



**FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO DE FIN DE GRADO

**LA MICROBIOTA EN EL CONTROL DE LA COLONIZACIÓN
NASAL POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

**MICROBIOTA IN THE CONTROL OF NASAL COLONIZATION BY
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Autor: D. Víctor Jesús García Revilla

Director: Dña. Asunción Seoane Seoane

Santander, Junio 2017

Índice

RESUMEN/ABSTRACT	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. STAPHYLOCOCCUS AUREUS: FACTORES DE VIRULENCIA	2
2.1. Locus <i>agr</i> de <i>S. aureus</i>	3
2.2. Factores de virulencia implicados en la colonización nasal	4
3. LA MICROBIOTA NASAL	6
4. MICROBIOTA EN LA LACTANCIA, INFANCIA, PUBERTAD Y ADULTO	9
4.1. Influencia de las características genéticas del hospedador sobre la microbiota nasal	12
5. INTERACCIÓN DE LOS AGENTES PATÓGENOS CON S. AUREUS	12
5.1. Papel de <i>Corynebacterium</i> spp. en relación con <i>S. aureus</i>	14
5.2. Función de <i>Propionibacterium</i> spp. en el control de <i>S. aureus</i>	16
5.3. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	17
5.4. <i>Staphylococcus lugdunensis</i> . Lugdunina	20
5.5. Otras interacciones	22
6. LA INMUNORREGULACIÓN DURANTE LA COLONIZACIÓN POR S. AUREUS	25
7. LA MICROBIOTA NASAL EN LA SALUD Y LA ENFERMEDAD	28
8. PAPEL DE LOS SAMR EN LA COLONIZACIÓN NASAL	32
9. FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	36
BIBLIOGRAFÍA	39

RESUMEN

La microbiota nasal, estable en su composición desde la pubertad hasta los 65 años, se organiza en nichos ecológicos que interactúan con el huésped y los agentes patógenos, como *Staphylococcus aureus*. Estos nichos no están fijados por la genética del huésped, sino por las interacciones existentes entre las diferentes especies que coexisten en la cavidad nasal. En lo que respecta al *S. aureus*, cuyo principal hábitat es el vestíbulo posterior de las fosas nasales, puede ser modificada su virulencia por bacterias propias de la cavidad nasal, como *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., o directamente verse inhibido su crecimiento por proteasas o antibióticos, que son secretados por *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus lugdunensis*, respectivamente. Por otro lado, la presencia de una enfermedad crónica va a favorecer los estados de colonización al producirse un desequilibrio en la composición de la microbiota a lo que se suma la posibilidad existente por algunas cepas de *S. aureus* de ejercer inmunosupresión sobre el huésped. De esta manera, podemos concluir que la microbiota nasal ejerce un papel protector en el sujeto sano, e influye directamente en la colonización por *S. aureus*.

Palabras clave: *S. aureus*, microbiota, fosas nasales, agentes patógenos, SAMR.

ABSTRACT

Nasal microbiota, stable in composition from puberty until 65 years, is organized into ecological niches that interact with the host and pathobionts such as *Staphylococcus aureus*. These niches are not set by the genetics of the host, but by the interactions existing between the different species that coexist in the nasal cavity. With regards to *S. aureus*, whose main habitat is the posterior vestibule of the nostrils, its virulence may be modified by bacteria of the nasal cavity, such as *Corynebacterium* spp., *Propionibacterium* spp., or its growth directly inhibited by proteases or antibiotics, which are secreted by *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus lugdunensis*, respectively. On the other hand, the presence of a chronic disease will favor colonization states when an imbalance in the composition of the microbiota occurs, in addition to the possibility that some strains of *S. aureus* generate immunosuppression on the host. In this way, we can conclude that the nasal microbiota exerts a protective role in the healthy subject, and directly influences the colonization by *S. aureus*.

Key words: *S. aureus*, microbiota, nostrils, pathobiont, MRSA

1. Introducción:

El cuerpo humano presenta una gran variedad de comunidades microbiológicas, donde existe una compleja red de interacción entre un gran número de bacterias, hongos, virus, bacteriófagos, arqueas y eucariotas, colonizando distintas superficies del cuerpo, donde se incluye la piel, cavidad oral, tracto respiratorio superior, pulmón, tracto intestinal y vagina. Actualmente, gracias a la secuenciación de alto rendimiento, se ha estudiado a estas comunidades y su relación con la salud y la enfermedad (crónica). Estos estudios han provocado un cambio de parecer sobre la teoría postulada por el Dr. Robert Koch en el s. XIX, “one pathogen/one disease”, para centrarse en la teoría de que la salud humana es el resultado de una compleja red de interacciones entre los microorganismos y el hospedador (de Steenhuijsen Piters, Sanders, y Bogaert 2015).

En contraposición al tracto gastrointestinal, el ecosistema microbiano de la cavidad nasal ha sido menos estudiado aunque análisis independientes del cultivo revelaron que se trataba de un hábitat densamente poblado por diferentes especies bacterianas y donde la edad afectaba significativamente a la composición de la microbiota nasal (Kaspar et al. 2016a). Los seres humanos están asiduamente expuestos a *S. aureus* y una significativa proporción de la población es colonizada por esta bacteria. El hábitat primario de *S. aureus* es el epitelio escamoso de las fosas nasales (Weidenmaier, Goerke, y Wolz 2012) y esta colonización puede ser transitoria o permanente. Se estima que un 20% de los individuos son colonizados persistentemente por *S. aureus*, presentando una alta densidad bacteriana. El resto de la población nunca son colonizados o si lo son es de forma intermitente y presentando un bajo número de bacterias. Los portadores nasales constituyen una fuente importante de propagación de la bacteria y además el riesgo de producir infección por *S. aureus* está fuertemente incrementado (Brown et al. 2014). La evolución de esta eficiente colonización es resultado de múltiples complejas interacciones entre el huésped y la bacteria, donde juega un papel importante la microbiota. Este último punto es en el que nos vamos a centrar en esta revisión. Pero antes de entrar en el papel de la microbiota nasal, vamos a hablar de la amplia gama de factores de virulencia que *S. aureus* es capaz de expresar ante las respuestas inmunes del hospedador, permitiéndole sobrevivir y causar un amplio abanico de enfermedades.

2. *Staphylococcus aureus*: Factores de virulencia

S. aureus es una bacteria Gram-positiva de gran importancia médica debido a su variedad a la hora de producir patología, que va desde una simple infección superficial hasta la afectación profunda de la piel y/o bacteriemia. Es importante destacar, que estas bacterias tienen cepas resistentes a antibióticos, como son SAMR/MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*), VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*), y VRSA (vancomycin-resistant *S. aureus*), que tienen una morbi-mortalidad aumentada con respecto a SAMS/MSSA (methicillin-susceptible *S. aureus*).

La patogénesis depende de la producción de proteínas de superficie, secreción de toxinas extracelulares y enzimas degradativas. La virulencia de *S. aureus* está muy afectada por la expresión de un complejo sistema de regulación global, conocido como *agr* (accessory gene regulator), que responde ante señales ambientales como la densidad bacteriana (quorum sensing), estado nutricional y reservas energéticas. También existen otros sistemas encargados de la regulación de los factores de virulencia, como SarA (staphylococcal accessory regulator A), *sae* operon (*S. aureus* exoprotein expression), y SigB (staphylococcal alternative sigma factor B), (Kong, Neoh, y Nathan 2016a). A pesar de todo, es cierto que el control de la producción de toxinas es un proceso complejo que aún no está completamente descrito.

2.1 Locus *agr* de *S. aureus*:

El *agr* es el sistema de regulación global más estudiado, encargado de la producción de las exoproteínas del *S. aureus*. El operón *agr* está compuesto por dos unidades de transcripción divergentes RNAII y RNAIII, dirigidos por los promotores P2 y P3 respectivamente (Figura 1).

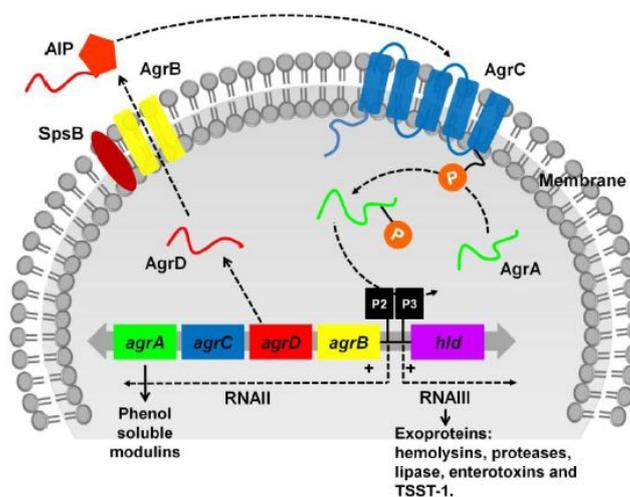


Figura 1. Representación esquemática del sistema regulatorio *agr* de *S. aureus*. El operón *agr* consiste en dos unidades transcripcionales RNAII y RNAIII controladas por los promotores P2 y P3, respectivamente (Kong, Neoh, y Nathan 2016b)

El transcrito RNAII abarca un operón de cuatro genes, *agr BDCA*, donde AgrB es responsable de procesar y exportar, junto a SpsB, a AgrD que es el precursor de AIP (autoinducer peptide). AIP se une a AgrC, que es el sensor y se autofosforila, y cuando la densidad celular es alta se encarga de fosforilar a AgrA, para finalmente activar a P2 y P3. Por tanto, se produce una retroalimentación positiva a partir de P2 y por medio de P3 se expresa RNAIII, encargado de la represión de adhesinas y otras proteínas de superficie y de la inducción de hemolisinas, proteasas, lipasas, enterotoxinas y TSST-1.

Es importante destacar que *agr* a pesar de aumentar la expresión de estas toxinas, también disminuye la expresión de los factores de colonización y la formación de biofilm (Otto 2001).

2.2 Factores de virulencia implicados en la colonización nasal:

S. aureus durante la colonización nasal va a expresar una serie de factores de virulencia, que han sido determinados por RT-PCR cuantitativa (qRT-PCR). Estos son las moléculas de adhesión tales como ClfB (clumping factor B), IsdA (iron-regulated determinant A), FnbA (fibronectin adhesin), AtlA (autolysin A), Eap (extracellular adherence protein), genes involucrados en la biosíntesis de la pared de ácidos teicoicos (WTA, wall teichoic acids) como *tagO* y *tark*, y los factores inmunomoduladores tales como Sak (staphylokinase protein), Chp (chemotaxis inhibitory protein), Spa (A protein), Eap (extracellular adherence protein). En contraste con esto, los genes más tóxicos como *hla* (alpha haemolysin) y *psm* (phenol soluble modulins) no se expresan en estas condiciones (Sollid et al. 2014). Por tanto, esto sugiere que cuando *S. aureus* se encuentra en las fosas nasales o epitelio, lo hace para crecer, provocando una colonización, y no provocar una actividad virulenta. Esto se apoya de lo ya comentado sobre *agr*, que reprimía la expresión de los factores de colonización (Arciola et al. 2015).

Hasta la fecha, existen dos lugares que han sido definidos como nichos nasales para la adherencia de *S. aureus*. Estas áreas son el epitelio escamoso de la región anterior de las fosas nasales y la cavidad nasal. Este epitelio de las narinas, presenta un recubrimiento cornificado (CE) que está compuesto principalmente por loricrina (~85%), junto a K10, involucrina, etc. (Mulcahy y McLoughlin 2016).

Los factores de adherencia superficial, como IsdA (iron-regulated Surface determinant A) y ClfB (clumping factor B), pueden adherirse específicamente a CE. Recientemente fue demostrado que la loricrina es el mayor ligando de ClfB, algo muy importante, ya que este factor de adherencia es necesario para que sea posible la colonización humana (Figura 2).

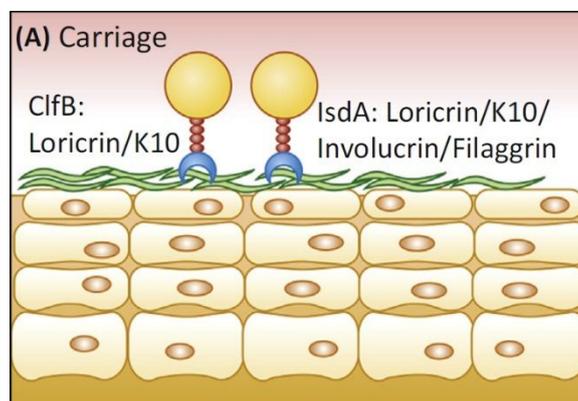


Figura 2. Estructura de la loricrina como mayor ligando de ClfB (Mulcahy y McLoughlin 2016)

Además de esos factores de adherencia superficial, también juegan un papel importante, las adhesinas (SdrC, SdrD,...), el ácido teicoico y más factores que se mencionan en la Tabla 1. Junto a todos estos factores, para un correcto asentamiento en las fosas nasales se precisa de una interacción y competición con una amplia variedad de microorganismos, que podrán tanto ayudar a la colonización, como evitar la misma.

Por tanto, en esta revisión vamos a centrarnos en este último punto, valorando la importancia del tipo de microbiota nasal, y de algunas bacterias patógenas, como el género *Staphylococcus*, durante la colonización nasal por parte del *Staphylococcus aureus*.

Tabla 1. Factores bacterianos involucrados en la colonización nasal de *S. aureus*
(Mulcahy y McLoughlin 2016)

Factor de virulencia de <i>S. aureus</i>	Descripción	Ligando del huésped/ Interacción	Evidencia
Adaptación al ambiente nasal			
WalKR	Sistema regulador de dos componentes	Sin determinar	Expresado durante la colonización en modelos murinos y humanos
AtIA, SceD	Autolisinas	Sin determinar	Expresados durante la colonización en modelos murinos y humanos
TagO, TarK	Contribuye en la biosíntesis de WTA	Sin determinar	Expresados durante la colonización en modelos murinos y humanos
Interacción con el epitelio nasal/Factores locales del hospedador			
CfB	Proteína de superficie	Loricrina, K10, K8	Facilita la adherencia a las células epiteliales descamativas humanas. Facilita la colonización en roedores y modelos humanos. Expresado durante la colonización en modelos humanos y murinos
IsdA	Proteína de superficie	Loricrina, involucrina, K10, filagrina	Facilita la adherencia a las células epiteliales descamativas humanas. Facilita la colonización en modelos de rata de algodón. Expresado durante la colonización en modelos humanos y murinos
WTA	Glicoproteína	SREC-1	Facilita la adherencia a las células epiteliales nasales. Facilita la colonización en modelos de ratas de algodón
SpA	Proteína de superficie/ secretada	Sin determinar	Facilita la colonización en seres humanos que exhiben un aumento en los marcadores inflamatorios locales. Expresado durante la colonización humana y de modelos murinos
SdrC	Proteína de superficie	Sin determinar	Facilita la adherencia en células epiteliales descamativas humanas
SdrD	Proteína de superficie	Desmoglein a-1	Facilita la adherencia en células epiteliales descamativas humanas. Se adhiere a desmogleina-1 en queratinocitos HaCat
SasX	Proteína de superficie codificada por fagos	Sin determinar	Facilita la colonización en modelos de rata de algodón

3. La microbiota nasal:

La comunidad microbiana es un universo de microorganismos cultivables e incultivables que se encuentran presentes en un nicho ecológico específico, como puede ser el tracto gastrointestinal o la mucosa nasal. El análisis de la microbiota del ser humano ofrece un nuevo punto de vista para estudiar las interacciones huésped-microbio en varios sitios anatómicos. Esto ha sido posible gracias a la aparición de nuevas técnicas moleculares, como las plataformas de secuenciación masiva que permiten la secuenciación del RNA microbiano para la identificación de microorganismos tanto cultivables, como los no cultivables, que están presentes en la comunidad. Las técnicas para estudiar la microbiota están evolucionando de una manera muy rápida, donde se incluyen métodos para cuantificar la diversidad bacteriana, la representación de especies bacterianas específicas, la determinación de la carga bacteriana y las vías metabólicas que utiliza la microbiota (Wilson y Hamilos 2014).

El desarrollo del tracto respiratorio es un complejo proceso de múltiples etapas que comienza en la cuarta semana de gestación, que va madurando progresivamente hasta la edad adulta. Al nacer, la anatomía del tracto respiratorio superior es sustancialmente diferente al de los adultos, debido a la posición más alta de la laringe, dando una nasofaringe más grande que la orofaringe, formando nichos completamente distintos. Cuando se produce el desarrollo completo, en los adultos se forman distintos subcompartimentos con características microbianas, celulares y fisiológicas específicas, tales como la cantidad de oxígeno y dióxido de carbono, pH, la humedad y la temperatura, cuyas variaciones a lo largo de todo el tracto respiratorio, provocan la formación de nichos característicamente diferentes (Figura 3) (Man, de Steenhuijsen Piters, y Bogaert 2017). Estas características participan en las distintas funciones fisiológicas como la filtración, humidificación y calentamiento del aire inhalado, de un sistema compuesto por las fosas nasales, cavidad nasal, nasofaringe, los senos, la trompa de Eustaquio, la cavidad del oído medio, la cavidad oral, la orofaringe y la laringe, que básicamente son el área de transición entre el medio externo y el tracto respiratorio inferior y el gastrointestinal. Las superficies mucosas de estos nichos se colonizan con una amplia gama de bacterias, en su mayoría miembros de Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria y Fusobacteria, observándose grandes diferencias en los perfiles microbianos entre nichos a niveles taxonómicos más bajos, debido a las diferencias existentes en cada nicho, resultantes de variaciones de humedad, acidez y tipo de células epiteliales (de Steenhuijsen Piters, Sanders, y Bogaert 2015).

