parvula, es un comensal formador de biopelículas que se encuentra en los pulmones, la vagina, la boca y el tracto gastrointestinal de los seres humanos, pero puede convertirse en un patógeno oportunista; aunque la presencia de *Veillonella* se ha asociado con el desarrollo de un sistema inmunológico saludable en los bebés y con un efecto protector contra el asma, (Popleton *et al.*, 2017).

Veillonella atypica, es un coco anaerobio que se puede encontrar en los intestinos y la mucosa oral de los mamíferos, es uno de los colonizadores tempranos de en la formación de biopelículas, junto con *Streptococcus* spp. (Mashima *et al.*, 2015).

Recientemente *V. atypica* se asoció al desarrollo de una infección pulmonar de un paciente inmunodeprimido de 65 años, (Crisafulli *et al.*, 2019).

e) *Moraxella* spp.

El género *Moraxella* pertenece al filo Proteobacteria dentro del cual se encuentran cocos Gram-negativos como *M. catarrhalis*, un aerobio obligado, considerado un patógeno importante y común del tracto respiratorio humano, (Wang *et al.*, 2011), anteriormente fue considerado un organismo comensal del tracto respiratorio superior, (Ellie *et al.*, 2009).

Este organismo fue inicialmente nombrado como *Micrococcus catarrhalis*, posteriormente su nombre fue cambiado a *Neisseria catarrhalis*, debido a las similitudes fenotípicas y el nicho ecológico que compartía con especies de *Neisseria*. En 1970, la bacteria fue transferida a un nuevo género, *Branhamella* debido a la limitada homología del ADN con especies de *Neisseria*. *Branhamella catarrhalis* se incluyó posteriormente en el género *Moraxella* sobre la base de su relación bioquímica y genética, y *Moraxella catarrhalis* es ahora el nombre ampliamente aceptado, (Ellie *et al.*, 2009).

La especie *M. catarrhalis* se compone de 2 linajes distintos: Uno que está asociado a virulencia, incluida la resistencia del suero y la adhesión a las células epiteliales (seroresistente) y el otro se asocia con baja virulencia (serosensible), (Ellie *et al.*, 2009; Franco, 2015).

M. catarrhalis es un patógeno oportunista, exclusivo del humano, no encapsulado, aerobio estricto, productor de enzimas oxidasa, catalasa, ADNasa y lipasa, es reductor de nitratos y nitritos pero no fermenta carbohidratos (glucosa, sacarosa, maltosa, lactosa y fructosa), (Franco, 2015).

M. catarrhalis, coloniza la superficie mucosa de la nasofaringe y las vías respiratorias de niños y adultos pero no causa enfermedad, (Franco, 2015). Sin embargo, el uso generalizado de vacunas conjugadas neumocócicas ha alterado los patrones de colonización nasofaríngea y provocado un aumento de la prevalencia de colonización e infección por *M. catarrhalis*, (Ellie *et al.*, 2009).

En recientes estudios se ha encontrado que al igual que *Haemophilus*, el género *Moraxella* influye en componentes de la respuesta inmune en enfermos con EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica) (Wang *et al.*, 2011). También se ha asociado con enfermedades como otitis media, sinusitis, conjuntivitis, bronconeumonía, tos persistente, laringitis, asma, bronquiectasias y cáncer de pulmón, (Ellie *et al.*, 2009).

El aumento y disminución en la abundancia relativa de géneros como *Haemophilus* spp., *Rothia* spp., *Veillonella* spp. y *Moraxella* spp. después de la infección por *M. tuberculosis* (Cui *et al.*, 2012; Krishna *et al.*, 2016), puede deberse a la tos y expectoración que de acuerdo a Miranda *et al.*, (2004), son síntomas comunes que provoca la TB lo cual puede alterar las tasas de eliminación microbiana en el pulmón y conforme a lo que menciona O'Dwyer y colaboradores (2016), y Dickson *et al.*, (2016), son impulsadas por la tos.

Por otra parte, *M. tuberculosis* activa la respuesta inmune, y de acuerdo a Dickson *et al.*, (2015), esto modifica las condiciones ambientales del tracto respiratorio, permitiendo el crecimiento de microorganismos que estén bien adaptados para desarrollarse en estas condiciones como puede ser el caso de *Rothia* spp. que es un organismo aerobio pero puede cambiar su metabolismo convirtiéndose a anaerobio facultativo.

