

Resumen

El tracto intestinal de prácticamente cualquier metazoo, incluidos los mamíferos, está colonizado por una compleja comunidad microbiana a la que nos referimos como microbiota intestinal. Uno de los papeles de la microbiota intestinal es proteger al huésped contra la colonización intestinal con bacterias patógenas a través de un fenómeno conocido como resistencia a la colonización (RC). La disbiosis de la microbiota intestinal, a menudo como resultado de un tratamiento antibiótico, puede conducir a la alteración de la RC y posterior colonización por patógenos bacterianos. Curiosamente, RC es afectada de manera distinta por antibióticos de espectro diferente, lo que sugiere que algunos miembros de la microbiota participan en RC, mientras que otros son dispensables. Además, una vez establecidos en el intestino, los patógenos bacterianos pueden alcanzar niveles altos y diseminarse en el torrente sanguíneo del huésped provocando infección. Sin embargo, y pese a su importancia, el papel de la disbiosis de la microbiota en la colonización intestinal por muchos patógenos bacterianos, como son las Enterobacterias multirresistentes, no se ha esclarecido: los miembros de la microbiota que confieren RC y los factores que promueven la colonización siguen siendo desconocidos.

El objetivo general de esta tesis ha sido mejorar la comprensión del papel de disbiosis de la microbiota en la colonización intestinal por patógenos bacterianos. Para ello se han establecido tres proyectos. En el primer proyecto investigamos el papel de disbiosis de la microbiota intestinal en la colonización por Enterobacterias multiresistentes (MRE) en ratones. MRE, como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, están entre las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Las infecciones con MRE generalmente comienzan por la colonización del tracto intestinal. Sin embargo, se sabe poco sobre los factores clínicos asociados con la colonización de MRE o que miembros de la microbiota podrían prevenir la colonización y la consecuente infección con MRE. Con el fin de esclarecer el papel de la disbiosis de la microbiota intestinal en la colonización con MRE en ratones, se trataron ratones con varios antibióticos y se infectaron con una cepa multiresistente de *K. pneumoniae* (MRKP). Nuestros resultados indican que la persistente disbiosis microbiana, resultante del tratamiento antibiótico, promueve la colonización intestinal con MRKP en ratones. Es importante destacar que hemos podido demostrar que la restauración de niveles de 2

géneros bacterianos (*Lactobacillus* y *Barnesiella*), afectados por el tratamiento con antibióticos, disminuye significativamente la capacidad de MRKP para colonizar el tracto intestinal de ratones.

En el segundo proyecto investigamos los factores de riesgo y los miembros de la microbiota asociados con la colonización por MRE en pacientes hospitalizados. Las infecciones por MRE representan una gran amenaza para los pacientes hospitalizados. Específicamente, MRE a menudo colonizan los pacientes con leucemia aguda, probablemente debido a que la RC está alterada como resultado de tratamientos antibióticos intensivos recibidos por estos pacientes. Cabe destacar que no identificamos ningún antibiótico que promueva la colonización intestinal por MRE. Al contrario, hemos identificado la administración sistemática de beta-lactámicos, cuando el paciente se coloniza con la cepa MRE sensible a beta-lactámicos, como uno de los factores asociados con la reducción de los niveles de colonización intestinal por MRE. Por otro lado, la administración de beta-lactámicos cuando el paciente está colonizado con una cepa resistente a beta-lactámicos no aumenta los niveles intestinales de MRE. Entre las bacterias comensales asociadas con cambios en los niveles de colonización por MRE, identificamos el género *Coprobacillus*, una unidad taxonómica operativa (OTU) del género *Lactobacillus* y dos OTUs del género *Bacteroides* estar asociadas con una disminución de los niveles fecales de MRE en pacientes con leucemia aguda, lo que sugiere que estas bacterias comensales pueden tener un papel protector contra el MRE.

En el tercer proyecto investigamos el papel de la disbiosis microbiana en desarrollo de Enteropatía Epizoótica de Conejo (ERE). ERE es una enfermedad gastrointestinal severa con un alto porcentaje de mortalidad que ocurre en conejos jóvenes durante las primeras semanas después del destete. Se ha demostrado que los conejos con ERE sufren disbiosis microbiana después del inicio de la enfermedad, aunque no está claro el papel de la disbiosis en el desarrollo de la enfermedad. Además, la enfermedad puede ser reproducida por contacto entre animales sanos y enfermos y por la administración del contenido cecal de conejos con ERE a conejos sanos, lo que sugiere que un agente patógeno podría estar implicado en el desarrollo de esta patología intestinal, aunque hasta ahora no se ha logrado identificar ningún agente causal. Aquí, hemos demostrado que los principales cambios en la composición de la microbiota observada después de la iniciación de ERE no se puede detectar en los conejos antes de la aparición de la enfermedad. Por otra parte, el único cambio que se pudo detectar antes de desarrollo de la enfermedad fue la mayor presencia de una especie nueva dentro del

género *Clostridium* en conejos que desarrollaran ERE el mismo día de la aparición de la enfermedad, lo que sugiere que esta bacteria podría tener un papel importante en el inicio de ERE.