



Trabajo de Fin de Grado

Aplicaciones de las bacterias como agentes terapéuticos

Amara Magdalena Pérez

Grado en Farmacia

Curso 2019-2020

Tutor: Luis F. Rodríguez Domínguez

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| ABSTRACT..... | 3 |
| RESUMEN..... | 4 |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 5 |
| 1.1 Concepto de Bacterioterapia..... | 5 |
| 1.2 Microbiota..... | 5 |
| 1.3 Historia de la bacterioterapia..... | 5 |
| 2. OBJETIVO DEL TRABAJO..... | 7 |
| 3. MATERIAL Y MÉTODOS..... | 8 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 9 |
| 4.1 Papel de los probióticos en el tratamiento de infecciones bacterianas de la cavidad oral..... | 9 |
| 4.2 Bacterioterapia en el tratamiento de la otitis media..... | 10 |
| 4.3 Trasplante fecal para el tratamiento de las enfermedades gastrointestinales..... | 10 |
| 4.4 Uso de las bacterias o sus productos en el tratamiento del cáncer..... | 11 |
| 5. CONCLUSIONES..... | 14 |
| 6. BIBLIOGRAFÍA..... | 15 |

ABSTRACT

This work analyzes the uses and advantages of bacteriotherapy as possible treatment for certain diseases, ranging from simple pathologies, such as dental conditions (dental caries, periodontal disease, halitosis) and otitis, to more complex ones, such as gastrointestinal pathologies (*Clostridium difficile* colitis, inflammatory bowel diseases) and cancer.

It is stated that alterations in the composition of the human microbiota, which lead to the triggering of various pathologies, can be treated with the repopulation with bacteria that are usually part of such a microbiota under normal conditions and that this treatment has beneficial effects with less collateral consequences than conventional antibacterial drugs.

On the other hand, for the treatment of diseases which are not the result of alterations of the microbiota composition, but due to more complex processes (i.e., cancer), the possibility of using bacterial-based therapies by using a variety of recombinant products obtained by genetic manipulation of several bacterial species is considered.

RESUMEN

En este trabajo se analizan los usos y ventajas de la bacterioterapia como posible tratamiento para determinadas enfermedades, desde patologías simples, tales como afecciones odontológicas (caries dental, enfermedad periodontal, halitosis) y otitis, hasta otras más complejas, como patologías gastrointestinales (colitis por *Clostridium difficile*, enfermedades inflamatorias intestinales) y cáncer.

Se pone de manifiesto que las alteraciones en la composición de la microbiota humana, que conducen al desencadenamiento de diversas patologías, pueden ser tratadas con la repoblación de dicha microbiota con bacterias que, típicamente, forman parte de ella en condiciones normales. Esta repoblación tiene un efecto beneficioso, con menos consecuencias colaterales que los fármacos antibacterianos convencionales.

Por otro lado, para el tratamiento de enfermedades en las que no resulta la microbiota modificada, sino que se deben a procesos más complejos (tales como distintos tipos de cáncer), se contempla la posibilidad de una terapia bacteriana contra dicha patología mediante el uso de diversos productos bacterianos y con bacterias modificadas genéticamente, aspectos que se están estudiando debido a su posible potencial anticancerígeno.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Bacterioterapia

El término “bacterioterapia” hace referencia al empleo de las bacterias y/o sus productos como herramientas terapéuticas en el tratamiento de enfermedades. Así, la bacterioterapia engloba: 1) el uso de los probióticos, que según la OMS son “microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped” (1); 2) el trasplante de materia fecal (FMT), procedimiento en el que se recolecta materia fecal de un donante sano y se administra en el tracto gastrointestinal del paciente para corregir la disbiosis y restaurar las condiciones saludables (2); y, 3) en general, el empleo de bacterias, modificadas o no mediante ingeniería genética, y/o sus sustancias, con la finalidad de tratar diversas patologías, entre ellas el cáncer. La bacterioterapia, por tanto, ha despertado gran interés clínico debido a sus diversos mecanismos de acción. El escoger uno u otro dependerá de qué patología se trate y de con qué fin se empleen las bacterias.