De acuerdo a Dickson *et al.*, (2015), la inflamación de las vías respiratorias propicia ambientes anóxicos, por lo cual especies como *Veillonella* spp. puede desarrollarse abundantemente en las vías respiratorias de los enfermos con TB, ya que es una bacteria anaerobia.

Conclusiones

- El microbioma pulmonar es un concepto muy reciente, sin embargo, muchos de los estudios realizados en torno a este tema han revelado que las comunidades microbianas residentes en el pulmón están íntimamente relacionadas con el sistema inmune y por ende el desbalance de este microbioma puede resultar en el establecimiento y desarrollo de diversas enfermedades como el asma, la TB, el EPOC, la fibrosis quística, entre otros.
- El desarrollo de nuevos estudios enfocados al microbioma son importantes, ya que pueden ser una herramienta para desarrollar nuevas terapias y tratamientos de diversas patologías.
- El uso de las terapias antituberculosas tiene severos efectos en la composición de la microbiota pulmonar y gastrointestinal, esto puede resultar en una mayor susceptibilidad a desarrollar otras enfermedades.
- Géneros específicos como *Haemophilus* y *Moraxella*, tienen efectos en componentes en la respuesta inmune; sin embargo, todos los géneros descritos tienen una relación con el establecimiento y desarrollo de diversos padecimientos.
- El establecimiento y desarrollo de la TB puede estar ligado con alguno o con varios de los géneros antes descritos (*Haemophilus*, *Rothia*, *Veillonella* y *Moraxella*).
- Mediante la activación de la respuesta inmune, *M. tuberculosis* propicia las condiciones ambientales para el crecimiento de algunos géneros como pueden ser *Rothia* y *Veillonella*.
- Los síntomas que provoca la TB pueden modificar las tasas de inmigración y eliminación bacteriana en el pulmón.
- *M. tuberculosis* activa la respuesta inmune, propiciando la producción de componentes como citocinas, óxido nítrico y otros, que pueden ser metabolizados por las bacterias promoviendo el desarrollo de las mismas. Sin embargo, es necesario realizar análisis experimentales que permitan corroborar lo antes mencionado.

6. Literatura citada

Agrawal, A., & Murphy, T. F. (2011). Haemophilus influenzae infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era. *Journal of clinical microbiology*, 49 (11), 3728-3732.

Alcocer, M. S., Guillén, P. V., & Luengo, F. M. (1993). Composición química, biosíntesis, actividad biológica y estructuración de lípidos y polisacáridos de Mycobacterium (Vol. 29). Editorial EDITUM. Universidad de Murcia, España.

Alvarez Cabrera, N. (2011). Inmunoglobulina A secretora humana, como elemento capaz de modificar la infección por Mycobacterium tuberculosis. Tesis, Instituto Finaly. Cuba

Araujo, Z., Acosta, M., Escobar, H., Baños, R., de Larrea, C. F., & Rivas-Santiago, B. (2008). Respuesta inmunitaria en tuberculosis y el papel de los antígenos de secreción de Mycobacterium tuberculosis en la protección, patología y diagnóstico. Revisión. *Investigación Clínica*, 49 (3), 411-441.

Ariza-Andraca, R., & García-Ronquillo, M. (2016). El microbioma humano. Su papel en la salud y en algunas enfermedades. *Cirugía y Cirujanos [revista en internet]*, 84, 31-35.

Barrios-Payán, J. A., Castañón-Arreola, M., Flores-Valdez, M. A., & Hernández-Pando, R. (2010). Aspectos biológicos, clínicos y epidemiológicos de la tuberculosis latente. *Salud Pública de México*, 52 (1), 70-78.

Bay, L., Barnes, C. J., Fritz, B. G., Thorsen, J., Restrup, M. E. M., Rasmussen, L., & Bjarnsholt, T. (2020). Universal dermal microbiome in human skin. *MBio*, 11(1).

Bergan, T., & Kocur, M. (1982). Stomatococcus mucilaginosus gen. nov., sp. nov., ep. rev., a member of the family Micrococcaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 32 (3), 374-377.

Botero, LE, Delgado-Serrano, L., Cepeda, ML, Bustos, JR, Anzola, JM, Del Portillo, P., y Zambrano, MM (2014). Selección de muestras clínicas del tracto respiratorio para análisis de microbiota en pacientes con tuberculosis pulmonar. *Microbioma*, 2 (1), 1-7.