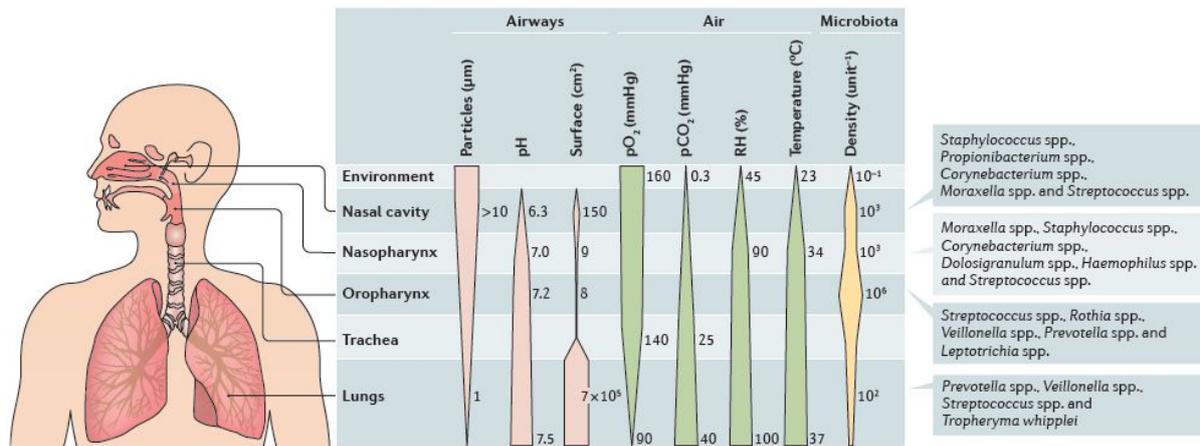


Figura 3. Gradiente fisiológico y microbiano a lo largo del tracto respiratorio. Existen gradientes fisiológicos y microbianos a lo largo de la cavidad nasal, nasofaringe, orofaringe, tráquea y los pulmones. El pH aumenta gradualmente a lo largo del tracto respiratorio, mientras que la mayor parte del aumento de la humedad relativa y la temperatura se produce en la cavidad nasal. Además, las presiones parciales de oxígeno (pO_2) y dióxido de carbono (pCO_2) tienen gradientes opuestos que están determinados por las condiciones ambientales del aire, y el intercambio gaseoso en la superficie de los pulmones. La inhalación produce la entrada de partículas del medio ambiente en el tracto respiratorio. Las partículas de más de 10 μm de diámetro se depositan en el tracto respiratorio superior, mientras que las partículas de menos de 1 μm de diámetro pueden llegar a los pulmones. Estas partículas pueden arrastrar con ellas bacterias y virus, que son típicamente mayores de 0,4 μm de diámetro. Estos parámetros fisiológicos determinan las condiciones de crecimiento selectivo en cada nicho, que, en última instancia, van a formar las distintas comunidades microbianas que encontramos a lo largo del tracto respiratorio. La unidad utilizada para medir la densidad bacteriana varía según el nicho. De esta manera, la densidad que encontramos en el ambiente se representa como bacterias por cm^3 de aire interior, las medidas de densidad en la cavidad nasal y nasofaringe se muestran como un número estimado de bacterias por hisopo nasal y las densidades en la orofaringe y los pulmones representan el número estimado de bacterias por ml de lavado broncoalveolar.

Lo que a nosotros nos interesa es la parte más superior de las vías respiratorias altas, y por tanto vamos a pasar a describirlo de una manera más amplia. La cavidad nasal siempre se ha tenido en cuenta por su capacidad olfatoria, pero no debemos olvidar su importante participación tanto en el sistema respiratorio y más aún en el inmune. Siempre se ha considerado como un solo hábitat debido a la limitación para hacer un muestreo más amplio de la cavidad nasal. Esto ha cambiado gracias a los estudios de secuenciación de la microbiota con 16S rRNA, que demuestran la existencia de patrones en la composición de la microbiota a nivel de la comunidad y además estos patrones recuerdan a los de la piel (Yan et al. 2013).

En el estudio llevado a cabo por Yan y col. la cavidad nasal la dividen en: fosas nasales (FN), meato medio (MM) y receso esfenoidal (RE) (Figura 4), que representan algunos de los microambientes locales donde residen comunidades microbianas (Yan et al. 2013). Esta división se apoya en la composición histológica de cada área, por ser punto de transición entre una zona que se encuentra siempre en contacto con el aire inhalado, y otra completamente protegida y altamente regulada por el espacio interno, dando una idea de las distintas áreas biogeográficas. Para la realización del estudio se

tomaron muestras de las tres localizaciones nasales en 12 individuos y en cuatro tiempos. Los resultados mostraron secuencias correspondientes a 25 phyla y el 96.2% de ellas pertenecían a tres phyla: Actinobacteria (50.7%), Firmicutes (24.7%) y Proteobacteria (20.7%). La secuencia más abundante fue la del género *Propionibacterium* y representó el 20% de las secuencias. Los géneros *Corynebacterium* y *Propionibacterium* (Actinobacteria) dominaron en muestras tomadas en 10 de los 12 sujetos. De los dos individuos restantes, uno (sujeto D) tenía una comunidad nasal general, cuya pertenencia estaba dividida de manera uniforme entre Firmicutes, Actinobacteria y Proteobacteria, mientras que el otro (sujeto L) estaba dominado por *Moraxella* (Proteobacteria) (Figura 4). Los estafilococos, más abundantes encontrados fueron *S. aureus* y *S. epidermidis*.

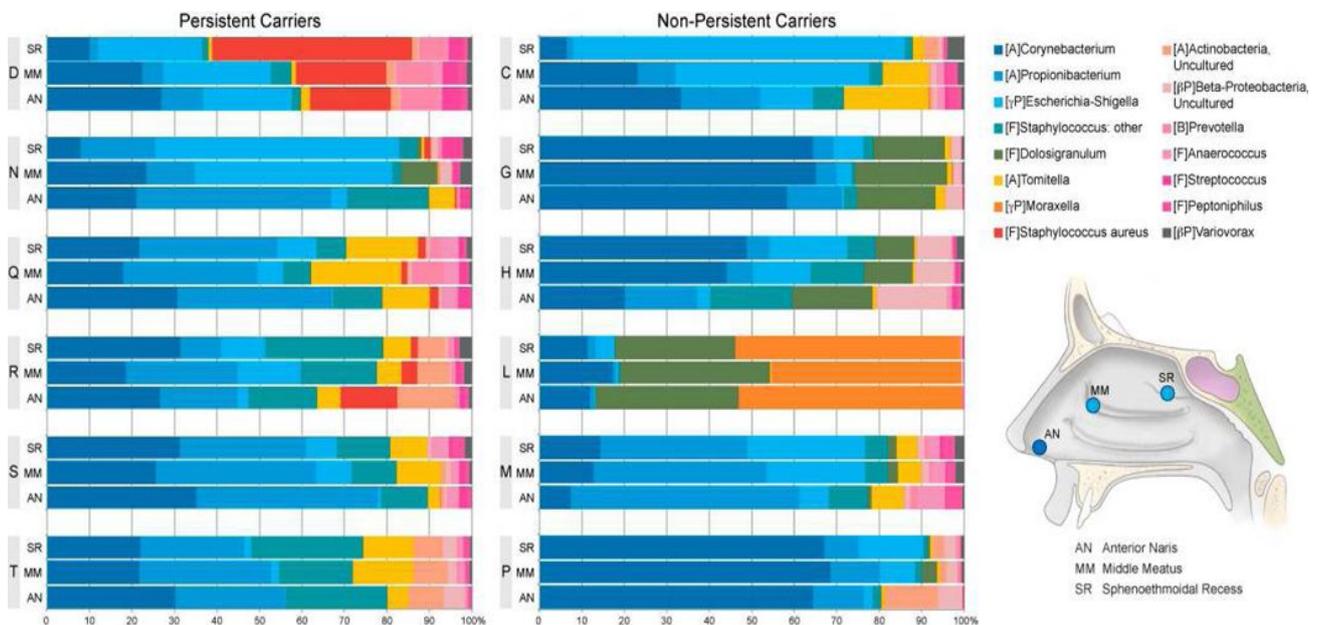


Figura 4. Composición taxonómica de la comunidad nasal. En la figura se muestra la comunidad nasal en 3 sitios intranasales distintos (FN, MM y RE) tanto en “no portadores persistentes” (a la derecha, sujetos C, G, H, L, M y P) como en “portadores persistentes” (a la izquierda, sujetos D, N, Q, R, S, y T) de *S. aureus*. En la figura también se muestran los géneros bacterianos más abundantes, así como *S. aureus*. (Yan et al. 2013)

Con este estudio se demostró la existencia de diferencias significativas entre el tipo de epitelio y la comunidad bacteriana asociada. Aunque MM y RE difieren significativamente en su proximidad al ambiente externo y los senos, no hubo diferencias apreciables en la estructura de sus comunidades microbianas asociadas (Figura 4), pues ambos sitios de la mucosa están revestidos por epitelio columnar pseudoestratificado ciliado. Por otra parte, las comunidades de las FN, que poseen epitelio escamoso no queratinizado, tenían niveles de diversidad consistentemente más bajos. En la FN se constata la dominancia de los géneros *Corynebacterium*,

Staphylococcus y *Propionibacterium* (Figura 4), hecho ya observado anteriormente en el “Human Microbiome Project Consortium” (Consortium 2012). La humedad ha sido sugerida como un factor ambiental favorable para *Corynebacterium* y *Staphylococcus*, lo que explicaría los niveles más altos en las muestras de mucosa.

Es importante remarcar en este punto, que en el último estudio de Kaspar (Kaspar et al. 2016b), se demuestra que el principal hábitat del *S. aureus* se localiza en el vestíbulo posterior de las fosas nasales. Por tanto, tenemos que tener en cuenta, en las estrategias de erradicación nasal de *S. aureus*, las regiones posteriores de la cavidad nasal (vestíbulo nasal y meatos nasales), cuando se usen los agentes tópicos a la hora de erradicar la colonización.

4. Microbiota en la lactancia, infancia, pubertad y edad adulta:

La microbiota nasal va a sufrir variaciones a lo largo del tiempo, incluyendo variaciones a nivel estacional. La adquisición primaria de microorganismos, al inicio de la vida, permite el correcto desarrollo de las vías respiratorias. En contraste con las hipótesis de que uno nace estéril, recientemente se ha sugerido la posibilidad de adquirir algunos microorganismos en el útero, algo que sugiere bastante controversia (Lauder et al. 2016). Independientemente de esto, la transferencia de anticuerpos maternos y moléculas microbiológicas en el útero, influye en el desarrollo inmune post-natal. Durante las primeras horas de vida, una amplia cantidad de microorganismos se encuentran en el tracto respiratorio superior, siendo de características no específicas y probablemente de origen materno. Durante la primera semana de vida se produce la primera diferenciación de nichos, influenciado por el tipo de parto y/o alimentación recibida, uso de antibióticos, la estación del año, el cuidado recibido, exposición al humo del tabaco, etc (Figura 5). El tiempo necesario para el establecimiento de una microbiota respiratoria estable está por determinar. Lo que sí está claro es que, aunque la diferenciación del nicho ocurre en las primeras semanas de vida, la microbiota respiratoria evoluciona a lo largo de los primeros años de vida. Después del establecimiento completo, el tratamiento antibiótico es un factor perturbador del equilibrio de la microbiota durante toda la vida (Man, de Steenhuijsen Piters, y Bogaert 2017)

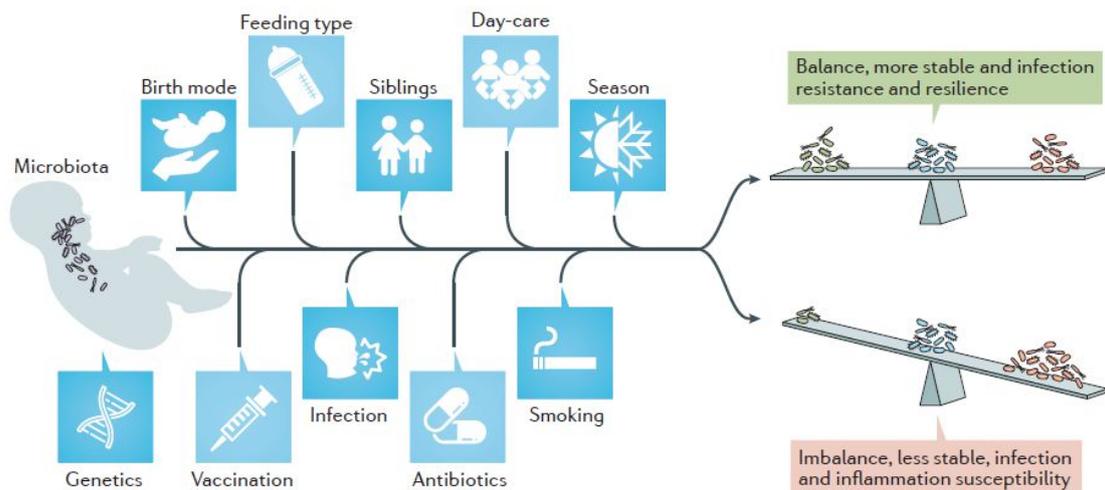


Figura 5. Factores ambientales y del hospedador que afectan en la microbiota respiratoria. Durante los primeros momentos de vida, las comunidades microbianas del tracto respiratorio son altamente dinámicas y dirigidas por múltiples factores, entre los que se incluye el tipo de parto, la alimentación, condiciones de hacinamiento y tratamiento antibiótico. De manera conjunta, los factores del hospedador junto a los ambientales pueden cambiar la composición de la microbiota hacia una comunidad estable que sea resistente al sobrecrecimiento del patógeno, o, por el contrario, en una comunidad inestable que predisponga a la infección e inflamación (Man, de Steenhuijsen Piters, y Bogaert 2017)

En los niños antes de la pubertad vamos a encontrar predominantemente Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria y Bacteroidetes, colonizando las fosas nasales y la nasofaringe. Estos dos últimos van a encontrarse en menor abundancia que los otros dos. Dentro de las actinobacterias, vamos a encontrar *Corynebacterium* como género dominante. A partir de la pubertad se va a producir un cambio muy claro en la composición de la microbiota de la nariz, que se va a mantener en los adultos sanos menores de 65 años. Durante estas edades la dominancia es llevada a cabo, como ya se comentó en el apartado anterior, por las Actinobacterias, en particular los géneros *Corynebacterium* y *Propionibacterium*. También vamos a encontrar Firmicutes, especialmente el género *Staphylococcus*. (Brugger, Bomar, y Lemon 2016). Estos cambios sobre la microbiota nasal nos apoyan la hipótesis de que puede ser alterada la microbiota en beneficio terapéutico. Un punto interesante que se ha sugerido, es que la especificidad de nicho desaparece de nuevo en la vejez (Man, de Steenhuijsen Piters, y Bogaert 2017).

La mayoría de estudios, sobre la microbiota, examinan los rangos de las edades comentadas, pero el período de 0-12 meses de vida no está apenas estudiado. Para clasificar la microbiota de los lactantes, en el año 2015 se realizó un estudio de comunidades bacterianas y víricas presentes en la nasofaringe, y documentando la presencia de infecciones respiratorias agudas (Teo et al. 2015). La mayoría de los lactantes fueron inicialmente colonizados por *Staphylococcus* o por *Corynebacterium*, antes de que se estableciese una colonización estable y definitiva por parte de *Moraxella* o *Alloicoccus* (Figura 6). Las invasiones transitorias por parte de

Streptococcus, *Moraxella* o *Haemophilus*, marcaron las infecciones respiratorias agudas asociadas a virus. Durante este estudio se concluyó que el microbioma nasofaríngeo es determinante para la propagación de la infección a las vías respiratorias inferiores, la gravedad de los síntomas inflamatorios acompañantes y el riesgo de desarrollo futuro del asma.

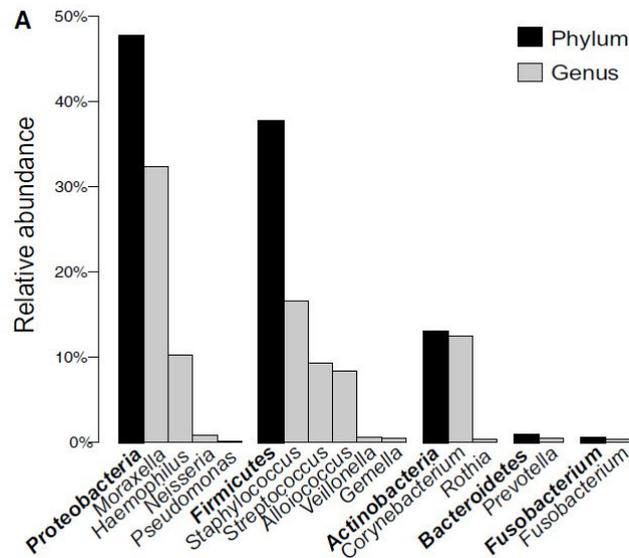


Figura 6. Frecuencia de phyla y géneros más abundantes de aspirados de la nasofaringe. Se basa en la composición bacteriana de 1.021 aspirados nasofaríngeos de 234 lactantes durante períodos de salud y enfermedad (Teo et al. 2015).

Existen géneros que se asocian con una gran mortalidad, como *S. aureus* meticilin resistentes (SAMR) y *S. pneumoniae*, y que se encuentran colonizando sin causar enfermedad a los seres humanos. Sin embargo, esta colonización benigna puede ser el punto de partida para la enfermedad, la transmisión huésped-huésped y la selección de nuevos rasgos microbianos. Por eso, esta dualidad existente en el comportamiento de comensal a patógeno, ha llevado al término de agentes patógenos (“pathobiont”) (Mazmanian, Round, y Kasper 2008). Los factores que cambian el comportamiento de los agentes patógenos de un estado comensal a uno patogénico aún no se han identificado. Sin embargo, la interacción de estos agentes con otros miembros de la microbiota podría ser una de las causas de este cambio de comportamiento.