1.2 Microbiota

La microbiota intestinal humana ha sido caracterizada en numerosos estudios, habiéndose descrito la presencia en ella de alrededor de 100 a 1000 especies bacterianas. Aunque hay mucha variabilidad entre individuos, la mayoría pertenecen a los filos *Firmicutes* (40-70%), *Bacteroidetes* (aproximadamente un 25%), *Actinobacter* y *Proteobacteria* (3). Estos grupos varían en número durante toda la vida humana, desde el nacimiento a la adultez (en esta etapa *Firmicutes* y *Bacteroidetes* dominan la microbiota intestinal), hasta la vejez (4). Dichos cambios pueden estar influidos por la dieta, factores ambientales, infecciones por patógenos o uso de antibióticos, entre otras causas (5).

En cuanto a sus funciones biológicas, la microbiota intestinal influye de manera importante en la facilitación de la digestión, interacción con el sistema inmunitario para ayudar en el mantenimiento de la homeostasis, resistencia a la invasión de patógenos, promoción de la maduración del intestino y desarrollo y maduración del epitelio del colon (4). Diversas patologías, tales como la colitis por *Clostridium difficile*, enfermedades metabólicas (obesidad y diabetes), e incluso enfermedades neuropsiquiátricas, como Parkinson y Alzheimer, son propensas a aparecer cuando se produce disbiosis (6).

1.3 Historia de la bacterioterapia

El origen de los probióticos se remonta a 1907, cuando Elie Metchnikoff afirmó que las bacterias ácido-lácticas (BAL) poseían beneficios para la salud al disminuir y sustituir las bacterias tóxicas en la microbiota intestinal por microbios útiles. Basándose en esta afirmación, diseñó una dieta con leche fermentada que contenía lactobacilos, tratando así los trastornos gastrointestinales. Más tarde, las primeras investigaciones con probióticos fueron realizadas por Henry Tissier que administró a lactantes que padecían

diarrea un *Bifidobacterium* obtenido de otros lactantes que no presentaban dicho problema, con la hipótesis de que la bacteria administrada reemplazaría a las proteolíticas que estaban causando la diarrea (1).

El término “probióticos” fue introducido en 1974 por Parker como “organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio microbiano intestinal”. Fuller, en 1989, los describió como “un suplemento alimenticio microbiano vivo que afecta beneficiosamente al animal huésped al mejorar su equilibrio microbiano intestinal” (7).

El origen del trasplante fecal de microbiota (FMT) se remonta a la antigua China (8). En torno a los años 284-364 d.C., Ge Hong formuló una guía de tratamiento llamada “Manual de condiciones de emergencia” en la que se encontraban muchos medicamentos que contenían materia fecal, tanto de animales como de humanos (9).

En 1958, Eiseman describió el uso de enemas fecales como tratamiento para la colitis pseudomembranosa, marcando la introducción del FMT en la medicina convencional (10). La segunda serie de casos tratada con FMT se publicó en 1981 y, desde esa fecha hasta hoy, se han realizado numerosos estudios orientados al tratamiento con esta técnica de la infección por *C.difficile* (11).

El papel de las bacterias como agentes anticancerosos ha sido reconocido desde hace años cuando W. Busch y F. Fehleisen, en 1863, observaron que ciertos cánceres retrocedieron después de infecciones accidentales por *Streptococcus pyogenes*. Sin embargo, el primer uso bien documentado de bacterias y sus toxinas para tratar cánceres lo realizó William Coley, quien desarrolló una vacuna compuesta por dos especies bacterianas muertas, *S. pyogenes* y *Serratia marcescens*, y la aplicó a pacientes con sarcomas, observándose regresión tumoral en muchos casos (12). Desde finales de la década de 1980, los oncólogos han utilizado con éxito la cepa de *Mycobacterium bovis* BCG (Bacille Calmette-Guerin) como agente para prevenir las recaídas del cáncer de vejiga después de la extirpación quirúrgica del tumor primario ya que la bacteria mejora la respuesta inmunitaria contra las células cancerosas por activación de las células asesinas naturales (13).