Briceño, E., Pardi, G., & Perrone, M. (2008). Genero Veillonella en cavidad bucal, nuevas especies reportadas. *Acta Odontológica Venezolana*, 46 (3), 401-402.

Britton, R. A. & Young, V. B. (2014). Role of the intestinal microbiota in resistance to colonization by Clostridium difficile. *Gastroenterology* 146, 1547–1553.

Bruminhent, J., Tokarczyk, M. J., Jungkind, D., & DeSimone, J. A. (2013). Rothia mucilaginosus prosthetic device infections: a case of prosthetic valve endocarditis. *Journal of clinical microbiology*, 51 (5), 1629-1632.

Campos, J. (2003). Género Haemophilus: Interés clínico y epidemiológico. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 1-4.

Carrasco, A. M. T., Radax, J. F., Arcos, M., Zamora, S. P. O., Quezada, M. V. P., Verdugo, M. A. M., & Castillo, C. M. S. (2017). Revisión Bibliográfica: El Microbioma Humano. *Revista Médica HJCA*, 9 (3), 275-279.

Chaves, D., Sandoval, A., Rodríguez, L., García, J. C., Restrepo, S., & Zambrano, M. M. (2010). Análisis comparativo de seis genomas del complejo *Mycobacterium tuberculosis*. *Biomédica*, 30 (1), 23-31.

Chávez Arias, T. S. (2018). Identificación molecular de bacterias asociadas a cuadros clínicos de Tuberculosis-Arequipa. Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela Profesional de Biología. Perú.

Chávez-Galán, L., del Carmen Arenas-Del Ángel, M., Sada-Ovalle, I., & Lascurain, R. (2009). Principales mecanismos de evasión de la respuesta inmune por *Mycobacterium tuberculosis*. *Gaceta Médica de México*, 145 (4), 323-330.

Cheung, M. K., Lam, W. Y., Fung, W. Y. W., Law, P. T. W., Au, C. H., Nong, W., & Tsui, S. K. W. (2013). Sputum microbiota in tuberculosis as revealed by 16S rRNA pyrosequencing. *PloS one*, 8 (1), e54574.19.-

Chhotaray, C., Tan, Y., Mugweru, J., Islam, MM, Hameed, HA, Wang, S., & Liu, J. (2018). Avances en el desarrollo de herramientas genéticas moleculares para *Mycobacterium tuberculosis*. *Revista de Genética y Genómica*, 45 (6), 281-297.

Claesen, J., Spagnolo, J. B., Ramos, S. F., Kurita, K. L., Byrd, A. L., Aksenov, A. A., & Lemon, K. P. (2020). A *Cutibacterium acnes* antibiotic modulates human skin microbiota composition in hair follicles. *Science Translational Medicine*, 12 (570)

Coll, H. A. S., Jiménez, M. S., & Castro, N. C. (2015). Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. *CES Odontología*, 28 (2), 112-118.

Corral del Bosque, A. (2015). Nuevos retos en la antibioterapia antituberculosa y la implicación de la microbiota en la aparición de multirresistencias (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE).

Costa, R. L., Moreira, J., Lorenzo, A., & Lamas, C. C. (2018). Infectious complications following probiotic ingestion: a potentially underestimated problem? A systematic review of reports and case series. *BMC complementary and alternative medicine*, 18 (1), 1-8.

Costello, E. K., Stagaman, K., Dethlefsen, L., Bohannan, B. J., & Relman, D. A. (2012). The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. *Science*, 336 (6086), 1255-1262.

Crisafulli, E., Bernardinello, N., Alfieri, V., Pellegrino, F., Lazzari, C., Gnetti, L., & Chetta, A. (2019). A pulmonary infection by *Actinomyces odontolyticus* and *Veillonella atypica* in an immunocompetent patient with dental caries. *Respirology case reports*, 7 (9), e00493.

Cui, Z., Zhou, Y., Li, H., Zhang, Y., Zhang, S., Tang, S. y Guo, X. (2012). Composición microbiana compleja del esputo en pacientes con tuberculosis pulmonar. *Microbiología de BMC*, 12 (1), 1-8.

Del Campo-Moreno, R. Alarcón-Cavero, T., D'Auria, G., Delgado-Palacio, S., & Ferrer- Martínez, M. (2018). Microbiota en la salud humana: técnicas de caracterización y transferencia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 36 (4), 241-245.