Por tanto, estos agentes patógenos también van a variar en función de la edad, así es que los patógenos primarios del oído medio y las bacterias respiratorias, como son *S. pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*, van a colonizar las fosas nasales de los niños sanos, donde también podemos encontrar *S. aureus*, pero con menos frecuencia. En contraste con esto, vamos a ver que la colonización por parte de *S. aureus*, en adultos, es mucho más común, mientras que *S. pneumoniae* y *H. influenzae* no lo es tanto (Brugger, Bomar, y Lemon 2016).

Estas especies se definen como agentes patógenos por pertenecer a miembros comensales de la microbiota nasal. Mientras que los patógenos oportunistas pueden ser de origen comensal, ambiental o zoonótico. Además, estos agentes patógenos nasales pueden causar infección en huéspedes sanos, como, por ejemplo, niños y adolescentes, mientras que los patógenos oportunistas generalmente sólo infectan huéspedes que están comprometidos de alguna manera, es decir, que exista una disminución de la función inmune, una alteración de la barrera, como en las heridas traumáticas, etc.

4.1 Influencia de las características genéticas del hospedador sobre la microbiota nasal:

Mediante un estudio realizado en 2015, entre gemelos homocigóticos y dicigóticos (Liu et al. 2015), se determinó el papel de la genética del hospedador sobre la microbiota nasal. De esta manera, la creencia de que las características genéticas del hospedador influyen en la composición de la microbiota fue desmitificada al salir un resultado no significativo. Se confirmó la similitud limitada en la composición de la microbiota nasal de parejas de gemelos homocigóticos por medio de análisis ecológicos basados en la distancia, donde se encontró que la microbiota nasal de gemelos homocigóticos eran similares al mismo nivel que todos los gemelos dicigóticos del mismo sexo o parejas del mismo sexo sin relación genética entre ellas.

En contraste con esto, sí que se vio una relación significativa entre las características genéticas y la densidad bacteriana nasal. Las variaciones en la densidad fueron mejor explicadas por un modelo que incluyó efectos ambientales aditivos y no compartidos, viéndose que alrededor de un 30% de la variación de la densidad fue hereditaria con un gran efecto ambiental no compartido del 70%. Algo destacable es que el sexo del hospedador también influyó sobre la densidad, viéndose reducido casi a la mitad en las mujeres (Figura 7A).

Por último, se vio que el hábito tabáquico, y la historia de enfermedades atópicas y/o psoriasis, no presentaron efecto alguno sobre la densidad de la microbiota nasal.

5. Interacción de los agentes patógenos con *S. aureus*:

Los individuos presentan susceptibilidades distintas a la colonización nasal por *S. aureus*, donde la genética del hospedador no parece ser un determinante estricto, único y significativo para la colonización nasal. Esta realidad nos hace pensar en la posibilidad de la interacción de los fenotipos microbianos del huésped (Liu et al. 2015).

Como ya hemos comentado, la compleja anatomía de la nariz permite la formación de diferentes nichos para las bacterias. Por tanto, en las fosas nasales, las especies más comunes que vamos a encontrar pertenecen a *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*, junto a la bacteria anaerobia *Fingoldia magna*, produciéndose una interacción entre las mismas que permite formar diferentes asociaciones entre especies. Así es, que el *S. aureus* presenta la asociación más frecuente con *S. epidermidis* y *Propionibacterium acnés* (Kaspar et al. 2016b).

Antes de pasar a explicar algunas de las interacciones que influyen sobre *S. aureus*, vamos a comentar las tasas de colonización nasal de *S. aureus* en hombres y mujeres. Existen estudios publicados que demostraron que los hombres son más propensos a ser colonizados por *S. aureus* (Olsen et al. 2012; Andersen et al. 2012). Sin embargo, se ha concluido recientemente, por medio de secuenciación de DNA, que no existe una diferencia significativa entre las tasas de colonización entre hombres y mujeres (Liu et al. 2015). Esta discrepancia podría explicarse por la mayor abundancia absoluta de *S. aureus* en hombres y su influencia en los resultados del cultivo (concretamente, las mujeres tenían una abundancia absoluta en torno a 10-100 veces menor que los hombres. Figura 7B). De la misma manera, la abundancia absoluta de *S. aureus* presenta una correlación fuertemente positiva con el resultado del cultivo (cada aumento en 10 veces de la abundancia absoluta, proporcionaba un 30% más de probabilidad de un cultivo positivo. Figura 7C). Finalmente, el determinante clave, tras ajustar por sexo y características del huésped, fue la abundancia absoluta de *S. aureus*, lo que sugiere que los métodos basados en cultivo no identifican una proporción sustancial de portadores de *S. aureus*, concretamente entre las mujeres, que podrían servir como reservorios no reconocidos.

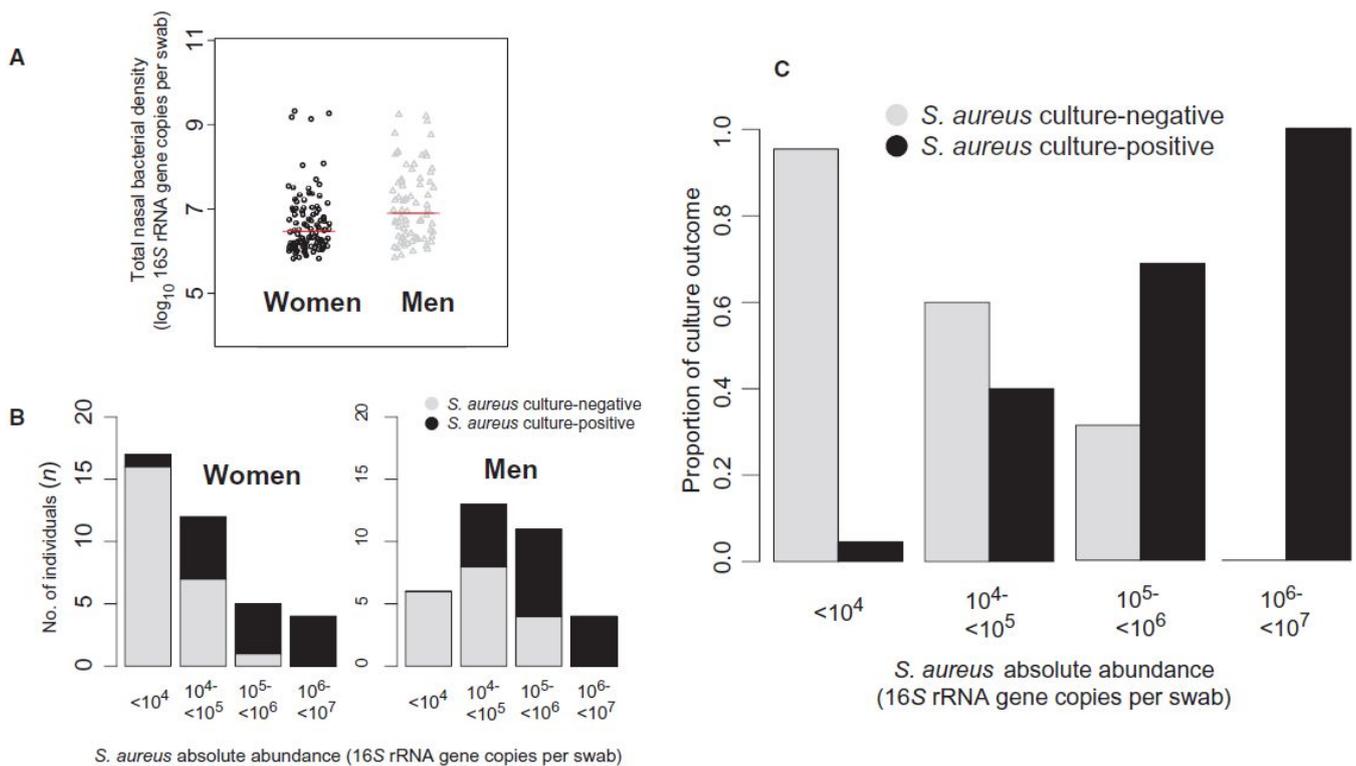


Figura 7. Densidad bacteriana nasal y la abundancia absoluta de *S. aureus* por sexo y la relación entre la abundancia absoluta de *S. aureus* y el cultivo de *S. aureus*. (A) El diagrama de dispersión muestra la mayor densidad bacteriana nasal en hombres que en mujeres. (B) La mayoría de las mujeres estuvieron en niveles bajos de abundancia absoluta (es decir, <10⁴ y 10⁴-10⁵), mientras que los hombres tienen más probabilidades de tener las dos categorías medias (es decir, 10⁴-10⁵ y 10⁵ - 10⁶). (C) El resultado del cultivo estaba fuertemente ligado a la abundancia absoluta de *S. aureus*, y cada aumento de 10 veces en la abundancia absoluta de *S. aureus* incrementaba la probabilidad de cultivo positivo de *S. aureus* en un 30%, lo que sugiere que la diferencia de sexo en la abundancia absoluta podría explicar las tasas más bajas de cultivo de *S. aureus* en mujeres que en hombres. (Liu et al. 2015)

5.1 Papel de *Corynebacterium* spp. en relación con *S. aureus*:

Actualmente, la función de *Corynebacterium* spp. durante la colonización de fosas nasales, se encuentra muy poco estudiada. Esto es, porque la mayoría de corinebacterias no producen enfermedad. Lo que sí está claro es la existencia de interacciones específicas de este grupo de bacterias con *S. aureus*.

En el año 2010, un estudio realizado con un grupo de 40 adultos sanos, se asoció una correlación positiva entre *S. aureus* y *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (Wos-Oxley et al. 2010). Sin embargo, en el caso de *Corynebacterium accolens*, a pesar de compartir nicho con *S. aureus*, *P. acnés* y *S. epidermidis*, se observó una correlación negativa, lo que sugirió que una alta concentración de *C. accolens* controla a éstas especies.

En contraposición al estudio del 2010, el equipo de Yan en el año 2013 (Yan et al. 2013) utilizando un grupo de 12 adultos, de los que 6 presentaban una colonización permanente por parte de *S. aureus* (ver Figura 4), observó que la abundancia de *C. pseudodiphtheriticum* estaba asociada a una baja abundancia o incluso ausencia de *S. aureus* en la colonización observándose que inhibía el crecimiento *in vitro* de ésta bacteria (Figura 8). En cambio, la abundancia de *C. accolens* se asoció con una correlación positiva en la colonización por *S. aureus*, además de una estimulación por su parte en el crecimiento *in vitro* de *C. accolens* (Figura 8):

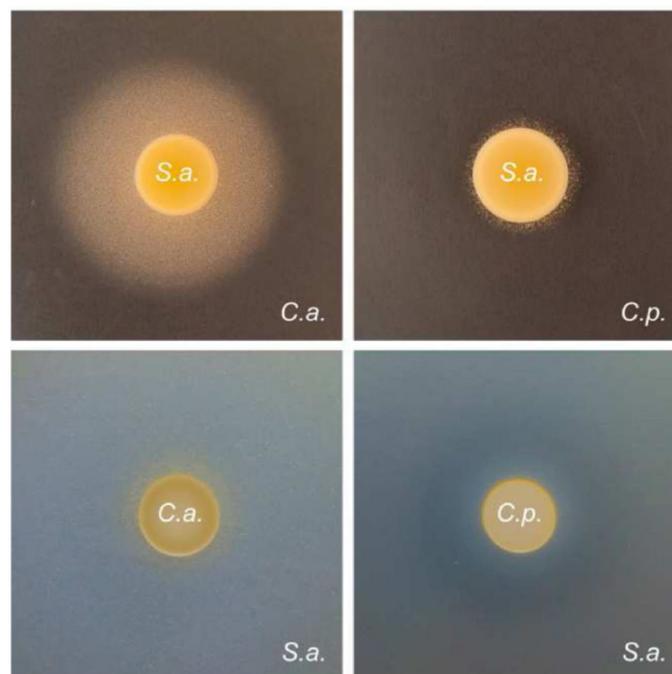


Figura 8. Interacciones de *C. accolens* y *C. pseudodiphtheriticum* con *S. aureus* en placas de agar. Células de una especie bacteriana se mezclaron con agar e infusión de cerebro-corazón y las células de la otra especie se coloraron en un disco en el centro de la placa. Se observa inhibición del crecimiento o la promoción del crecimiento alrededor del disco (Yan et al. 2013)

Probablemente, las interacciones entre *C. accolens*, *C. pseudodiphtheriticum* y *S. aureus* son dependientes del ambiente. En este estudio se demostró que estas interacciones tenían lugar únicamente a nivel de la mucosa (epitelio columnar pseudoestratificado ciliado), de tal forma que nutrientes u otras limitaciones dentro del ambiente epitelial ciliado de esta zona pueden conducir a la competición entre las tres especies mencionadas; concluyéndose, que quizás la exclusión de *C. accolens* y *S. aureus* de estos sitios más profundos de la mucosa por parte de *C. pseudodiphtheriticum* ahorraría a los no-portadores una fuente continua de *S. aureus*, y de ahí el intento inefectivo a nivel clínico de descolonizar las fosas nasales en los portadores nasales de *S. aureus* que carecen de *C. pseudodiphtheriticum*.

Por tanto, la variación de los resultados entre diferentes estudios habla de la complejidad existente de las interacciones *S. aureus-Corynebacterium* spp, incluyendo la posibilidad de variaciones a nivel del tipo de cepa, y pone de relieve la necesidad de una investigación para determinar los mecanismos moleculares involucrados, lo que es poco probable que se limite a la inhibición de la colonización (Brugger, Bomar, y Lemon 2016).

Con idea de dar un poco más de claridad al tema que venimos desarrollando, y bajo la hipótesis de que las interacciones de *Corynebacterium* con *S. aureus* disminuyen la virulencia de este último, el laboratorio de Matthew M. Ramsey en el año 2016 ha mostrado cambios existentes en la expresión génica de *S. aureus* durante el co-cultivo *in vitro* con *Corynebacterium striatum* (Ramsey et al. 2016). Durante el trabajo de experimentación de este equipo, se observó un cambio en la transcripción génica de *S. aureus* durante el crecimiento *in vitro* con *C. striatum*. Estos cambios son la disminución de la transcripción de genes de virulencia, y un aumento en la transcripción de genes cuya expresión se sabe que está incrementada durante la colonización nasal.

S. aureus utiliza varias vías que se encargan de regular la transición entre estados comensales y patógenos, como ya se comentó al principio de la revisión. Uno de éstos, es el sistema *agr quorum sensing*, que se vio fuertemente inhibido en presencia de *Corynebacterium* spp (para esta primera parte del estudio fueron seleccionados, *C. amycolatum*, *C. accolens*, *C. pseudodiphtheriticum*, *C. amycolatum*, *C. striatum*, y *C. glutamicum* que no está asociado con la colonización humana) (Ramsey et al. 2016). El resto del estudio se realizó con *C. striatum*, objetivándose que cuando se encuentra junto a *S. aureus*, éste último presenta una mayor adherencia a células epiteliales, reflejando un estado comensal. También se vio una disminución en la actividad de la hemolisina, haciendo visible una atenuación de la virulencia. En consonancia con esto, *S. aureus* mostró una menor actividad, en experimentación *in vivo*, en la co-infección con *C. striatum*, en comparación con la mono-infección.

Finalmente, los resultados obtenidos de este estudio, sugieren la posibilidad de utilizar un probiótico de *Corynebacterium* spp para limitar la virulencia de *S. aureus*, por ejemplo, en portadores crónicos.

5.2. Función de *Propionibacterium* spp. en el control de *S. aureus*:

Otro de estos agentes patógenos, que actúa a nivel cutáneo, es *Propionibacterium* spp., que incluye a *P. acnes*, *P. avium* y *P. granulosum*. Estas especies las vamos a encontrar habitualmente en la adolescencia tardía y en adultos jóvenes, formando parte de la microbiota de las fosas nasales, más concretamente en la mucosa nasal. Los seres humanos distan con el resto de mamíferos a la hora de presentar *Propionibacterium* en la piel, algo que podría relacionarse con la cantidad tan abundante que existe de triacilglicéridos en el sebo humano y de lípidos en la piel. El habitante bacteriano más abundante de las glándulas pilosebáceas (poros) de la piel es el *P. acnes* (Fitz-Gibbon et al. 2013), encontrándose presente en la piel de la mayoría de los adultos, al menos en los países desarrollados.

Antes de continuar con este apartado, es importante destacar que los estudios más recientes realizados con los sistemas de secuenciación masivos o sistemas NGS (*Next-Generation Sequencing*) se basan en la detección de la región V4 del gen 16S rRNA, los cuales detectan niveles más bajos de *Propionibacterium* spp. que en anteriores estudios de secuenciación (Nelson et al. 2014), algo que probablemente se deba a que, el ampliamente usado oligonucleótido 806R (dirigido a la región V4), detecta pobremente el *Propionibacterium*.

Por tanto, una vez aclarado esto último, y presentada la ubicuidad de *Propionibacterium* en la superficie cutánea humana, que incluye las fosas nasales, se han realizado varios estudios que han examinado las posibles interacciones entre *Propionibacterium* spp. y *S. aureus*. Algunas de las interacciones conocidas que nos pueden interesar son las siguientes:

- Una de las más importantes, mediada por *Propionibacterium* spp., es la inducción de agregación de *S. aureus* y la formación de biofilm. Mediante un bioensayo guiado (Wollenberg et al. 2014) se demostró que esta acción es llevada a cabo por la coproporfirina III (CIII), que es la porfirina extracelular más abundante producida por *Propionibacterium* spp. asociada a humanos. Esta actividad es dependiente de la dosis de CIII, la fase de crecimiento (ocurrió durante la fase estacionaria temprana), y de un pH bajo de 4-6. Estos resultados indican que la Coproporfirina III puede ser un mediador importante en la agregación de *S. aureus* y/o formación de biofilm en el orificio nasal u otros sitios habitados por *Propionibacterium* spp y *S. aureus*.
- La actividad hemolítica y citolítica del *S. aureus*, mediada por la β -hemolisina (esfingomielinasa C), está aumentada gracias a la actividad de *P. acnes* al secretar el factor de Christie-Atkins-Munch-Petersen (CAMP). Para el estudio se utilizó un modelo de infección en piel de ratón, comparándose la monoinfección con la coinfección de *P. acnes* y *S. aureus*, donde se demostró la potenciación de la virulencia de *S. aureus* *in vivo* de la manera ya comentada (Lo et al. 2011).