2. OBJETIVO DEL TRABAJO

El incremento del número de bacterias patógenas resistentes a antibióticos, la recurrencia de determinadas enfermedades y la incapacidad de ciertos tratamientos convencionales de erradicar diversas patologías ha tenido como consecuencia la necesidad de buscar nuevas estrategias para combatir numerosas enfermedades. Esto ha hecho que se haya renovado el interés por el empleo de determinadas bacterias o de sus productos como agentes antibacterianos. El objetivo de este trabajo ha sido llevar a cabo una revisión de las aplicaciones realizadas recientemente y de las investigaciones en curso sobre esta materia y sacar conclusiones sobre la utilidad real del empleo de la bacterioterapia como alternativa terapéutica.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda de información a través del buscador de recursos Punto Q de la Biblioteca de la Universidad de La Laguna, Google académico y otros recursos online tales como, PubMed Central, Elsevier y SpringerLink, utilizando para ello las siguientes palabras claves: “bacteriotherapy”, “microbiota”, “probiotics”, “dental diseases”, “recurrent respiratory diseases”, “fecal microbiota transplant”, “inflammatory bowel diseases”, “cancer”, “bacterial genetic engineering”.

Los criterios de selección empelados para refinar los resultados consistieron en que los documentos seleccionados hubieran sido publicados en los últimos diez años y que el área de investigación de estos escritos contemplara las siguientes materias: “bacteriotherapy”, “fecal microbiota transplant”, “probiotics”, “bacteria in cancer therapy”.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Papel de los probióticos en el tratamiento de infecciones bacterianas de la cavidad oral

El biofilm oral se caracteriza por la presencia de especies de los géneros *Lactobacillus* (aproximadamente el 1%) y *Bifidobacterium*, siendo éstas a su vez las bacterias probióticas más investigadas como bacterioterapia (14). Así, se han estudiado para el tratamiento de la caries dental, trastorno producido por alteraciones en la microbiota oral normal por circunstancias tales como dieta rica en carbohidratos, disminución del flujo salival y reducción del pH oral, que provocan que los patógenos causantes de la enfermedad, principalmente *Streptococcus mutans*, junto con *Actinomyces*, *Slackia*, y *Propionibacterium*, compitan con la microbiota residente (15).

Los estudios in vitro han señalado que algunos lactobacilos probióticos pueden impedir la producción de biopelículas y la adherencia de *S.mutans* a la hidroxiapatita gracias a la generación de peróxido de hidrogeno, bacteriocinas y ácidos orgánicos. También, los lactobacilos presentan efectos inmunológicos en la mucosa oral aumentando la formación de IgA y fagocitosis y estimulando la actividad macrófagos. Sin embargo, los estudios in vivo muestran que es poco probable que los probióticos puedan colonizar permanentemente al huésped. Así, una reducción a corto plazo de los recuentos de *S.mutans* no es significativo necesariamente de menor presencia de caries. Aunque, se ha sugerido que la exposición temprana en la vida a esta bacteria puede facilitar su incorporación permanente en la microbiota (16).

Se han estudiado, también, otras bacterias probióticas para el tratamiento de la enfermedad periodontal, observándose que la combinación de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y *Bifidobacterium animalis* subespecie lactis BB-12 reduce la cantidad de placa y la inflamación gingival (17). Asimismo, se ha demostrado que *Lactobacillus reuteri*, comercializada como Periobalance®, también disminuye los niveles de placa y de inflamación a la vez que reduce el recuento de patógenos periodontales en pacientes con gingivitis moderada-severa (14).