Díaz, M. G. U., Uzcátegui, A. M., Sáenz, A. M., & Solano, M. (2020). Microbiota, microbioma y su manipulación en enfermedades de la piel. *Dermatología Venezolana*, 58 (2).

Dickson, R. P., Erb-Downward, J. R., Martinez, F. J., & Huffnagle, G. B. (2016). The microbiome and the respiratory tract. *Annual review of physiology*, 78, 481-504.

Dickson RP, Huffnagle GB (2015) The Lung Microbiome: New Principles for Respiratory Bacteriology in Health and Disease. *PLoS Pathog* 11 (7): e1004923.

Dimitriu, P. A., Iker, B., Malik, K., Leung, H., Mohn, W. W., & Hillebrand, G. G. (2019). New insights into the intrinsic and extrinsic factors that shape the human skin microbiome. *MBio*, 10 (4).

Dorronsoró, I., & Torroba, L. (2007). Microbiología de la tuberculosis. In *Anales del sistema sanitario de Navarra* (30) 67-85. Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.

Ellie JC Goldstein, Timothy F. Murphy, G. Iyer Parameswaran (2009). *Moraxella catarrhalis*, a Human Respiratory Tract Pathogen, *Clinical Infectious Diseases*. 49 (1) 124-131.

Eshetie, S., & Van Soolingen, D. (2019). The respiratory microbiota: new insights into pulmonary tuberculosis. *BMC infectious diseases*, 19 (1), 92.

Falla, T. J., Crook, D. W., Brophy, L. N., Maskell, D., Kroll, J. S., & Moxon, E. R. (1994). PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*. *Journal of Clinical Microbiology*, 32 (10), 2382-2386.

Fernandez, J., Levine, O. S., Sanchez, J., Baiter, S., LaClaire, L., Feris, J., & Romero-Steiner, S. (2000). Prevention of *Haemophilus influenzae* type b colonization by vaccination: correlation with serum anti-capsular IgG concentration. *The Journal of Infectious Diseases*, 182 (5), 1553-1556.

Fleischmann, R. D., Adams, M. D., White, O., Clayton, R. A., Kirkness, E. F., Kerlavage, A. R., & Merrick, J. M. (1995). Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science*, 269 (5223), 496-512.

Fontalvo D., Gómez D. (2015) Genes del *Mycobacterium tuberculosis* involucrados en la patogenidad y resistencia a antibióticos durante la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar. *MÉD.UIS*. 28 (1):39-51.

Foster, K.R., Schluter, J., Coyte, K.Z., and Rakoff-Nahoum, S. 2017. The evolution of the host microbiome as an ecosystem on a leash. *Nature* 548:45-51.

Franco Martínez, M. N. (2015). Identificación de los linajes seroresistente y serosensible de *Moraxella catarrhalis* en aislados clínicos de la población mexicana. Tesis, FES Cuautitlán, UNAM.

García Ferrero, S. (2018). *La gripe de 1889-1890 en Madrid* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).

García-Mazcorro, J. F., Garza-Gonzalez, E., Marroquin-Cardona, A. G., & Tamayo, J. L. (2015). Characterization, influence and manipulation of the gastrointestinal microbiota in health and disease. *Gastroenterología y hepatología*, 38 (7), 445-466.

García Revilla, V. J. (2017). La microbiota en el control de la colonización nasal por *Staphylococcus Aureus*.

Gatti, B. M., Ramírez Gronda, G. A., Etchevarría, M., Vescina, C. M., Varea, A. M., & González Ayala, S. E. (2004). Aislamiento de distintos serotipos de *Haemophilus influenzae* en muestras profundas de pacientes pediátricos. *Revista Argentina de Microbiología*, 36 (1), 20-23.

Gehrig, S., Duerr, J., Weitnauer, M., Wagner, C. J., Graeber, S. Y., Schatterny, J., & Mall, M. A. (2014). Lack of neutrophil elastase reduces inflammation, mucus hypersecretion, and emphysema, but not mucus obstruction, in mice with cystic fibrosis-like lung disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 189(9), 1082-1092.

GBD (Global Burden of Disease), 2019.

González Cervantes, R. M., & Ruiseco Sánchez, G. (2017). La microbiota del humano. *Revista Ciencia*, 68 (2), 60-66.