- Mediante la inyección de *P. acnes* y glicerol marcado con C¹³ en un oído de ratón, se demostró que *P. acnes* fermenta el glicerol (que es una fuente de carbono disponible en la piel humana) a ácidos grasos de cadena corta, como por ejemplo el ácido propiónico. Estos productos de glicerol fermentado, se vio que inhiben el crecimiento de la cepa USA300 CA-MRSA, tanto *in vitro* como *in vivo* en un modelo de ratón con heridas en la piel; aunque no quedó muy claro cuánto de esto se debió al pH bajo (Shu et al. 2013).

Probablemente, estas interacciones observadas sobre la superficie de la piel y fuera del vestíbulo nasal también tendrán lugar entre los comensales-patobiontes de la superficie de la piel del vestíbulo nasal (Brugger, Bomar, y Lemon 2016).

5.3. *Staphylococcus epidermidis*:

S. epidermidis es una bacteria que podemos encontrar colonizando casi el 100% de los seres humanos, además de ser, junto a *S. aureus*, uno de los principales agentes etiológicos de las infecciones relacionadas con los implantes. La formación de biofilm es el principal mecanismo patogénico que permite esta cronicidad e irreductibilidad de las infecciones. Los biofilms estafilocócicos están formados por sustancias poliméricas extracelulares, siendo éstas el polisacárido PIA (polissacharide intercellular adhesin), el DNA extracelular, las proteínas y las fibrillas amiloides. El polisacárido PIA es un polímero compuesto por monómeros de N-acetilglucosamina unidos por enlaces β (1-6) (PNAG), cuya síntesis está mediada por el locus *icaADBC*. Las secuencias de DNA homólogas al locus *ica* están presentes en muchas especies de estafilococos coagulasa negativos, sin embargo, en el caso de *S. lugdunensis*, que comentaremos en el siguiente apartado, produce un biofilm predominantemente constituido por proteínas. La expresión del locus *ica* se encuentra afectado por las condiciones ambientales. Así, se ha visto una variación de fase en la producción de biofilm debido a la transposición de una secuencia de inserción en el gen *icaC*, gen implicado en la expulsión del polisacárido. Además, el locus *agr*, regulado por *quorum sensing*, regula negativamente la formación de biofilm, favoreciendo así la diseminación de las bacterias a nuevos sitios de infección (Arciola et al. 2015). Es importante comentar, aunque no sea el objetivo de esta revisión, que el desarrollo de una estrategia para interferir en el sistema *quorum sensing* se encuentra en una línea muy debatida; de la misma manera que a la hora de buscar vacunas contra las infecciones estafilocócicas, se está empezando a tener en cuenta al PNAG desacelitado de la superficie de *S. aureus*, por favorecer la opsonofagocitosis, siendo así un fiel candidato para la protección inmune.

Volviendo al tema que nos interesa, está demostrado que, en las fosas nasales de adultos, *S. epidermidis* se asocia negativamente a *S. aureus* (Frank et al. 2010). *S. epidermidis* residente de las fosas nasales, va a reducir, pero no prevenir, la colonización, algo muy interesante, ya que nos puede llegar a servir como un posible marcador de colonización (Liu et al. 2015). Esta interacción puede deberse a un bloqueo específico sobre la expresión génica de la virulencia, donde existe la posibilidad de una actuación cruzada entre distintas especies (Brown et al. 2014). Es

decir, la expresión de *agr* de una especie, puede provocar sobre su cepa u otras distintas que se encuentren compartiendo nicho, una inhibición del *quorum sensing* y de formación de biofilm, como ya se comentó al principio de la revisión.

Dando un paso más hacia delante y concretando un poco más sobre los mecanismos implicados en la inhibición de la colonización, existe un grupo de *S. epidermidis* que secretan la serin-proteasa Esp que va a inhibir la formación de biofilm y la colonización nasal por *S. aureus*. Por medio de unos estudios epidemiológicos (Iwase et al. 2010), se demostró que la presencia de *S. epidermidis* secretor de serin-proteasa Esp, en las cavidades nasales se correlacionaba con la ausencia de *S. aureus*. Además, se vio gracias a la purificación de la proteína Esp, que esta proteasa inhibe la formación de biofilm e incluso destruye los biofilms previamente formados por *S. aureus*. También se demostró un aumento de susceptibilidad del biofilm de *S. aureus* al sistema inmune del hospedador. Este estudio se concluyó con la realización de estudios *in vivo*, demostrando que la secreción de Esp por *S. epidermidis* elimina la colonización nasal de *S. aureus* (Figura 9).

Actualmente, existe un marcado desconocimiento del número total de interacciones existentes entre *S. aureus* y *S. epidermidis*, pero estos descubrimientos nos permiten entender el porqué de esta selección negativa, y lo que es más importante, saber hacia dónde orientar futuras investigaciones.

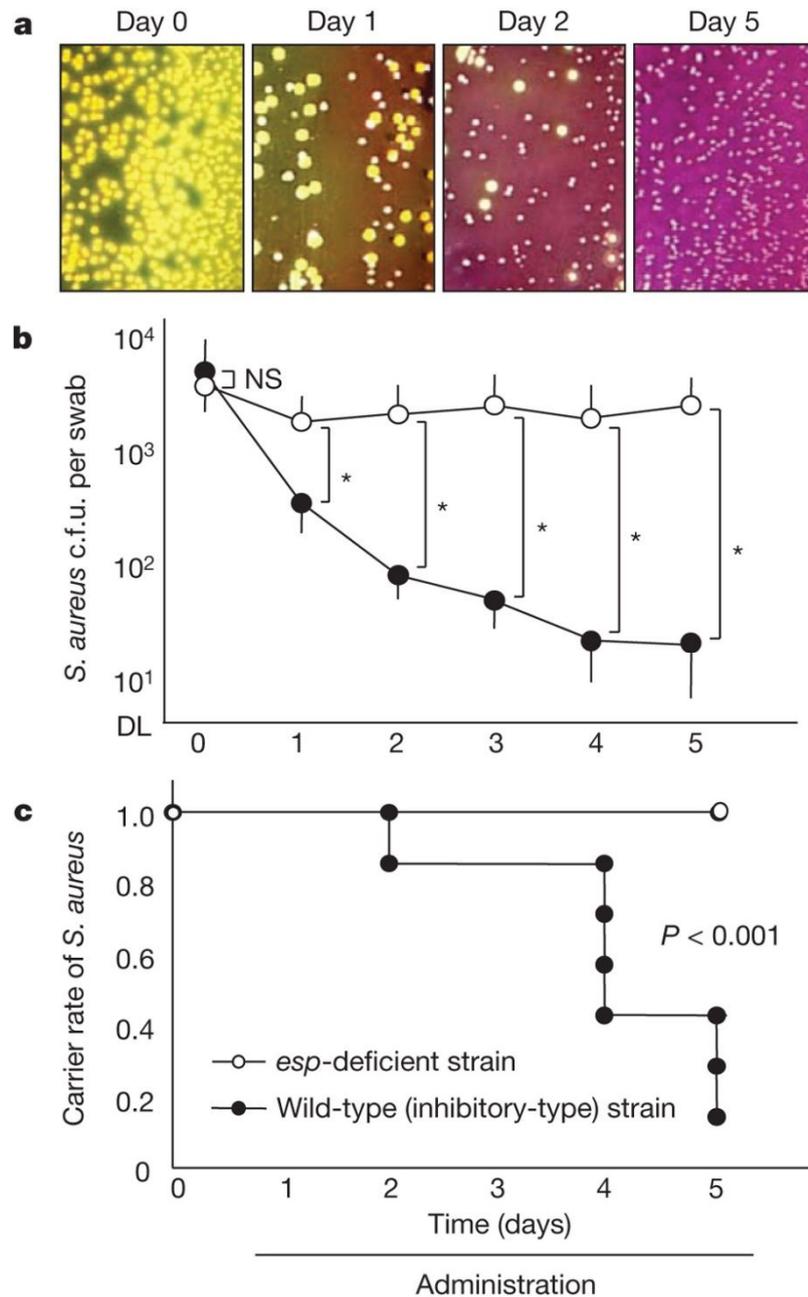


Figura 9. Efecto de la interferencia bacteriana ejercido por células inhibitoras de *S. epidermidis* sobre la colonización nasal de *S. aureus*. **A.** Imágenes de cultivo, representativas de muestras de ensayo, después de la administración de *S. epidermidis* inhibitor (JK16, cepa de tipo salvaje). Los hisopos nasales se cultivaron en agar con manitol hipersalino y con yema de huevo. **B.** Gráfica de los contajes bacterianos (UFC) de *S. aureus* de los hisopos nasales después de la administración de células de *S. epidermidis*. Se inoculó una cepa JK16 (círculos cerrados, n = 7) y una cepa isogénica deficiente en *Esp* (círculos abiertos, n = 6) en las cavidades nasales de los voluntarios. Las gráficas muestran la media y desviación estandar. * $P < 0,05$. NS, no significativo; DL, límite de detección. **C.** El estado de portador de *S. aureus* después de la administración de células de tipo salvaje de *S. epidermidis* (círculos cerrados, n = 7) y células deficientes de *esp* (círculos abiertos, n = 6). * $P < 0,05$. (Iwase et al. 2010).

5.4. *Staphylococcus lugdunensis*. Lugdunina:

Mientras que ya es conocida la capacidad y función de los microorganismos del suelo para competir entre ellos y su capacidad de producir antibióticos, rara vez ha sido planteada esta función para la microbiota humana. Actualmente gracias a los proyectos de secuenciación del genoma se ha podido concretar un poco más sobre la capacidad de las bacterias, para producir productos naturales, revelando su composición y la de sus productos. Dentro de estas bacterias se incluyen aquellas que pertenecen a la microbiota humana, que producen potentes antibióticos, convirtiéndose en un recurso para hacer nuevos compuestos antimicrobianos. En la revisión de Challinor y Bode (Challinor y Bode 2015), se destaca el potencial de estos productos naturales en bacterias aerobias y anaerobias, patógenos y simbioses de humanos, insectos y nematodos. Se comenta un punto muy interesante, que es la explotación de estas cepas productoras ayudado de la nueva metodología de investigación de productos naturales, ya que, todavía no se conocen las funciones de tales compuestos bioactivos en la interacción con la microbiota humana. Para más información remito al artículo comentado, y por tanto vamos a centrarnos en la microbiota nasal.

Por tanto, en un estudio previo para determinar la actividad antimicrobiana contra *S. aureus* (Krismer et al. 2014), se observó que las cepas estudiadas no afectaban en el crecimiento de *S. aureus*, excepto la cepa *S. lugdunensis* IVK28, que tenía la particularidad de prevenir el crecimiento. Esta situación sólo se produjo bajo condiciones limitantes de hierro y sólo en la superficie de agar sólido, pero no en cultivo líquido. Además, nichos ecológicos tales como los de la piel o las vías aéreas superiores presentan la particularidad de poseer pocos nutrientes, sugiriendo una situación de ventaja para las bacterias colonizadoras, ya que pueden utilizar una gran variedad de estrategias para así superar a los competidores (Krismer et al. 2014).

En base a este descubrimiento se comenzó a investigar el porqué de esta acción antibiótica de *S. lugdunensis*. En julio de 2016 se publicó un estudio sobre la producción de lugdunina por *S. lugdunensis*, un nuevo antibiótico (Zipperer et al. 2016). Este equipo estudió la cepa IVK28, donde se estudia la lugdunina a nivel genético, su biosíntesis y la estructura. La biosíntesis es muy extraña, al tratarse de una bacteria asociada a humanos, pues el compuesto bioactivo es sintetizado de una manera no ribosómica. Para poder determinar su estructura se utilizó la Resonancia Magnética Nuclear, un espectrómetro de masas de alta resolución con ionización por electrospray, y un análisis avanzado de Marfey, que demostró que se trataba de un péptido cíclico que contiene tiazolidina.

La importancia de la lugdunina es su potente actividad antimicrobiana frente a una amplia gama de bacterias Gram- positivas, donde se incluyen patógenos oportunistas como *S. aureus* SAMR de difícil tratamiento, enterococos resistentes a vancomicina, entre otros. Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) demostraron una alta potencia y actividad que no se vio alterada en presencia de suero humano (Tabla 2). La lugdunina se comportó como bactericida frente a SAMR y no causó la lisis de neutrófilos ni eritrocitos humanos, e incluso a altas concentraciones de lugdunina no se observó inhibición de la actividad metabólica de la línea celular HL60 de monocitos

humanos ($IC_{50} > 50 \mu\text{g ml}^{-1}$). La lugdunina actúa sobre los recursos energéticos bacterianos provocando una reducción de los mismos, basada en una detención, casi simultánea, de ADN, ARN, proteínas y/o precursores de la pared celular. En base a esto, la lugdunina se ha relacionado con la daptomicina.

Para estudiar la capacidad de la lugdunina de curar infecciones *in vivo*, se utilizó un modelo de infección cutánea sobre ratones, ya que se asemeja a la infección humana típica de *S. aureus*. Se apreció que el tratamiento con lugdunina con 1,5 μg condujo a una fuerte reducción e incluso a una erradicación completa de *S. aureus* en la superficie y en las capas más profundas de la piel, demostrándose la capacidad de la lugdunina para erradicar a *S. aureus* y penetrar los tejidos *in vivo*. Además, durante el proceso no se desarrolló ninguna resistencia, incluso bajo presión selectiva prolongada.

Tabla 2. Espectro de actividad de lugdunina (Zipperer et al. 2016)

Especies y cepas	Resistencia	Lugdunina CMI ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
<i>Staphylococcus aureus</i> USA300 (LAC)	MRSA	1.5
+ 50% de suero humano		1.5
<i>Staphylococcus aureus</i> USA300 (NRS384)	MRSA	1.5
<i>Staphylococcus aureus</i> Mu50	GISA	3
<i>Staphylococcus aureus</i> SA113		3
<i>Staphylococcus aureus</i> RN4220		3
<i>Enterococcus faecium</i> BK463	VRE	3
<i>Enterococcus faecalis</i> VRE366	VRE	12
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC19118		6
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC49619		1.5
<i>Bacillus subtilis</i> 168 (trpC2)		4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1		>50
<i>Escherichia coli</i> DH5 α		>59

MRSA, meticilin resistente *S. aureus*. GISA, glicopeptido intermedio- resistente a *S. aureus*. VRE, resistencia a vancomicina por Enterococos.

A la hora de estudiar la prevención de la colonización por *S. aureus* por parte de *S. lugdunensis* en la nariz humana, se examinaron a 187 pacientes hospitalizados (Tabla 3). Cabe destacar que el porcentaje de colonización de *S. aureus* en individuos positivos a *S. lugdunensis* (5,9%) fue aproximadamente 5,9 veces menor que en *S. lugdunensis*-negativos (34,7%). El análisis estadístico de chi cuadrado mostró, para toda la población del estudio, que la tasa de detección de *S. aureus* reducida en presencia de *S. lugdunensis*, fue significativa ($P = 0,015$).

Tabla 3. Distribución de *S. aureus* y *S. lugdunensis*, en pacientes hospitalizados (Zipperer et al. 2016).

	<i>S. lugdunensis</i> - positivo	<i>S. lugdunensis</i> - negativo	Total
<i>S. aureus</i> - positivo	1	59	60
<i>S. aureus</i> - negativo	16	111	127
Total	17	170	187
Riesgo	0.059	0.347	0.321

Diferencias significativas entre pacientes *S. lugdunensis*- positivos y *S. aureus*- negativos, analizados por el test de Chi cuadrado (P = 0,015).

Por tanto, *S. lugdunensis* y su producto antimicrobiano lugdunina juegan un papel crucial al tratar de evitar la colonización nasal por *S. aureus*. Rara vez vamos a poder aislar *S. aureus* de las axilas o de la ingle, algo que puede estar íntimamente relacionado con la producción e interacción de lugdunina en estos sitios, ya que también es un hábitat de *S. lugdunensis*.

Sin embargo, la utilización de bacterias probióticas como terapia alternativa para prevenir la infección ha sido realizado principalmente con patógenos entéricos, pero con el estudio anterior se sugiere que puede extenderse a las membranas de la mucosa nasal. De esta manera se ha propuesto a la lugdunina como un fármaco potencial para inhibir el crecimiento de *S. aureus* en las fosas nasales y potencialmente en otros sitios del cuerpo.

5.5. Otras interacciones:

En relación a la interferencia bacteriana, otras especies residentes en la nariz se comportan de una manera diferente, como por ejemplo las cepas de *S. pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, que dependiendo de la época del año en la que sean adquiridas pueden coexistir con las especies originales, entre las que se incluye, *S. aureus*. Algunos estudios muestran una relación inversa entre *S. aureus* y *S. pneumoniae*, pero sólo está demostrado en niños, y aun así no está descrito de una manera sólida (Brown et al. 2014). Se ha propuesto un mecanismo para intentar explicar esta competición entre especies. Se basa en que los neumococos tienen la capacidad de producir el suficiente peróxido de hidrógeno para inducir una respuesta de estrés, y así activar a los pro-fagos lisogénicos de *S. aureus*, siendo apoyado por una demostración *in vitro*, que dio como resultado la lisis de células estafilocócicas y la muerte celular (Selva et al. 2009). Otro ejemplo de interferencia bacteriana lo vemos en el amplio uso de la vacuna neumocócica polivalente lo que ha llevado a un aumento del estado de portador de *S. aureus* en los receptores de la vacuna (Mulcahy y McLoughlin 2016).

Con respecto al *S. pneumoniae*, se va a encontrar ausente en los niños, en aquellas situaciones en las que se encuentra la bacteria *Dolosigranulum pigrum* de manera incrementada (de Steenhuijsen Piters, Sanders, y Bogaert 2015). Lo interesante de ésta última bacteria es su interacción con *S. aureus* en los adultos de avanzada edad, donde aparentemente, *D. pigrum* sirve como predictor de la ausencia de colonización por *S. aureus* (Liu et al. 2015). El estudio asoció al género *Dolosigranulum* spp. como el mejor predictor de presencia o ausencia de *S. aureus*. Se demostró, en un grupo aleatorio de 100 individuos, que el umbral era de $1,2 \times 10^6$ de copias de 16S rRNA de *Dolosigranulum* por hisopo. La existencia de *Dolosigranulum* por encima de ese umbral va a predecir la ausencia de *S. aureus*. De la misma manera podemos hablar de *Simonsiella*, que también mostró una relación negativa similar con *S. aureus*, de tal forma que aquellos individuos con una abundancia inferior al umbral de *Dolosigranulum* pero con *Simonsiella* $\geq 1,1 \times 10^5$, también se podría utilizar para predecir la ausencia de *S. aureus* (Figura 10).

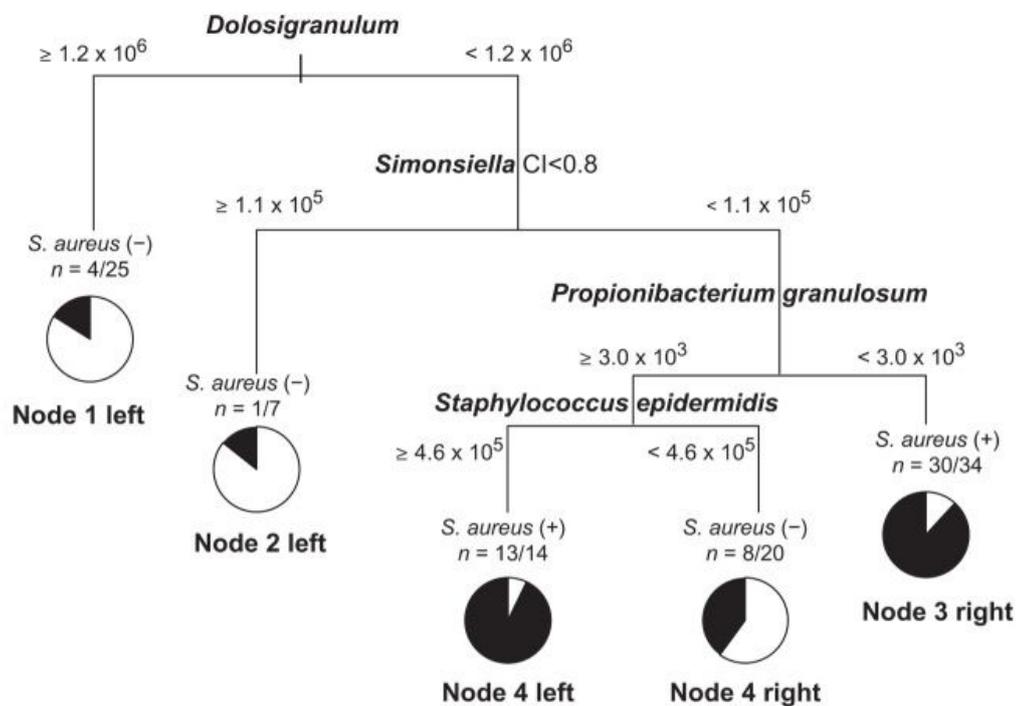


Figura 10. Diagrama de árbol mostrando las relaciones entre la abundancia absoluta de comensales nasales y la presencia/ausencia de *S. aureus*. El modelo que predice la presencia/ausencia de *S. aureus* fue descrito a partir de una distribución aleatoria en grupos de 100. Se estimó para *Dolosigranulum* un umbral de $1,2 \times 10^6$ copias de 16S rRNA por hisopo. *Dolosigranulum* por encima del umbral predice la ausencia de *S. aureus* ($n = 4/25$, 16.0%), en comparación con la tasa de colonización nasal de *S. aureus* ($n = 56/100$, 56%). *Simonsiella* tuvo también una relación negativa con *S. aureus* de tal forma que entre los individuos que tenían una abundancia inferior al umbral de *Dolosigranulum*, pero con $\geq 1,1 \times 10^5$ de *Simonsiella*, predice la ausencia de *S. aureus* ($n = 1/7$, 14,3%) (Liu et al. 2015).

No solo existe interferencia bacteriana, sino que podemos ver interacciones entre reinos, así es que también vamos a ver situaciones de coinfección con *Candida albicans*. Se demostró un aumento de la virulencia y la mortalidad en las infecciones sistémicas por *S. aureus* al producirse un sinergismo mediado por *Candida* (Carlson 1983). Más recientemente se demostró, gracias a un estudio sobre la peritonitis polimicrobiana fúngico-bacteriana en un modelo murino (Peters y Noverr 2013), que la asociación dual entre *S. aureus* y *C. albicans* presentaba una elevada mortalidad (aproximadamente del 40%), sin embargo la infección por separado no era letal. La explicación está en la potenciación por parte del hongo, que va a aumentar las citocinas proinflamatorias (interleucina-6, factor estimulante de colonias de granulocitos, quimioatrayente de queratinocitos, proteína quimioatrayente de monocitos-1 y proteína-1 α inflamatoria de macrófagos), el aumento de las prostaglandinas E2 (PGE2) y la infiltración en órganos. Con este experimento en ratones, se demostró la modulación fúngico-bacteriana de la respuesta inmune innata del huésped.

Un punto que no ha sido tratado todavía es la existencia de una influencia por parte de la microbiota intestinal sobre la microbiota nasal y las vías respiratorias superiores. La microbiota intestinal puede influir en la inmunidad de otros sitios de la mucosa, de tal forma que respuestas inmunes generadas en la mucosa intestinal pueden conferir inmunidad protectora en otros sitios distales de la mucosa (Mulcahy y McLoughlin 2016). Una evidencia indirecta de tal influencia se ha puesto de manifiesto en un estudio reciente sobre la superinfección por *S. aureus* tras la infección por virus Influenza (Planet et al. 2016). Se mostró que la respuesta inmune provocada por la infección del virus de la gripe, estimulaba un aumento y una reestructuración de la microbiota respiratoria superior en ratones salvajes, cosa que no ocurría en los ratones mutantes que carecían del receptor IL-28 para el interferón tipo III. Los ratones que carecían del mencionado receptor no lograron inducir la fosforilación de STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription1), ni la expresión de su regulador, SOCS1 (Suppressor of Cytokine Signaling1); por tanto, mostraron una expresión aumentada de interleucina-22 (IL-22) en la cavidad nasal. Por medio de un análisis proteómico fueron revelados cambios en varias proteínas del citoesqueleto encargadas de la función de barrera en el epitelio nasal, que puede deberse al efecto de la señalización de IL-28 en la microbiota, y por ello la ausencia de IL-22. Por tanto, se concluyó que la infección por influenza altera la composición de la microbiota en las vías respiratorias superiores, lo que lleva a una mayor abundancia de estafilococos comensales, a través de un mecanismo que depende del interferón tipo III inducido por el virus influenza llevando a la inhibición de la IL-22. Es decir, la infección por influenza aumenta la susceptibilidad de presentar una neumonía por SAMR (Planet et al. 2016).

En definitiva, este estudio puso de manifiesto que la microbiota intestinal puede influir en el curso de las infecciones virales, entre las que está incluida la gripe, de tal forma que la microbiota intestinal puede afectar indirectamente a la colonización de las vías respiratorias por *S. aureus*, más concretamente de las fosas nasales, al influir en las vías de señalización inducidas por infecciones virales (Mulcahy y McLoughlin 2016).

6. La inmunorregulación durante la colonización por *S. aureus*:

La persistencia de *S. aureus* y su eliminación de las fosas nasales, va a depender de la comunicación existente entre las vías de señalización inmunológica de la nariz y la bacteria (Figura 11). Esto va a consistir en varios factores inmunes innatos y adaptativos del huésped que van a facilitar el estado de portador o la eliminación de *S. aureus* de la nariz (Mulcahy y McLoughlin 2016):

- Estado de portador: *S. aureus* se adhiere a las células epiteliales descamadas (squames) en las fosas nasales anteriores a través de adhesinas bacterianas ClfB e IsdA que se unen a proteínas estructurales de envoltura cornificada (CE), incluyendo loricrina, K10, involucrina y filaggrina. *S. aureus* también se adhiere a las células epiteliales en la cavidad nasal interna a través de una interacción entre el ácido teicoico de la pared (WTA) y el receptor *scavenger* SREC-1. Las cepas portadoras de *S. aureus* pueden retrasar la expresión de TLR2 y disminuir la producción de péptidos antimicrobianos (AMP) tales como β -defensinas (Figura 11, A).
- Eliminación del estado de portador: La activación de TLR2 por *S. aureus* puede conducir a la producción local de péptidos antimicrobianos (AMP) por los queratinocitos. En estudios en seres humanos, la expresión de quimiocinas de neutrófilos, tales como IL-8, y citoquinas proinflamatorias, incluyendo IFN γ , IL-6 y TNF- α , así como un aumento en la relación IL-1RA / IL-1 β , están asociadas con la eliminación de *S. aureus* de las fosas nasales. La producción de IL-6 también puede disminuir la expresión de loricrina y K10. En estudios murinos, la producción de IL-17 a partir de células Th17 provoca la afluencia de neutrófilos a la nariz facilitando la eliminación de la bacteria. La IL-22 producida por células T o células linfoides innatas impulsa la producción de péptidos antimicrobianos (AMP) y puede mediar la regulación negativa de la loricrina y la expresión de K10 (Figura 11, B).

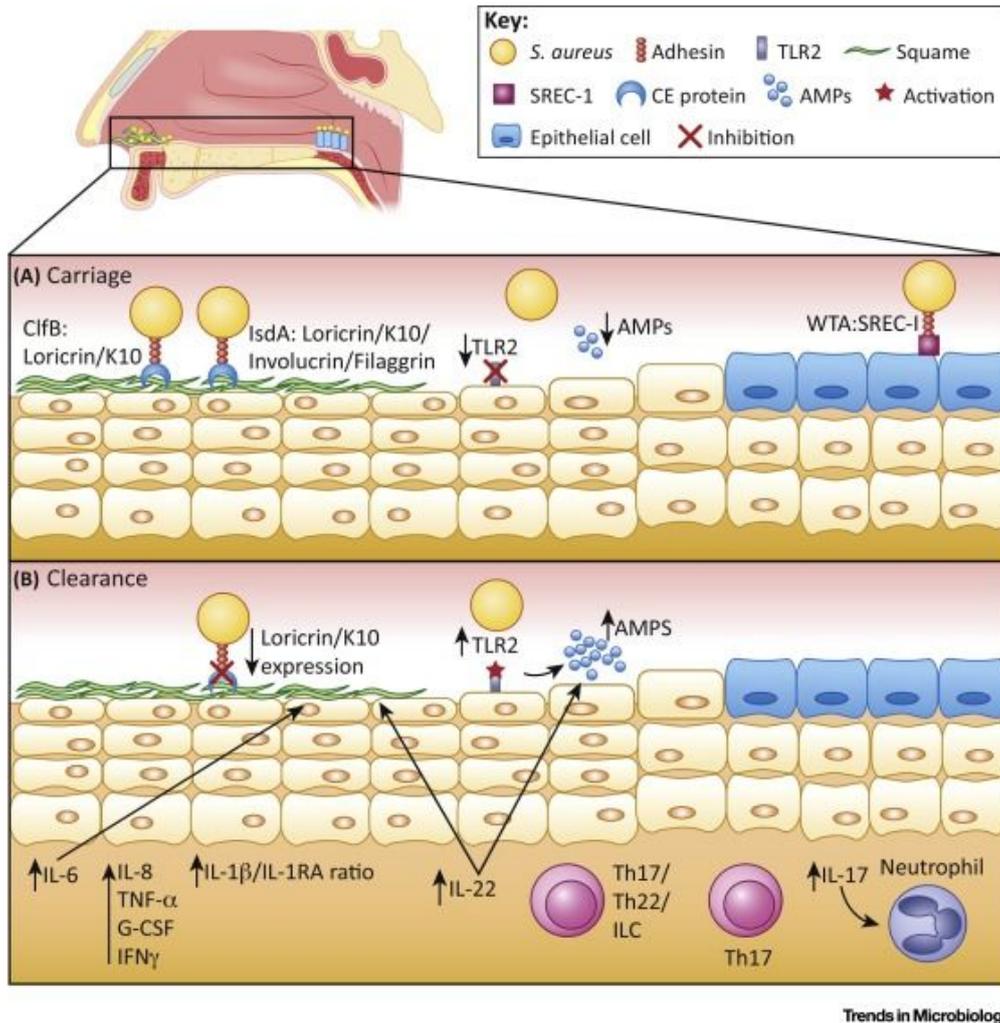


Figura 11. Factores innatos e inmunes del huésped implicados en el estado de portador(A) y en la eliminación (B) de *S. aureus* de la nariz (Mulcahy y McLoughlin 2016).

La diferencia existente entre las cepas de *S. aureus* de los no-portadores y la persistencia existente en los portadores, puede deberse a la capacidad de estas cepas a la hora de expresar unas cantidades mayores de proteínas inmunomoduladoras. Por medio de un análisis del exoproteoma de las cepas de *S. aureus* presentes en los portadores se observó que la proteína estafilocócica A (SpA) estaba presente en cantidades significativamente mayores en cepas de portadores en comparación con la de los no-portadores (Muthukrishnan et al. 2011). Posteriormente, se profundizó en el papel de SpA utilizando un modelo humano *in vivo* (Cole et al. 2016). El estudio se basó en medir el tiempo de duración del estado de portador (persistencia de la colonización) de *S. aureus* y medir también los marcadores inflamatorios en el líquido nasal. Para ello utilizaron cepas de *S. aureus* que habían sido previamente aisladas. En el estudio realizaron 15 inoculaciones de *S. aureus* (de sus propias cepas) a 8 individuos sanos (a los que se les había eliminado previamente el *S. aureus* por tratamiento con el antibiótico mupirocina) durante 5 días. De los 15 estudios de inoculación nasal, 10 eliminaron de forma rápida a la cepa inoculada (9 ± 6 días),

presentando una regulación positiva de quimiocinas, factores de crecimiento y predominantemente citoquinas Th1, pero no se encontró IL-17. Los sujetos en los que se mantuvo la persistencia de las cepas presentaron niveles basales elevados de proteína inflamatoria de macrófagos 1 β , IL-1 β e IL-6. Además, no se produjo una inducción de los factores inflamatorios post-inoculación, y se vio un descenso de la ratio entre el receptor agonista IL-1/IL-1 β . Por otra parte, se demostró que la presencia de SpA se correlacionaba positivamente con la duración del estado de portador nasal de *S. aureus*.

Mediante ensayos *in vivo* de inoculación nasal competitiva con *S. aureus* wild type (WT) y mutante Δ SpA se observó que la cepa knockout se eliminaba más rápidamente, y que disminuía la tasa de supervivencia al ser cultivada *in vitro* con neutrófilos (Cole et al. 2016). Además, en otros estudios *in vitro* se observó que SpA interactúa con el receptor TNF-1 (TNFR1), sobre las células epiteliales superficiales de las vías respiratorias humanas, imitando la señalización del TNF- α ; sin embargo, aún queda por establecer si este mecanismo es relevante en la colonización nasal. Aunque todavía no está muy claro cuál es el papel que juega SpA en la colonización nasal por *S. aureus*, si es ampliamente conocida su intervención en la evasión inmune durante la infección (Mulcahy y McLoughlin 2016).

Durante la infección crónica, *S. aureus* es capaz de ejercer inmunosupresión con el fin de facilitar su persistencia. Es ampliamente conocido que *S. aureus* es capaz de establecer biofilms en los dispositivos médicos. Se ha observado que esos biofilms activan la inducción de las respuestas antiinflamatorias, inhibiendo la respuesta de las células T y de las citoquinas. Esto es mediado por la expansión de las células supresoras derivadas de mielóide (MDSC) que producen IL-10 y la polarización de los macrófagos M2 (Heim et al. 2014). Es sabido que, durante la colonización y la infección, los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) expresados por *S. aureus* van a ser detectados por el sistema inmune innato humano. A pesar de esto, existen evidencias de que la producción de citoquinas pro- y antiinflamatorias inducidas por *S. aureus* puede provocar un desacople del sistema inmune, evitando la detección de los PAMPs, y evitando la respuesta inmune. Este desacople es debido a la capacidad del organismo para manipular la plasticidad del Toll-like receptor 2 (TLR2) (Peres et al. 2015). Se demostró la capacidad dual por parte de *S. aureus*, ya sea para una respuesta proinflamatoria a través de p38 o una respuesta antiinflamatoria a través de fosfoinositol-3 quinasa (PI3K)–Akt–mTOR y otras quinasas reguladas por señales extracelulares (ERK). El desacoplamiento también se observó a nivel de la fagocitosis y del procesamiento fagosomal de *S. aureus* (sólo requerido para la respuesta proinflamatoria).