Gorocica, P., Jiménez-Martínez, M. D. C., Garfias, Y., Sada, I., & Lascurain, R. (2005). Componentes glicosilados de la envoltura de *Mycobacterium tuberculosis* que intervienen en la patogénesis de la tuberculosis. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 18 (2), 142-153.

Hammond BF. Isolation and serological characterization of a cell wall antigen of *Rothia dentocariosa*. *J Bacteriol.* 1970; 103 (3):634-640.

Hendrixson DR, St Geme JW 3rd. The *Haemophilus influenzae* Hap serine protease promotes adherence and microcolony formation, potentiated by a soluble host protein. *Mol Cell.* 1998;2(6):841-850. doi:10.1016/s1097-2765(00)80298-1

Herrera Barrios, M. T., Torres Rojas, M., Juárez Carvajal, E., & Sada Díaz, E. (2005). Mecanismos moleculares de la respuesta inmune en la tuberculosis pulmonar humana. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*, 18 (4), 327-336.

Herrera Díaz, M. (2020). Perfil de citoquinas plasmáticas y expresión de genes pro-inflamatorios asociados con tuberculosis latente temprana en personas privadas de la libertad. Medellín, 2016-2018.

Hidalgo, O. B. (2004). Propiedades antiinflamatorias del surfactante pulmonar y su aplicación en la clínica. *Biotecnología aplicada*, 21 (2), 70-76.

Hildebrant G. (1888). Experimentelle Untersuchungen über das Eindringen pathogener Mikroorganismen von den Luftwegen und der Lunge aus. *Beir. Patbol. Anat. Physiol.* 3: 411-50

Hilty M, Burke C, Pedro H, Cardenas P, Bush A, Bossley C, et al. (2010) Comunidades microbianas desordenadas en las vías respiratorias asmáticas. *PLoS ONE* 5 (1): e8578. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008578>

Huffnagle, G. B., Dickson, R. P., & Lukacs, N. W. (2017). The respiratory tract microbiome and lung inflammation: a two-way street. *Mucosal immunology*, 10 (2), 299-306.

Hughes, C. V., Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., & Moore, L. V. (1988). Coaggregation properties of human oral Veillonella spp. relationship to colonization site and oral ecology. *Applied and Environmental Microbiology*, 54 (8), 1957-1963.

Huttenhower, C., Gevers, D., Knight, R., Abubucker, S., Badger, J. H., Chinwalla, A. T., & McCarrison, J. M. (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486 (7402), 207.

INMUNITARIA, R. (1998). Respuesta inmunitaria y estrategia de inmunización frente a Haemophilus influenzae serotipo b. *BOL PEDIATR*, 38, 112-120.

Jiménez, J. R. J., & Reyes, K. C. (2009). Desarrollo científico del surfactante pulmonar. *Revista Mexicana de Pediatría*, 76 (6), 265-270.

Kolenbrander, P. A. U. L. (2006). The genus Veillonella. *The prokaryotes*, 4, 1022-1040. Disponible en:

https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/63153018/Dworkin_The_Prokaryotes-A_Handbook_on_the_Biology_of_Bacteria_3rd_ed_Vol_420200430-56168-38z2iv.pdf?1588286422=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DThe_Prokaryotes_Third_Edition.pdf&Expires=1613221421&Signature=Elb3yipNQapyUQ32qvhzsQokBi~MzACDNqJlF0lje9PfnT5icXq3eyrmFwBMUAl0FVj21fBnnBzGxjBHLFy~SqcvPLINOgPB1RDtJjhGBYIvkh-7ZnbLpBoLppj1k1JjiBSU66hps7GtsOY0fMkFd68KSWgOIJukrrvEnBU5WAbV~815q7qJqx0fyCMfHfOo1B1Vf2JuAgQxVJsktq1Vgsgn~TIPj-14VkNnYufS-NmzvNWJCnMLNTiDxdDzNgd2dvrNRul~UqjKGm4ZFndj0VWedu~cvc-sTcTKdZKOTJzAmK606rv30Z0iLCEaphSONCaYx8JUDBbMqO7wf4vZQ &Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA#page=1067

Kolker E, Purvine S, Galperin MY, et al. Initial proteome analysis of model microorganism Haemophilus influenzae strain Rd KW20. *J Bacteriol.* 2003; 185(15):4593-4602. doi:10.1128/jb.185.15.4593-4602.2003.