Todo esto sugiere la existencia de ligandos estafilocócicos que se expresan en la superficie bacteriana y funcionan como inmunomoduladores que conducen a cambios en la señalización de la respuesta inmune innata, promoviéndose la tolerancia inmune (respuesta antiinflamatoria), así como la eliminación microbiana (respuesta proinflamatoria). A pesar de que estos ligandos están aún sin identificar, podemos concluir que las cepas de *S. aureus* que promueven la tolerancia inmune, pueden tener una ventaja a la hora de mantener su persistencia, como por ejemplo en las fosas nasales, al inducir selectivamente la respuesta antiinflamatoria.

7. La microbiota nasal en la salud y la enfermedad:

El microbioma presente en un sujeto sano es la consecuencia de las interacciones altamente reguladas que existen entre el huésped y los microorganismos presentes en los diferentes ecosistemas del cuerpo. Estas interacciones han sido completamente desconocidas durante años y sólo recientemente se han empezado a conocer en términos mecanicistas. El hecho de que existan bacterias “comensales”, ya sea en el intestino, la orofaringe o la misma cavidad nasal, implica que estas bacterias tienen que tener algún propósito útil. Algunos de estos propósitos se han visto confirmados actualmente, gracias a procesos como la digestión de alimentos y el desarrollo de inmunotolerancia hacia ciertas enfermedades alérgicas y autoinmunes. Una confirmación de la existencia de procesos reguladores que rigen la relación existente entre las bacterias comensales y el huésped, también implica que las alteraciones en esta regulación pueden conducir a la aparición de enfermedad. Actualmente existen datos para apoyar esta afirmación en las enfermedades de las vías respiratorias altas, como el caso de la rinosinusitis crónica (RSC) (Wilson y Hamilos 2014).

Centrándonos en las comunidades bacterianas del tracto respiratorio superior, sabemos que juegan un papel importante a la hora de prevenir el establecimiento de una infección con su consecuente extensión a las vías respiratorias inferiores. Así es que, para la mayoría de las bacterias patógenas respiratorias, la colonización es el primer paso antes de poder causar una infección ya sea de vías altas o bajas o incluso una infección respiratoria diseminada. De esta manera, una inhibición de este primer paso por la microbiota respiratoria, proceso conocido como “resistencia a la colonización”, debe ser de vital importancia. Además, si un patógeno coloniza la superficie mucosa, debe aportar un beneficio tanto a la microbiota como al hospedador, por lo que debe de mantenerse controlado el sobrecrecimiento, inflamación y la consecuente diseminación local o sistémica. Además, esta relación simbiótica, probablemente juega un importante papel en la maduración estructural del tracto respiratorio y en el desarrollo de la inmunidad local (Man, de Steenhuijsen Piters, y Bogaert 2017).

En la rinosinusitis crónica (RSC) caracterizada por una inflamación prolongada de los senos paranasales, la asociación existente entre los casos de RSC y la microbiota nasal es bastante complicada, ya que existe una gran variación de las comunidades microbianas notificadas en diferentes estudios. Estas variaciones tienen una causa etiológica poco conocida, pero podría deberse a la diferencia poblacional de los pacientes (por ejemplo, historia de uso de antibióticos, origen étnico, etc), metodología del estudio, genética, factores ambientales o simplemente a una variación natural entre diferentes partes de los conductos nasales y los senos nasales (Biswas et al. 2015).

Las características de la microbiota en el sujeto sano ya han sido comentadas al principio de la revisión, por lo que para más información remito a los puntos 2 y 3. Por tanto, vamos a centrarnos en las situaciones de enfermedad que afectan a las fosas nasales.

Por tanto, vamos a comenzar definiendo la RSC, ya que es una situación de enfermedad prevalente en las fosas nasales, y que vamos a comentar de una manera más amplia. Se conoce como un trastorno inflamatorio persistente localizado en los senos paranasales, donde la presencia de bacterias puede demostrarse por medio de cultivo de las secreciones sinusales o por técnicas más modernas usadas en el análisis de microbiomas como la secuenciación del 16S rRNA de las secreciones o de las muestras de tejido. Un importante predictor de la enfermedad y de una mala respuesta a tratamiento médico y/o quirúrgico es la persistencia de las bacterias en la superficie de la mucosa de los senos paranasales (Wilson y Hamilos 2014).

En relación a la composición microbiológica en sujetos con RSC se observó que en las fosas nasales existe una incidencia aumentada de infección por rinovirus, sin embargo, en la mayoría de los casos, no hay evidencia de infección viral persistente. Los estudios de los biofilms bacterianos han contribuido a incrementar el conocimiento de la patogénesis de la RSC. Así, en estudios de cultivo sinusal intraoperatorio con análisis simultáneo de cultivos y biofilm en casos de RSC refractario, se vio un predominio de *S. aureus* y *P. aureginosa*, donde las bacterias atípicas rara vez estaban presentes. También se ha estudiado el papel de los hongos en la formación de biofilm en pacientes con RSC observando que los sujetos control sanos y los pacientes con RSC presentaron un cultivo fúngico positivo en las secreciones nasales, con una amplia variedad de hongos aislados, pero no se descarta que los sujetos con RSC presentaran una “carga de hongos” aumentada, especialmente de las especies de *Alternaria* (Hamilos 2013). Es importante señalar que la función epitelial de barrera es importante para mantener la hidratación de la mucosa y evitar la entrada de los microorganismos a las capas subepiteliales. Sin embargo en los sujetos con RSC no se han descrito defectos en las proteínas de unión estrecha epitelial (que puedan favorecer una infección) ni defectos primarios en el aclaramiento mucociliar (Hamilos 2013).

En un estudio realizado en 2015 (Biswas et al. 2015) se investigó la variabilidad espacial de la microbiota nasal tanto en individuos sanos (6 individuos) como en pacientes con rinosinusitis crónica (9 pacientes). En el estudio se observó una variabilidad más grande de lo esperado debido en parte a la dificultad de medir variables ambientales tales como interacciones biológicas y factores ambientales externos. Concretamente, los parámetros examinados específicamente en ese estudio sólo representaron el 41% de la variabilidad observada, por lo que en estudios futuros se debería tener en cuenta otros factores que midan la interacción del huésped (como por ejemplo las citoquinas) junto a los componentes microbianos. Las dificultades de un estudio de estas características son los pequeños tamaños de cohorte, que además tienen que cumplir unos requisitos nada fáciles. Uno de tales requisitos es que a los pacientes no se les haya administrado antibióticos 4 semanas antes de la cirugía y sumado a la dificultad de obtener las muestras (mediante la cirugía endoscópica del seno), inevitablemente va a condicionar unos tamaños muestrales muy pequeños. A pesar de todo, este estudio es comparable a otros ya publicados y por tanto es suficiente para presentar resultados significativos para una comparación entre pacientes y el estado de enfermedad (Biswas et al. 2015).

Por otra parte, los resultados de este estudio mostraron una alta variabilidad inter-individual en la microbiota nasal debido a las diferencias interpersonales y las variaciones en el estado de enfermedad (RSC vs sujeto sano), pero menor que la diferencia entre pacientes. Además, las ligeras variaciones observadas en la cohorte sana pueden deberse al tabaquismo, ya que previamente se había demostrado que fumar, en sujetos sanos, es el responsable de que la proporción relativa de Firmicutes aumente, y la de Actinobacteria disminuya (Ramakrishnan et al. 2013). En cambio, entre la cohorte de RSC sólo un sujeto era fumador, por lo que la variabilidad de composición bacteriana entre individuos con rinosinusitis crónica sigue siendo en gran parte inexplicable.

En el estudio realizado por Biswas et al. (Biswas et al. 2015) también se determinó la cantidad de bacterias o abundancia bacteriana presente en los 15 sujetos, utilizando para ello la PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) dirigida al 16S rRNA, observándose que era muy variable entre los individuos y no estaba relacionada con el estado de enfermedad. Sin embargo, otros estudios que utilizaron diferentes técnicas para analizar las bacterias sí que encontraron una carga significativamente mayor en pacientes con RSC, en particular de *S. aureus*, comparada con controles normales (Boase et al. 2013). Los resultados del estudio concluyeron que los sujetos con rinosinusitis crónica presentaban un mayor grado de variación en la composición de la comunidad bacteriana (en comparación con los individuos sanos), pero la diversidad bacteriana se vio significativamente reducida. Por tanto, la estructura bacteriana más estable presente en los individuos sanos sugiere que la disbiosis en la comunidad microbiana puede estar relacionado con la aparición de RSC. Además, esta disbiosis microbiana también podría deberse a los múltiples ciclos de antibióticos a los que son sometidos los pacientes con RSC en los años previos a la cirugía, algo que a su vez podría contribuir a la menor diversidad bacteriana existente (Liu et al. 2013). Una consecuencia importante de este estudio es que no se detectaron diferencias significativas en cuanto a la diversidad bacteriana, composición o cantidad de bacterias entre individuos sanos y sujetos con RSC en los diferentes sitios analizados dentro de las fosas nasales. Además, los diferentes lados de la cavidad nasal contenían esencialmente la misma microbiota, hallazgo importante de este estudio.

En resumen, uno de los hallazgos clave de los estudios realizados en pacientes con rinosinusitis crónica es que la microbiota de estos pacientes se caracteriza por tener menos uniformidad y diversidad que en los sujetos sanos (Figura 12). A pesar de que la carga bacteriana total es similar en sujetos sanos y pacientes con RSC, sí que se ha observado un aumento en la carga de ciertos organismos, especialmente *S. aureus* en varios estudios. Ciertos taxones o especies bacterianas pueden ser protectores frente a un desarrollo de RSC, especialmente los del orden *Lactobacillales* y las especies *L. sakei*, aunque esto no ha sido apoyado en todos los estudios. Por el contrario, ciertos taxones o especies pueden ser particularmente nocivos, sobre todo los miembros de la familia *Corynebacteriaceae* y las especies *C. tuberculostearicum*, aunque estas observaciones pertenecen a un solo estudio. Claramente, se necesitan más estudios, particularmente en poblaciones de pacientes con RSC más grandes y bien caracterizadas. Además, se necesita más trabajo para evaluar la microbiota en relación con la presencia de biofilm o de bacterias intraepiteliales (Wilson y Hamilos 2014).

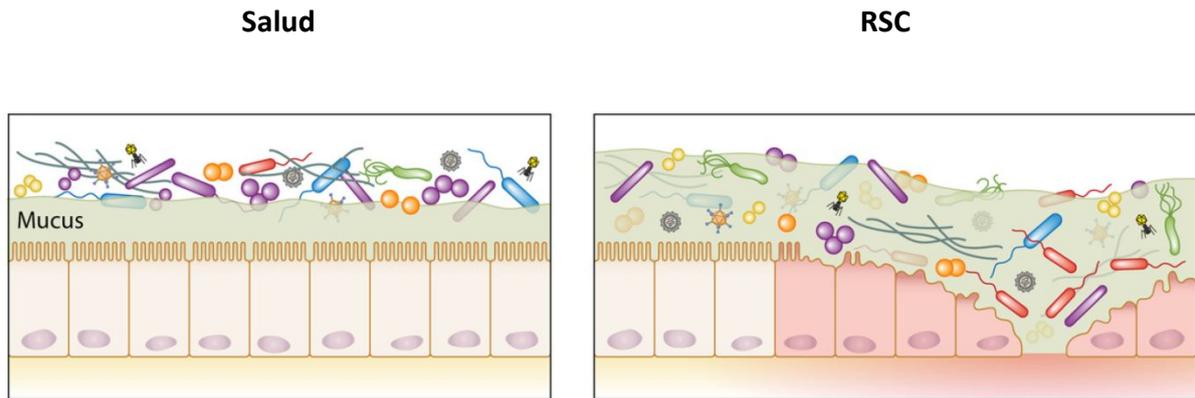


Figura 12: Alteraciones de la mucosa y microbiota en la salud y en el estado de rinosinusitis crónica. En la RSC se observa menor diversidad bacteriana pero similar carga bacteriana. Imagen adaptada de (Hoggard et al. 2017)

Buscando líneas futuras, con idea de comprender un poco mejor si las anomalías observadas en los sujetos con rinosinusitis crónica se deben a defectos primarios o secundarios a inflamación crónica, infección y/o el uso de antibióticos, se ha hipotetizado que en individuos sanos, la microbiota del meato medio y de la cavidad sinusal pueden depender en gran medida de los altos niveles constitutivos de NO (óxido nítrico) existentes en el compartimento gaseoso sinusal, o bien a la presencia de otros péptidos antimicrobianos que se encuentran en el líquido sinusal. Esto se podría llevar a cabo en sujetos sanos correlacionando los niveles de NO y las características de la microbiota, que, además, también podría servir para comprender mejor la importancia de las vías inmunitarias innatas, tales como los receptores de sabor amargo, en el mantenimiento de los niveles constitutivos del NO y el mantenimiento de la cavidad nasal libre de probables patógenos que sí están presentes en situación de rinosinusitis crónica (como por ejemplo *C. tuberculoostearicum*, *S. aureus* o *P. aeruginosa*) (Wilson y Hamilos 2014). Esto sí se ha puesto de manifiesto en pacientes con rinosinusitis crónica y con receptores de sabor amargo no funcionantes (fenotipo TAS2R) los cuales presentaron una mayor carga de infección con *P. aeruginosa* y una inflamación de la mucosa de los senos más severa (Lee et al. 2012).

Por tanto, se puede concluir que tradicionalmente las alteraciones microbiológicas se han relacionado con enfermedades con un carácter inflamatorio crónico, como la obesidad, el EPOC y el asma, y más recientemente, como ya se ha comentado, con la rinosinusitis crónica. Sin embargo, la influencia de la microbiota en infecciones agudas de las vías respiratorias superiores e inferiores es cada vez más importante (de Steenhuisen Piters, Sanders, y Bogaert 2015). Las infecciones agudas no complicadas del tracto respiratorio superior son muy prevalentes y causan una morbilidad considerable en todo el mundo. Por el contrario, las infecciones del tracto respiratorio inferior son menos frecuentes, pero van a presentar una tasa de mortalidad más elevada. Históricamente, el nicho del tracto respiratorio superior es considerado como el nicho ecológico de *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *S. aureus*. Con el fin de entender un poco mejor todo esto, se utilizó la secuenciación masiva para secuenciar la

microbiota nasal de niños sanos y niños que sufrían de infecciones del tracto respiratorio superior, concretamente de otitis media aguda (OMA), revelando que la colonización y la densidad del patógeno potencialmente dañino (*S. pneumoniae*, *M. catarrhalis* ó *H. influenzae*) estaba relacionado con un microbioma distribuido de una manera menos uniforme, sugiriendo una reducción de los comensales. Esto es apoyado por las observaciones que demuestran como un incremento de los tres patógenos anteriormente mencionados va acompañado de una disminución de los comensales *Lactococcus*, *Anoxybacillus*, *Corynebacterium* y *Dolosigranulum* spp. Además, en contraste con el aumento de la cantidad de *Haemophilus* y *Streptococcus* spp., y de miembros de la familia *Pasteurellaceae* que tiene lugar durante la otitis media aguda, un incremento de *Dolosigranulum* y *Corynebacteria* spp. se asoció con la ausencia de OMA (Pettigrew et al. 2012).

Desafortunadamente, no existen todavía estudios disponibles utilizando métodos de secuenciación masiva para determinar una posible asociación entre la microbiota del tracto respiratorio superior y la rinosinusitis aguda, la laringitis o la faringitis. Los estudios convencionales, sin embargo, sugieren que la rinosinusitis aguda es causada con mayor frecuencia por agentes virales, aunque en un número limitado de casos se ha observado una infección bacteriana secundaria por, entre otros, *S. pneumoniae* y *H. influenzae*. De forma similar, la mayoría de los casos de laringitis infecciosa tienen un origen viral, potencialmente predisponente a la laringitis bacteriana, causada por patógenos como *H. influenzae* tipo b, *S. pneumoniae*, *S. aureus*, estreptococos β -hemolíticos, *M. catarrhalis* y *Klebsiella pneumoniae*. Sin embargo, el posible papel protector por parte de las bacterias comensales en estos procesos patogénicos ha sido ignorado hasta ahora. Por lo tanto, se puede concluir que la microbiota del tracto respiratorio superior de un sujeto sano, en general proporciona una resistencia a la colonización, que se define como la resistencia a la adquisición y establecimiento de un nuevo patógeno, o como la restricción a bacterias potencialmente patógenas que residen entre comensales en un microbioma equilibrado (de Steenhuijsen Piters, Sanders, y Bogaert 2015).

8. Papel de los SAMR en la colonización nasal

Las infecciones causadas por bacterias altamente resistentes a los antibióticos han aumentado considerablemente en los últimos años y representan una causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo, incluso en los países desarrollados. Los organismos resistentes a múltiples fármacos, como el *S. aureus* resistente a meticilina, los enterococos resistentes a la vancomicina y las bacterias Gram-negativas resistentes a cefalosporinas de tercera generación, se espera que se conviertan en causas de muerte más frecuentes que el cáncer en las próximas décadas (Zipperer et al. 2016).

La cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina (SAMR) fue descrita por primera vez en 1960 y desde entonces hemos asistido a un incremento notable y continuo en el porcentaje de aislamientos pertenecientes a SARM, tanto a nivel de la comunidad como intrahospitalario, siendo, en el año 2007 y en los hospitales de España, el

causante principal del 31% de las bacteriemias (García-Vázquez et al. 2007). Además, tenemos que tener en cuenta que los SAMR presentan una mortalidad aumentada, siendo de un 33%, con respecto a la de los *S. aureus* meticilín sensibles que es de un 19% (Bessesen et al. 2015). La colonización nasal es un potente factor de riesgo para que se produzca una infección por parte de *S. aureus*; concretamente se ha visto que el riesgo se incrementa de 3 a 13 veces. En un estudio sobre bacteriemia nosocomial producida por *S. aureus* se observó que la mayoría de los casos presentaban colonización nasal en el momento del ingreso. En el 80% de los casos de bacteriemia se observó que la cepa infectante era idéntica a la cepa colonizante, recuperada antes de la infección, confirmando que la colonización nasal es el predecesor a la infección (Bessesen et al. 2015).

Claramente hay que conocer cuál es la prevalencia del SAMR en las fosas nasales ya que como hemos visto aumenta el riesgo de infección en los individuos colonizados y además facilita la extensión del patógeno a los contactos estrechos. Los intentos de abordar el problema de la prevalencia del SAMR en las fosas nasales han llevado a la práctica generalizada de descolonización nasal de SAMR tanto en los centros de salud como en la comunidad. Sin embargo, la práctica estándar prescrita por la mayoría de médicos no previene la colonización de los pacientes. Por ejemplo, los pacientes que reciben una administración rutinaria de mupirocina en las fosas nasales y un lavado corporal con hexaclorofeno, se encuentran, con relativa frecuencia, de nuevo colonizados a los pocos meses, especialmente si se mantiene un contacto muy estrecho con los pacientes colonizados por SAMR. Además, un uso extendido de la mupirocina provoca un aumento inaceptable de las resistencias a dicho antibiótico (Park, Iwase, y Liu 2011).

A la hora de definir qué papel juega la microbiota nasal en pacientes hospitalizados que están colonizados persistentemente por SAMR, pacientes que están sometidos a una fuerte exposición a SAMR con alto riesgo de infección sintomática y mortalidad considerable, Bessesen et al (Bessesen et al. 2015) realizaron un estudio en el que compararon la microbiota asociada de 26 pacientes colonizados persistentemente por SAMR con 26 controles no colonizados. Las microbiotas nasales fueron analizadas mediante amplificación por PCR y posterior secuenciación de la región V1V2 del gen ribosomal 16S rRNA (esta región discrimina entre *S. aureus* y *S. epidermidis*). Se observó que las comunidades bacterianas nasales de los sujetos colonizados con SAMR (de los 26 pacientes claramente identificaron 22 aislamientos de SAMR) eran 2.2 veces menos diversas que las de los sujetos no colonizados con SAMR, indicando que las comunidades con SAMR eran más similares entre sí que las del grupo de los no colonizados. Al mismo tiempo se observó una asociación negativa entre colonización con SAMR y el género *Streptococcus*. A nivel de especie, *S. mitis* fue la más común entre los sujetos no colonizados. Para excluir el impacto del uso de los antibióticos, los análisis se repitieron en subgrupos de pacientes y controles que habían estado expuestos a los antibióticos en el mes previo al ingreso y en aquellos sin exposición. Aun así, la asociación negativa entre SAMR y *S. mitis* persistió en ambos subgrupos.

También realizaron ensayos de competición en placa con SAMR y *S. mitis*, observando que este último había inhibido el crecimiento de cada uno de los 22 aislamientos de SAMR. La adición de 200 U/ml de catalasa a los medios bloqueó esta inhibición sugiriendo que la inhibición era debida al peróxido de hidrógeno (Figura 13).

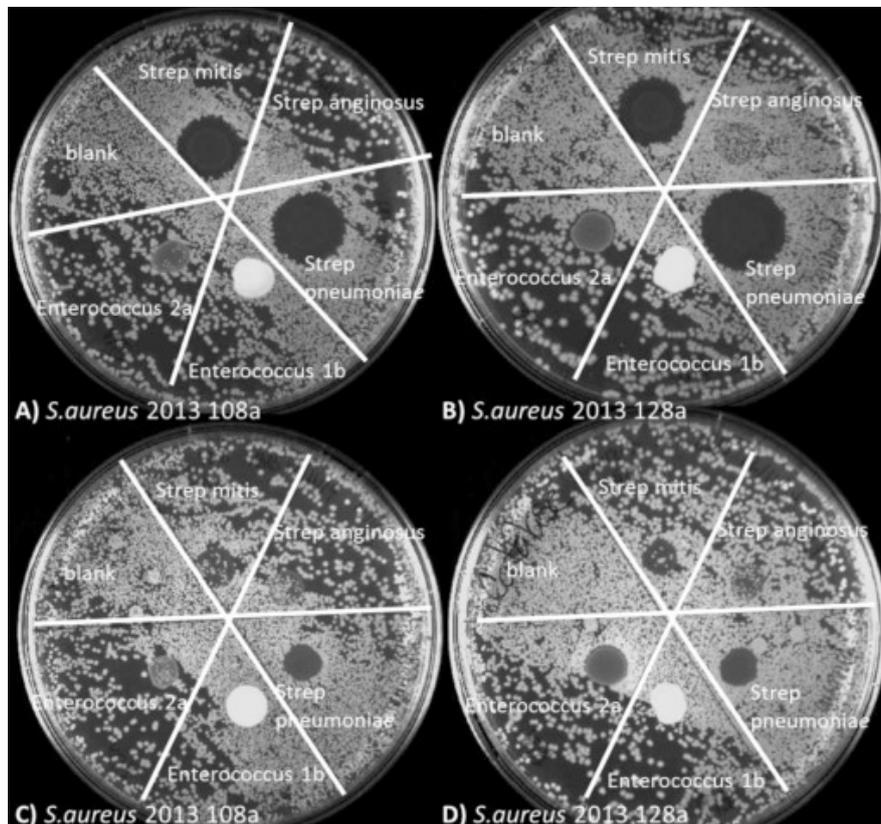


Figura 13. Inhibición del crecimiento de SAMR por *Streptococcus mitis*. La cepa de SAMR fue inoculada sobre la superficie de una placa de agar TSA y los organismos competidores fueron colocados en gotas sobre la placa en la sección indicada. Los paneles A y B muestran cocultivo de dos cepas representativas de SAMR con *S. mitis*. Los paneles C y D muestran los mismos experimentos de cocultivo con la adición de catalasa a los medios (Bessesen et al. 2015).

En el trabajo también se observó una disminución significativa en la colonización de SAMR entre los sujetos colonizados por *Lactobacillus gasseri* así como una tendencia hacia la disminución de la colonización de SAMR entre los sujetos colonizados con *Kocuria palustris*. Se ha demostrado que ambos organismos inhiben *S. aureus in vitro*, donde *K. palustris* produce kocurina, un péptido de tiazolilo con actividad contra SAMR. *L. gasseri* produce la inhibición por medio de peróxido de hidrógeno, y también activa macrófagos *in vitro*. Es importante remarcar que la identificación de *K. palustris* y *L. gasseri* como constituyentes de la microbiota nasal humana es única en este estudio. Por lo tanto, *S. mitis*, *L. gasseri* y *K. palustris* podrían ser investigados para su uso como probióticos.

Las conclusiones de este estudio, que representan uno de los mayores análisis hasta la fecha del papel de la microbiota nasal en la defensa del huésped contra la colonización de SAMR, son las asociaciones negativas encontradas por parte de *S. mitis* y *Lactobacillus gasseri*.

Otro estudio basado en un modelo de ratón y realizado con intenciones de buscar una estrategia probiótica para prevenir la colonización por SAMR (Park, Iwase, y Liu 2011) comenta la clara desventaja de utilizar mupirocina, ya que la utilización del antibiótico tópico podría conducir a la erradicación de la microbiota nasal endógena, y sin microbiota de reemplazo, permitiría que el SAMR colonizase, junto a otras desventajas ya comentadas a lo largo de esta revisión. Se podría especular que las personas que reciben tratamiento antibiótico para cualquier infección podrían ser susceptibles a la colonización de SARM debido a la erradicación de la microbiota nasal competidora. En este estudio se demostró que la administración intranasal de una cepa de *S. epidermidis* a ratones, redujo la colonización de SAMR dos días más tarde, algo que puede servir como estrategia preventiva para un brote agudo. En lo que respecta a situaciones a largo plazo no está tan claro, pero sí sugieren que, si hay suficientes bacterias competidoras presentes en el momento de la exposición a SAMR, el huésped será menos susceptible a la colonización nasal por esta bacteria. Sin embargo, el modelo del ratón tiene su limitación para los estudios a largo plazo: ni *S. epidermidis* ni SAMR colonizan a los ratones a alta concentración o durante un período de tiempo prolongado, limitando la capacidad de abordar esa cuestión. Pero incluso sin datos adicionales sobre animales, los estudios publicados existentes sugieren que la estrategia podría funcionar.

A pesar de los datos obtenidos y estudios previos, la colonización y la infección con SAMR sigue sin entenderse al 100%, pero probablemente se trate de una compleja interacción entre la genética del huésped, la exposición al patógeno, la función inmune del huésped y la microbiota del nicho nasal.

9. Futuras líneas de investigación:

En esta revisión nos hemos centrado en la microbiota nasal, donde hemos visto la gran diferencia que existe entre distintas comunidades microbianas dentro del ecosistema nasal humano. Esto nos refleja la importancia de realizar investigaciones sobre la microbiota en una escala espacial de mayor resolución, ya que muchas de las interacciones biológicas y ecológicas pueden tener lugar exclusivamente entre organismos genéticamente similares y dentro de ambientes más restringidos (Yan et al. 2013).

Las variaciones que vamos a encontrar van a depender tanto de la edad como del estado de salud en el que se encuentre el sujeto, influenciadas por la composición de la microbiota, la biodiversidad, los factores del huésped y la infección viral. Sugiriendo que la microbiota del tracto respiratorio superior de sujetos sanos, proporciona resistencia a la colonización local (de Steenhuijsen Piters, Sanders, y Bogaert 2015). Actualmente, existen limitaciones en lo que concierne a la investigación sobre el papel que ejerce la microbiota del tracto respiratorio superior en la salud respiratoria, por carecer de un enfoque de estudios longitudinales para demostrar las posibles relaciones de causa-efecto entre la presencia o ausencia de especies bacterianas específicas, y el riesgo de enfermedades infecciosas que eso conlleva. Además, los modelos *in vitro* experimentales, podrían ayudar a obtener una visión mecanicista sobre el papel que ejercen estas bacterias específicas sobre los ecosistemas y la inmunidad del huésped. El inconveniente de estos modelos es la falta de generalización para el huésped humano y la complejidad existente para proporcionar la imagen completa de la función del ecosistema. Sin embargo, una combinación de estos estudios podría ayudar en última instancia a identificar las especies clave de las interacciones microbio-microbio existentes en la salud respiratoria.

Una vez identificadas estas especies, es necesario realizar estudios para determinar si los ecosistemas con alteraciones de la microbiota pueden modularse de tal manera que vuelvan a seleccionarse comensales beneficiosos. Para ello se tiene que identificar a los agentes patógenos, por lo que se espera un aumento en la investigación sobre las interacciones agente patógeno-comensal dentro de la microbiota humana, y una comprensión cada vez mayor de la importancia funcional de los comensales y mutualistas bacterianos (Brugger, Bomar, y Lemon 2016). Una segunda estrategia preventiva podría ser estudiar la posibilidad de reconstituir los "microbios desaparecidos" mediante la administración de pre y probióticos. Además, se podría buscar no solo un efecto preventivo, sino terapéutico. Para avanzar en el campo de la terapéutica, es necesario un estudio más amplio del uso que pueden tener los agentes antimicrobianos de espectro reducido, dirigidos idealmente a una sola especie o incluso a una cepa patogénica específica, minimizando los efectos que los antimicrobianos actuales tienen.

En los últimos años, se ha incrementado significativamente el conocimiento de los factores del huésped que determinan el estado de portador nasal de *S. aureus*. La identificación de sitios novedosos de portador nasal e interacciones huésped-patógeno han descubierto canales previamente desconocidos de comunicación entre *S. aureus* y vías de señalización inmune en la nariz, como se explicó en la Figura 11. La manipulación de estas vías puede conducir al desarrollo de estrategias de descolonización alternativas muy necesarias como consecuencia de la resistencia a los antibióticos. A pesar de estos descubrimientos, es necesario investigar más sobre la interferencia huésped-bacteria durante la colonización, como ya se ha comentado (Mulcahy y McLoughlin 2016). Los estudios actuales indican que la clave para entender los determinantes del huésped implicados en la colonización nasal de *S. aureus* ya no radica únicamente en la determinación de factores correlativos genéticos y ambientales, sino también en determinar la respuesta inmune local del huésped adaptada a este patógeno. Esto se ve obstaculizado actualmente por la falta de un modelo apropiado para examinar la respuesta del huésped de una manera más fácil y detallada. Sin embargo, el uso de modelos humanos y de ratón humanizado podría remediar esto en el futuro.

Una vez conocidas estas vías de actuación, como punto principal de esta revisión, hemos querido aclarar la influencia que ejerce la microbiota nasal sobre *S. aureus*, y así utilizarse como marcador de colonización, como descolonizador o de manera terapéutica.

Con idea de buscar la presencia o no de colonización por parte de *S. aureus* se pueden buscar nuevas técnicas de rápida detección de *Dolosigranulum* spp. en fosas nasales, con un valor superior a $1,2 \times 10^6$ de copias de 16S rRNA por hisopo, ya que se relaciona con la ausencia de *S. aureus*. En las fosas nasales de los adultos también se excluye a *S. aureus* si están presentes cepas de *S. epidermidis* productoras de la serin-proteasa Esp. Es muy interesante el papel de esta serin-proteasa ya que podría ser utilizada como descolonizador de pacientes portadores crónicos y como prevención en pacientes susceptibles de colonización. Además, también se ha visto que la serin-proteasa Esp inhibe la formación de biofilm.

A la hora de limitar la virulencia de *S. aureus* podríamos buscar la síntesis de probióticos de *Corynebacterium* spp. con idea de ser utilizados en portadores crónicos. Ahora que se conoce parte del papel que juega *Propionibacterium* spp. al potenciar la virulencia de *S. aureus* podemos buscar el bloqueo de la coproporfirina III y de la beta-hemolisina secretada por *P. acnes*, implicadas en este proceso, pero es algo meramente hipotético, por lo que se tendrían que realizar estudios para ver si es viable su aplicabilidad clínica.

Otro punto interesante es el descubrimiento de las bacterias comensales que producen un potente antibiótico, como es el caso de *S. lugdunensis* productor de lugdunina, compuesto bactericida, entre los que se incluye a SAMR. Esto sugiere que muchos seres humanos están constantemente expuestos a potentes compuestos bioactivos de la microbiota. El efecto de tales compuestos sobre las funciones del cuerpo humano puede variar sustancialmente con los cambios dinámicos en la estructura de la microbiota. Además, estamos en una época en la que se ha hecho cada vez más difícil identificar nuevas estructuras de compuestos desde microorganismos del suelo, tales como actinomicetos, por lo que las bacterias de la microbiota humana pueden convertirse en una fuente valiosa para nuevos tipos de antibióticos. Será un reto para la investigación futura elucidar la identidad, la variabilidad, la actividad y los roles ecológicos de tales compuestos y explotarlos para el desarrollo de nuevos fármacos.

Un punto importante que no se ha tratado en esta revisión es la terapia anti-virulencia contra las toxinas de *S. aureus*, en infecciones por cepas resistentes a antibióticos. Esta terapia tiene un alto potencial terapéutico en seres humanos, por la capacidad de impedir el problema de la resistencia a fármacos sin imponer una fuerte presión selectiva sobre la población bacteriana, por lo que para más información remito al artículo de “Targeting *Staphylococcus aureus* toxins: A potential form of Anti-virulence therapy” (Kong, Neoh, y Nathan 2016a).

Finalmente, podemos concluir esta revisión diciendo que la interferencia bacteriana por medio de probióticos puede ser una alternativa viable y duradera para disminuir la tasa de colonización nasal por *S. aureus* ya que los antibióticos, debido a la adquisición de resistencias, pueden llegar a quedarse obsoletos con el tiempo. Además, a pesar de que la manipulación de los microbiomas por medio de antibioterapia puede parecer atractiva, existe una relación entre el consumo de antibióticos en recién nacidos con la aparición de asma (Teo et al. 2015) y aumento del riesgo de enfermedades de tracto respiratorio inferior. Asimismo, el desarrollo de vacunas no es lo más favorable, ya que al eliminar un serotipo bacteriano queda un nicho susceptible de ser sustituido fácilmente por otras bacterias, por lo que un buen uso de probióticos aplicados intranasalmente, puede ofrecer una solución a largo plazo que aún no está abordada por los actuales regímenes preventivos de colonización nasal por *S. aureus*.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Andersen, Paal Skytt, Jacob Krabbe Pedersen, Peder Fode, Robert L. Skov, Vance G. Fowler, Marc Stegger, y Kaare Christensen. «Influence of Host Genetics and Environment on Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus in Danish Middle-Aged and Elderly Twins». *The Journal of Infectious Diseases* 206, n.º 8 (octubre de 2012): 1178-84. doi:10.1093/infdis/jis491.
2. Arciola, Carla Renata, Davide Campoccia, Stefano Ravaoli, y Lucio Montanaro. «Polysaccharide Intercellular Adhesin in Biofilm: Structural and Regulatory Aspects». *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 5 (2015): 7. doi:10.3389/fcimb.2015.00007.
3. Bessesen, Mary T., Cassandra Vogel Kotter, Brandie D. Wagner, Jill C. Adams, Shannon Kingery, Jeanne B. Benoit, Charles E. Robertson, Edward N. Janoff, y Daniel N. Frank. «MRSA Colonization and the Nasal Microbiome in Adults at High Risk of Colonization and Infection». *The Journal of Infection* 71, n.º 6 (diciembre de 2015): 649-57. doi:10.1016/j.jinf.2015.08.008.
4. Bessesen, Mary T., Cassandra Vogel Kotter, Brandie D. Wagner, Jill C. Adams, Shannon Kingery, Jeanne B. Benoit, Charles E. Robertson, Edward N. Janoff, y Daniel N. Frank. «MRSA Colonization and the Nasal Microbiome in Adults at High Risk of Colonization and Infection». *The Journal of Infection* 71, n.º 6 (diciembre de 2015): 649-57. doi:10.1016/j.jinf.2015.08.008.
5. Biswas, Kristi, Michael Hoggard, Ravi Jain, Michael W. Taylor, y Richard G. Douglas. «The Nasal Microbiota in Health and Disease: Variation within and between Subjects». *Frontiers in Microbiology* 9 (2015): 134. doi:10.3389/fmicb.2015.00134.
6. Boase, Sam, Andrew Foreman, Edward Cleland, Lorwai Tan, Rachel Melton-Kreft, Harshita Pant, Fen Z. Hu, Garth D. Ehrlich, y Peter-John Wormald. «The Microbiome of Chronic Rhinosinusitis: Culture, Molecular Diagnostics and Biofilm Detection». *BMC Infectious Diseases* 13 (8 de mayo de 2013): 210. doi:10.1186/1471-2334-13-210.
7. Brown, Aisling F., John M. Leech, Thomas R. Rogers, y Rachel M. McLoughlin. «Staphylococcus Aureus Colonization: Modulation of Host Immune Response and Impact on Human Vaccine Design». *Frontiers in Immunology* 4 (8 de enero de 2014): 507. doi:10.3389/fimmu.2013.00507.
8. Brugger, Silvio D., Lindsey Bomar, y Katherine P. Lemon. «Commensal-Pathogen Interactions along the Human Nasal Passages». *PLoS Pathogens* 12, n.º 7 (julio de 2016): e1005633. doi:10.1371/journal.ppat.1005633.