Krishna P, Jain A, Bisen P. Diversidad del microbioma en el esputo de pacientes con tuberculosis pulmonar. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016; 35 (7): 1205–10.

Kumar, PS (2017). De la sepsis focal a la medicina periodontal: un siglo de exploración del papel del microbioma oral en la enfermedad sistémica. *Revista de Fisiología*, 595 (2), 465-476.

Lee, S. H., Lee, Y., Park, J. S., Cho, Y. J., Yoon, H. I., Lee, C. T., & Lee, J. H. (2018). Characterization of microbiota in bronchiectasis patients with different disease severities. *Journal of clinical medicine*, 7 (11), 429.

Li, Y., Kawamura, Y., Fujiwara, N., Naka, T., Liu, H., Huang, X., & Ezaki, T. (2004). *Rothia aeria* sp. nov., *Rhodococcus baikonurensis* sp. nov. and *Arthrobacter russicus* sp. nov., isolated from air in the Russian space laboratory Mir. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 54 (3), 827-835.

Lim, Y. W., Schmieder, R., Haynes, M., Furlan, M., Matthews, T. D., Whiteson, K., & Edwards, R. (2013). Mechanistic model of *Rothia mucilaginosa* adaptation toward persistence in the CF lung, based on a genome reconstructed from metagenomic data. *PloS one*, 8 (5), e64285.

Lim, M. Y., Yoon, H. S., Rho, M., Sung, J., Song, Y. M., Lee, K., & Ko, G. (2016). Analysis of the association between host genetics, smoking, and sputum microbiota in healthy humans. *Scientific reports*, 6 (1), 1-9.

Llop Hernández, A., Valdés-Dapena Vivanco, M. M., & Zuazo Silva, J. L. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas. Tomo I*. Editorial Ciencias Médicas.

Lopez-Rodriguez, E., & Pérez-Gil, J. (2014). Structure-function relationships in pulmonary surfactant membranes: from biophysics to therapy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1838 (6), 1568-1585.

Lu, M., Xuan, S., & Wang, Z. (2019). Oral microbiota: A new view of body health. *Food S*.

Man, W. H., de Steenhuijsen Piters, W. A., & Bogaert, D. (2017). The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nature Reviews Microbiology*, 15 (5), 259-270.

Martín, R., Soberón, N., Vázquez, F., & Suárez, J. E. (2008). La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 26 (3), 160-167.

Mashima, I. y Nakazawa, F. (2015). La interacción entre *Streptococcus* spp. y *Veillonella tobetsuensis* en las primeras etapas de la formación de biopelículas orales. *J. Bacteriol.* 197, 2104–2111. doi: 10.1128 / jb.02512-14.

Maynard, C. L. (2019). La microbiota en la inmunidad y la inflamación. *Inmunología Clínica: Principios y Práctica*, 23, 207. Disponible en: [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=McrSDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA207&dq=Maynard,+C.+L.+\(2019\).+La+microbiota+en+la+inmunidad+y+la+inflamaci%C3%B3n.+Inmunolog%C3%ADa+Cl%C3%ADnica:+Principios+y+Pr%C3%A1ctica,+23,+207.&ots=jLe4Bj3fal&sig=iE898TRPFCQT75nzRhRzqsnPIVk#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=McrSDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA207&dq=Maynard,+C.+L.+(2019).+La+microbiota+en+la+inmunidad+y+la+inflamaci%C3%B3n.+Inmunolog%C3%ADa+Cl%C3%ADnica:+Principios+y+Pr%C3%A1ctica,+23,+207.&ots=jLe4Bj3fal&sig=iE898TRPFCQT75nzRhRzqsnPIVk#v=onepage&q&f=false)