9. Carlson, E. «Enhancement by *Candida Albicans* of *Staphylococcus Aureus*, *Serratia Marcescens*, and *Streptococcus Faecalis* in the Establishment of Infection in Mice». *Infection and Immunity* 39, n.º 1 (enero de 1983): 193-97.
10. Challinor, Victoria L., y Helge B. Bode. «Bioactive Natural Products from Novel Microbial Sources». *Annals of the New York Academy of Sciences* 1354 (septiembre de 2015): 82-97. doi:10.1111/nyas.12954.
11. Cole, A. L., G. Muthukrishnan, C. Chong, A. Beavis, C. R. Eade, M. P. Wood, M. G. Deichen, y A. M. Cole. «Host Innate Inflammatory Factors and Staphylococcal Protein A Influence the Duration of Human *Staphylococcus Aureus* Nasal Carriage». *Mucosal Immunology* 9, n.º 6 (noviembre de 2016): 1537-48. doi:10.1038/mi.2016.2.
12. De Steenhuijsen Piters, Wouter A. A. de, Elisabeth A. M. Sanders, y Debby Bogaert. «The Role of the Local Microbial Ecosystem in Respiratory Health and Disease». *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 370, n.º 1675 (19 de agosto de 2015). doi:10.1098/rstb.2014.0294.
13. Fitz-Gibbon, Sorel, Shuta Tomida, Bor-Han Chiu, Lin Nguyen, Christine Du, Mingsun Liu, David Elashoff, et al. «*Propionibacterium Acnes* Strain Populations in the Human Skin Microbiome Associated with Acne». *The Journal of Investigative Dermatology* 133, n.º 9 (septiembre de 2013): 2152-60. doi:10.1038/jid.2013.21.
14. Frank, Daniel N., Leah M. Feazel, Mary T. Bessesen, Connie S. Price, Edward N. Janoff, y Norman R. Pace. «The Human Nasal Microbiota and *Staphylococcus Aureus* Carriage». *PloS One* 5, n.º 5 (17 de mayo de 2010): e10598. doi:10.1371/journal.pone.0010598.
15. García-Vázquez, Elisa, Joaquín Gómez, Ramón Baños, Manuel Canteras, Joaquín Ruiz, Víctor Baños, José Antonio Herrero, y Mariano Valdés. «Estudio comparativo de pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina frente a *S. aureus* resistente a la meticilina: epidemiología y factores pronósticos». *Medicina Clínica*, 2007, 681-86. doi:10.1157/13102350.
16. Hamilos, Daniel L. «Host-Microbial Interactions in Patients with Chronic Rhinosinusitis». *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* 131, n.º 4 (abril de 2013): 1263-64, 1264.e1-6. doi:10.1016/j.jaci.2013.02.020.
17. Heim, Cortney E., Debbie Vidlak, Tyler D. Scherr, Jessica A. Kozel, Melissa Holzapfel, David E. Muirhead, y Tammy Kielian. «Myeloid-Derived Suppressor Cells Contribute to *Staphylococcus Aureus* Orthopedic Biofilm Infection». *The Journal of Immunology* 192, n.º 8 (15 de abril de 2014): 3778-92. doi:10.4049/jimmunol.1303408.
18. Hoggard, Michael, Brett Wagner Mackenzie, Ravi Jain, Michael W. Taylor, Kristi Biswas, y Richard G. Douglas. «Chronic Rhinosinusitis and the Evolving

Understanding of Microbial Ecology in Chronic Inflammatory Mucosal Disease». *Clinical Microbiology Reviews* 30, n.º 1 (enero de 2017): 321-48. doi:10.1128/CMR.00060-16.

19. Human Microbiome Project Consortium. «Structure, Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome». *Nature* 486, n.º 7402 (13 de junio de 2012): 207-14. doi:10.1038/nature11234.
20. Iwase, Tadayuki, Yoshio Uehara, Hitomi Shinji, Akiko Tajima, Hiromi Seo, Koji Takada, Toshihiko Agata, y Yoshimitsu Mizunoe. «Staphylococcus Epidermidis Esp Inhibits Staphylococcus Aureus Biofilm Formation and Nasal Colonization». *Nature* 465, n.º 7296 (20 de mayo de 2010): 346-49. doi:10.1038/nature09074.
21. Kaspar, Ursula, André Kriegeskorte, Tanja Schubert, Georg Peters, Claudia Rudack, Dietmar H. Pieper, Melissa Wos-Oxley, y Karsten Becker. «The Culturome of the Human Nose Habitats Reveals Individual Bacterial Fingerprint Patterns». *Environmental Microbiology* 18, n.º 7 (julio de 2016): 2130-42. doi:10.1111/1462-2920.12891.
22. Kong, Cin, Hui-min Neoh, y Sheila Nathan. «Targeting Staphylococcus Aureus Toxins: A Potential Form of Anti-Virulence Therapy». *Toxins* 8, n.º 3 (15 de marzo de 2016). doi:10.3390/toxins8030072.
23. Krismer, Bernhard, Manuel Liebeke, Daniela Janek, Mulugeta Nega, Maren Rautenberg, Gabriele Hornig, Clemens Unger, Christopher Weidenmaier, Michael Lalk, y Andreas Peschel. «Nutrient Limitation Governs Staphylococcus Aureus Metabolism and Niche Adaptation in the Human Nose». *PLoS Pathogens* 10, n.º 1 (enero de 2014): e1003862. doi:10.1371/journal.ppat.1003862.
24. Lauder, Abigail P., Aoife M. Roche, Scott Sherrill-Mix, Aubrey Bailey, Alice L. Laughlin, Kyle Bittinger, Rita Leite, Michal A. Elovitz, Samuel Parry, y Frederic D. Bushman. «Comparison of Placenta Samples with Contamination Controls Does Not Provide Evidence for a Distinct Placenta Microbiota». *Microbiome* 4, n.º 1 (23 de junio de 2016): 29. doi:10.1186/s40168-016-0172-3.
25. Lee, Robert J., Guoxiang Xiong, Jennifer M. Kofonow, Bei Chen, Anna Lysenko, Peihua Jiang, Valsamma Abraham, et al. «T2R38 Taste Receptor Polymorphisms Underlie Susceptibility to Upper Respiratory Infection». *The Journal of Clinical Investigation* 122, n.º 11 (noviembre de 2012): 4145-59. doi:10.1172/JCI64240.
26. Liu, Cindy M., Lance B. Price, Bruce A. Hungate, Alison G. Abraham, Lisbeth A. Larsen, Kaare Christensen, Marc Stegger, Robert Skov, y Paal Skytt Andersen. «Staphylococcus Aureus and the Ecology of the Nasal Microbiome». *Science Advances* 1, n.º 5 (junio de 2015): e1400216. doi:10.1126/sciadv.1400216.
27. Liu, Cindy M., Katerina Soldanova, Lora Nordstrom, Michael G. Dwan, Owain L. Moss, Tania L. Contente-Cuomo, Paul Keim, Lance B. Price, y Andrew P. Lane.

- «Medical Therapy Reduces Microbiota Diversity and Evenness in Surgically Recalcitrant Chronic Rhinosinusitis». *International Forum of Allergy & Rhinology* 3, n.º 10 (octubre de 2013): 775-81. doi:10.1002/alr.21195.
28. Lo, Chih-Wei, Yiu-Kay Lai, Yu-Tsueng Liu, Richard L. Gallo, y Chun-Ming Huang. «Staphylococcus Aureus Hijacks a Skin Commensal to Intensify Its Virulence: Immunization Targeting β -Hemolysin and CAMP Factor». *The Journal of Investigative Dermatology* 131, n.º 2 (febrero de 2011): 401-9. doi:10.1038/jid.2010.319.
29. Man, Wing Ho, Wouter A. A. de Steenhuijsen Piters, y Debby Bogaert. «The Microbiota of the Respiratory Tract: Gatekeeper to Respiratory Health». *Nature Reviews. Microbiology* 15, n.º 5 (mayo de 2017): 259-70. doi:10.1038/nrmicro.2017.14.
30. Mazmanian, Sarkis K., June L. Round, y Dennis L. Kasper. «A Microbial Symbiosis Factor Prevents Intestinal Inflammatory Disease». *Nature* 453, n.º 7195 (29 de mayo de 2008): 620-25. doi:10.1038/nature07008.
31. Mulcahy, Michelle E., y Rachel M. McLoughlin. «Host-Bacterial Crosstalk Determines Staphylococcus Aureus Nasal Colonization». *Trends in Microbiology* 24, n.º 11 (noviembre de 2016): 872-86. doi:10.1016/j.tim.2016.06.012.
32. Muthukrishnan, Gowrishankar, Gerry A. Quinn, Ryan P. Lamers, Carolyn Diaz, Amy L. Cole, Sixue Chen, y Alexander M. Cole. «Exoproteome of Staphylococcus aureus Reveals Putative Determinants of Nasal Carriage». *Journal of Proteome Research* 10, n.º 4 (1 de abril de 2011): 2064-78. doi:10.1021/pr200029r.
33. Nelson, Michael C., Hilary G. Morrison, Jacquelynn Benjamino, Sharon L. Grim, y Joerg Graf. «Analysis, Optimization and Verification of Illumina-Generated 16S rRNA Gene Amplicon Surveys». *PLoS One* 9, n.º 4 (2014): e94249. doi:10.1371/journal.pone.0094249.
34. Olsen, K., B. M. Falch, K. Danielsen, M. Johannessen, J. U. Ericson Sollid, I. Thune, G. Grimnes, R. Jorde, G. S. Simonsen, y A.-S. Furberg. «Staphylococcus Aureus Nasal Carriage Is Associated with Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels, Gender and Smoking Status. The Tromsø Staph and Skin Study». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases: Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology* 31, n.º 4 (abril de 2012): 465-73. doi:10.1007/s10096-011-1331-x.
35. Otto, M. «Staphylococcus Aureus and Staphylococcus Epidermidis Peptide Pheromones Produced by the Accessory Gene Regulator Agr System». *Peptides* 22, n.º 10 (octubre de 2001): 1603-8.
36. Park, Bonggoo, Tadayuki Iwase, y George Y. Liu. «Intranasal Application of S. epidermidis Prevents Colonization by Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus

in Mice». *PLOS ONE* 6, n.º 10 (5 de octubre de 2011): e25880. doi:10.1371/journal.pone.0025880.

37. Peres, Adam G., Camille Stegen, Junbin Li, An Qi Xu, Benoit Levast, Michael G. Surette, Benoit Cousineau, Martin Desrosiers, y Joaquín Madrenas. «Uncoupling of Pro- and Anti-Inflammatory Properties of Staphylococcus Aureus». *Infection and Immunity* 83, n.º 4 (4 de enero de 2015): 1587-97. doi:10.1128/IAI.02832-14.
38. Peters, Brian M., y Mairi C. Noverr. «Candida Albicans-Staphylococcus Aureus Polymicrobial Peritonitis Modulates Host Innate Immunity». *Infection and Immunity* 81, n.º 6 (junio de 2013): 2178-89. doi:10.1128/IAI.00265-13.
39. Pettigrew, Melinda M., Alison S. Laufer, Janneane F. Gent, Yong Kong, Kristopher P. Fennie, y Joshua P. Metlay. «Upper Respiratory Tract Microbial Communities, Acute Otitis Media Pathogens, and Antibiotic Use in Healthy and Sick Children». *Applied and Environmental Microbiology* 78, n.º 17 (septiembre de 2012): 6262-70. doi:10.1128/AEM.01051-12.
40. Planet, Paul J., Dane Parker, Taylor S. Cohen, Hannah Smith, Justinne D. Leon, Chanelle Ryan, Tobin J. Hammer, Noah Fierer, Emily I. Chen, y Alice S. Prince. «Lambda Interferon Restructures the Nasal Microbiome and Increases Susceptibility to Staphylococcus Aureus Superinfection». *MBio* 7, n.º 1 (9 de febrero de 2016): e01939-01915. doi:10.1128/mBio.01939-15.
41. Ramakrishnan, Vijay R., Leah M. Feazel, Sarah A. Gitomer, Diana Ir, Charles E. Robertson, y Daniel N. Frank. «The Microbiome of the Middle Meatus in Healthy Adults». *PloS One* 8, n.º 12 (2013): e85507. doi:10.1371/journal.pone.0085507.
42. Ramsey, Matthew M., Marcelo O. Freire, Rebecca A. Gabriliska, Kendra P. Rumbaugh, y Katherine P. Lemon. «Staphylococcus Aureus Shifts toward Commensalism in Response to Corynebacterium Species». *Frontiers in Microbiology* 7 (2016): 1230. doi:10.3389/fmicb.2016.01230.
43. Selva, Laura, David Viana, Gili Regev-Yochay, Krzysztof Trzcinski, Juan Manuel Corpa, Iñigo Lasa, Richard P. Novick, y José R. Penadés. «Killing Niche Competitors by Remote-Control Bacteriophage Induction». *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, n.º 4 (27 de enero de 2009): 1234-38. doi:10.1073/pnas.0809600106.
44. Shu, Muya, Yanhan Wang, Jinghua Yu, Sherwin Kuo, Alvin Coda, Yong Jiang, Richard L. Gallo, y Chun-Ming Huang. «Fermentation of Propionibacterium Acnes, a Commensal Bacterium in the Human Skin Microbiome, as Skin Probiotics against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus». *PloS One* 8, n.º 2 (2013): e55380. doi:10.1371/journal.pone.0055380.
45. Sollid, J. U. E., A. S. Furberg, A. M. Hanssen, y M. Johannessen. «Staphylococcus Aureus: Determinants of Human Carriage». *Infection, Genetics and Evolution*:

Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases 21 (enero de 2014): 531-41. doi:10.1016/j.meegid.2013.03.020.

46. Teo, Shu Mei, Danny Mok, Kym Pham, Merci Kusel, Michael Serralha, Niamh Troy, Barbara J. Holt, et al. «The Infant Nasopharyngeal Microbiome Impacts Severity of Lower Respiratory Infection and Risk of Asthma Development». *Cell Host & Microbe* 17, n.º 5 (13 de mayo de 2015): 704-15. doi:10.1016/j.chom.2015.03.008.
47. Webster, G. F., M. R. Ruggieri, y K. J. McGinley. «Correlation of Propionibacterium Acnes Populations with the Presence of Triglycerides on Nonhuman Skin». *Applied and Environmental Microbiology* 41, n.º 5 (mayo de 1981): 1269-70.
48. Weidenmaier, Christopher, Christiane Goerke, y Christiane Wolz. «Staphylococcus Aureus Determinants for Nasal Colonization». *Trends in Microbiology* 20, n.º 5 (mayo de 2012): 243-50. doi:10.1016/j.tim.2012.03.004.
49. Wilson, Michael T., y Daniel L. Hamilos. «The Nasal and Sinus Microbiome in Health and Disease». *Current Allergy and Asthma Reports* 14, n.º 12 (diciembre de 2014): 485. doi:10.1007/s11882-014-0485-x.
50. Wollenberg, Michael S., Jan Claesen, Isabel F. Escapa, Kelly L. Aldridge, Michael A. Fischbach, y Katherine P. Lemon. «Propionibacterium-Produced Coproporphyrin III Induces Staphylococcus Aureus Aggregation and Biofilm Formation». *MBio* 5, n.º 4 (22 de julio de 2014): e01286-01214. doi:10.1128/mBio.01286-14.
51. Wos-Oxley, Melissa L., Iris Plumeier, Christof von Eiff, Stefan Taudien, Matthias Platzer, Ramiro Vilchez-Vargas, Karsten Becker, y Dietmar H. Pieper. «A Poke into the Diversity and Associations within Human Anterior Nare Microbial Communities». *The ISME Journal* 4, n.º 7 (julio de 2010): 839-51. doi:10.1038/ismej.2010.15.
52. Yan, Miling, Sünje J. Pamp, Julia Fukuyama, Peter H. Hwang, Do-Yeon Cho, Susan Holmes, y David A. Relman. «Nasal Microenvironments and Interspecific Interactions Influence Nasal Microbiota Complexity and S. Aureus Carriage». *Cell Host & Microbe* 14, n.º 6 (11 de diciembre de 2013): 631-40. doi:10.1016/j.chom.2013.11.005.
53. Zipperer, Alexander, Martin C. Konnerth, Claudia Laux, Anne Berscheid, Daniela Janek, Christopher Weidenmaier, Marc Burian, et al. «Human Commensals Producing a Novel Antibiotic Impair Pathogen Colonization». *Nature* 535, n.º 7613 (28 de julio de 2016): 511-16. doi:10.1038/nature18634.