- Meisel, J. S., Hannigan, G. D., Tyldsley, A. S., SanMiguel, A. J., Hodkinson, B. P., Zheng, Q., & Grice, E. A. (2016). Skin microbiome surveys are strongly influenced by experimental design. *Journal of Investigative Dermatology*, 136 (5), 947-956.
- Miranda, G., Díaz, J. C., Arancibia, P., Antolini, M., Díaz, C., y Vidal, A. (2004). Manifestaciones radiográficas de la tuberculosis pulmonar. *Revista Chilena de radiología*, 10 (4), 178-182.
- Morán-López, E., & Lozano Amador, Y., (2001). Tuberculosis. *Revista Cubana de Estomatología* 38 (1).
- Moleres J, Fernández-Calvet A, Ehrlich RL, et al. Antagonistic Pleiotropy in the Bifunctional Surface Protein FadL (OmpP1) during Adaptation of Haemophilus influenzae to Chronic Lung Infection Associated with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *mBio*. 2018;9(5): e01176-18. Published 2018 Sep 25. doi:10.1128/mBio.01176-18
- Moreno del Castillo, M. C., Valladares-García, J., y Halabe-Cherem, J. (2018). Microbioma humano. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 61 (6), 7-19.
- Morris, A., Beck, J. M., Schloss, P. D., Campbell, T. B., Crothers, K., Curtis, J. L., & Weinstock, G. M. (2013). Comparison of the respiratory microbiome in healthy nonsmokers and smokers. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 187 (10), 1067-1075.
- Moya, A. S. (2017). Microbioma y secuenciación masiva. *Rev Esp Quimioter*, 30 (5), 305-311.
- Muñoz-Garach, A., Cornejo-Pareja, I., & Tinahones, F. J. (2016). Does metabolically healthy obesity exist? *Nutrients*. 8 (6), 320.
- O'Dwyer, D. N., Dickson, R. P., & Moore, B. B. (2016). The lung microbiome, immunity, and the pathogenesis of chronic lung disease. *Journal of Immunology*, 196 (12), 4839-4847.
- OMS (2019; 2020). Organización Mundial de la Salud.
- Organización Panamericana de la Salud. (2004). Programa de Vigilancia de Serotipos y Resistencia Antimicrobiana de Streptococcus pneumoniae y Haemophilus influenzae.
- Pardi, G., Perrone, M., Acevedo, A. M., & Iija, R. M. (2003). Estudios sobre Rothia Dentocariosa en pacientes con caries dental. *Acta Odontológica Venezolana*, 41 (3), 195-204.
- Pettigrew MM, Ahearn CP, Gent JF. (2018). Haemophilus influenzae genome evolution during persistence in the human airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 115 (14):E3256-E3265. doi:10.1073/pnas.1719654115

- Picardi, M. V. (2014). Relaciones estructura-función en el surfactante pulmonar: efecto de la temperatura y mecanismos de compensación fisiológica (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Poppleton, D. I., Duchateau, M., Hourdel, V., Matondo, M., Flechsler, J., Klingl, A., & Gribaldo, S. (2017). Outer membrane proteome of *Veillonella parvula*: a diderm firmicute of the human microbiome. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1215.
- Prieto, J. R., Arantón-Areosa, L., & Rey, J. S. C. (2018). Mapa microbiano de la piel humana: conociendo a nuestros huéspedes. *Enfermería Dermatológica*, 12 (34), 18-22.
- Rakoff-Nahoum, S., Foster, K. R., & Comstock, L. E. (2016). The evolution of cooperation within the gut microbiota. *Nature*, 533 (7602), 255-259.
- Ramanan, P., Barreto, JN, Osmon, DR y Tosh, PK (2014). Bacteremia de *Rothia*: una experiencia de 10 años en Mayo Clinic, Rochester, Minnesota. *Revista de Microbiología Clínica*, 52 (9), 3184-3189.
- Ramírez RNA, Cocotle RBE, Méndez PA, et al., (2002). *Mycobacterium tuberculosis*: Su pared celular y la utilidad diagnóstica de las proteínas 16 y 38 kDa. *Rev Med UV. 2* (2):39-43.
- Romera, A. V. (2018). Caracterización histológica, histoquímica e inmunohistoquímica de la piel palmoplantar humana (Doctoral dissertation, Universidad de Granada).
- Ruiz Álvarez, V., Puig Peña, Y., & Rodríguez Acosta, M. (2010). Microbiota intestinal, sistema inmune y obesidad. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 29 (3), 364-397.
- Ruiz Mori, F. (2019). Registro nacional de bronquiectasias: estudio clínico-epidemiológico de pacientes afectados de bronquiectasias en España.
- Sebastián-Domingo, J. J., & Sánchez-Sánchez, C. (2018). De la flora intestinal al microbioma. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 110 (1), 51-56.
- Schluter, J., & Foster, K. R. (2012). The evolution of mutualism in gut microbiota via host epithelial selection. *PLoS Biol*, 10 (11), e1001424.
- Segal, L. N., Alekseyenko, A. V., Clemente, J. C., Kulkarni, R., Wu, B., Chen, H., & Weiden, M. D. (2013). Enrichment of lung microbiome with supraglottic taxa is associated with increased pulmonary inflammation. *Microbiome*, 1 (1), 1-12.
- Shin, J. H., Shim, J. D., Kim, H. R., Sinn, J. B., Kook, J. K., & Lee, J. N. (2004). *Rothia dentocariosa* septicemia without endocarditis in a neonatal infant with meconium aspiration syndrome. *Journal of clinical microbiology*, 42 (10), 4891-4892.
- Silva, F. (2008). *Rothia mucilaginosa*. *Revista chilena de infectología*, 25 (1), 29-29.

- Steenhuijsen Piters, W. A., Sanders, E. A., & Bogaert, D. (2015). The role of the local microbial ecosystem in respiratory health and disease. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370 (1675), 20140294.
- Tamargo Martínez, I. (2005). Caracterización de aislamientos de Haemophilus influenzae en Cuba. Tesis, Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, Cuba.
- Trivedi, MN y Malhotra, P. (2015). Infección de la articulación de la rodilla protésica de Rothia. *Revista de Microbiología, Inmunología e Infección*, 48 (4), 453-455.
- Trucco, A. (2002). Estudio de susceptibilidad in vitro en Haemophilus influenzae. *Revista chilena de infectología*, 19, 125-128.
- Tsuzukibashi, O., Uchibori, S., Kobayashi, T., Umezawa, K., Mashimo, C., Nambu, T., y Ochiai, T. (2017). Isolation and identification methods of Rothia species in oral cavities. *Journal of Microbiological Methods*. 134, 21-26.
- Urrea, D., Zambrano, K., Vargas, A., Moreno, S., & Sierra, J. V. (2017). La interacción del microbioma humano y su sistema gastrointestinal. *Biociencias*, 1 (2).
- Uzcátegui, O. (2016). Microbioma humano. *Revista de Obstetricia y Ginecología de Venezuela*, 76 (1).
- Van De Wijgert, J. H., Borgdorff, H., Verhelst, R., Crucitti, T., Francis, S., Verstraelen, H., & Jaspers, V. (2014). The vaginal microbiota: what have we learned after a decade of molecular characterization? *PloS one*, 9 (8), e105998.
- Ventrice, E. A., Martí-Sistac, O., Gonzalvo, R., Villagrà, A., López-Aguilar, J., & Blanch, L. (2007). Mecanismos biofísicos, celulares y modulación de la lesión pulmonar inducida por la ventilación mecánica. *Medicina intensiva*, 31 (2), 73-82.
- Villarreal, J. L. (2013). El estudio de nuestro microcosmos: las comunidades microbianas asociadas al cuerpo humano. *Boletín Micológico*, 28 (2).
- Von Graevenitz, A. (2004). Rothia dentocariosa: taxonomy and differential diagnosis. *Clinical microbiology and infection*, 10 (5), 399-402.
- Wang, M., Li, Y., Lin, X., Xu, H., Li, Y., Xue, R., & Chen, J. (2021). Genetic characterization, mechanisms and dissemination risk of antibiotic resistance of multidrug-resistant Rothia nasimurium. *Infection, Genetics and Evolution*, 104770.
- Whipps JM, Lewis K, Cooke RC. Mycoparasitism and plant disease control 161–187. In: Burge, NM (editor), Fungi in Biological Control Systems. Manchester University Press; 1988. P. 176.
- Whittaker, R., Economopoulou, A., Dias, J. G., Bancroft, E., Ramliden, M., & Celentano, L. P. (2017). Epidemiology of invasive Haemophilus influenzae disease, Europe, 2007–2014. *Emerging infectious diseases*, 23 (3), 396.
- Wilkins, L. J., Monga, M. & Miller, A. W. (2019). Defining Dysbiosis for a Cluster of Chronic Diseases. *Sci Rep* 9, 12918. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49452-y>

Wu J, Liu W, He L, Huang F, Chen J, Cui P, et al. (2013) Microbiota del esputo asociada con tuberculosis nueva, recurrente y con fracaso del tratamiento. PLoS ONE 8 (12): e83445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0083445>