Además, se ha investigado la posible aplicación de determinadas bacterias en la prevención y tratamiento de la halitosis mediante la sustitución de las bacterias implicadas en el desencadenamiento de la enfermedad. Las especies estudiadas han sido *Werssella cibaria*, como colutorio, y *Lactobacillus salivarius* y *Streptococcus salivarius* como masticables. Con estas tres bacterias se han conseguido disminuciones estadísticamente significativas en el número de compuestos sulfurados volátiles, que son los causantes de la enfermedad (14). En un estudio reciente se demostró que el cocultivo de las bacterias probióticas *S. salivarius* K12 y M18 junto con *Porphyromonas gingivalis* y *Treponema denticola*, que causan mal olor oral, afectan tanto al crecimiento de estas últimas como a su producción de compuestos sulfurados volátiles (18).

4.2 Bacterioterapia en el tratamiento de la otitis media

El aumento de los niveles de patógenos en la nasofaringe está relacionado con un mayor riesgo de infección del tracto respiratorio superior, incluida la otitis media, la cual es provocada esencialmente por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis* (19). Por esta razón, se ha barajado el uso de probióticos en el tratamiento de la otitis media ya que: 1) impedirían la colonización de patógenos debido a la competencia por los nutrientes y lugares de adhesión en el epitelio; 2) generarían compuestos antimicrobianos, tales como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas e inhibidores de la adhesión; y 3) modularían el sistema inmunitario (aumento de la producción de IgA y citocinas), mejorando la inmunidad sistémica (20). Con este fin, diversos estudios proponen a los estreptococos α -hemolíticos como probióticos faríngeos, ya que se ha visto que son capaces de restaurar el equilibrio microbiano gracias a sus propiedades inmunomoduladoras, antiinflamatorias, producción de bacteriocinas de amplio espectro codificadas por plásmidos y buena adaptabilidad al huésped. Para demostrar esto, un estudio piloto sobre eficacia a corto plazo se basó en el tratamiento de un grupo de niños con infecciones respiratorias recurrentes con *S.salivarius* 24SMBC y *S.oralis* 89a, observándose desde el primer mes una disminución de los síntomas. Dicha mejoría clínica también se notificó durante el período de tratamiento y cabe destacar que nadie fue retirado por reacciones adversas, lo que expuso un buen perfil de tolerabilidad. Los resultados sugieren que el tratamiento con estas bacterias es seguro y al parecer efectivo a corto plazo para tratar las infecciones respiratorias recurrentes (21).

Otros estudios han resaltado, similarmente, cómo el empleo de estreptococos α -hemolíticos administrados en aerosoles nasales reducen los episodios de otitis media e infecciones de garganta mediante la repoblación de la nasofaringe con estreptococos más seguros e inhibidores de las bacterias patógenas (19).

4.3 Trasplante fecal para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales

Diversas enfermedades gastrointestinales están relacionadas con modificaciones en la microbiota intestinal humana. Los tratamientos de algunas de dichas enfermedades se basan en la administración de antibióticos, lo que, además de aumentar las resistencias, también está resultando en un mayor número de recurrencias de la enfermedad. Por ello, en diversos estudios se está analizando el uso de un tipo de bacterioterapia que consiste en introducir una muestra fecal de un donador sano en el interior del tracto gastrointestinal del paciente para repoblarlo con una flora bacteriana intestinal normal (4).

Para el tratamiento de la colitis recurrente por *C.difficile* ya se contempla el trasplante fecal como una indicación terapéutica para dicha enfermedad. Un metanálisis realizado en 2015 ya indicaba que 34 estudios de casos de trasplante fecal habían demostrado una resolución de la diarrea del 90-97,8%. Asimismo, a un total de 21, de

los 34 estudios, se les ejecutó un seguimiento para investigar la recaída de la patología y se notificó que el 80,9% no había experimentado recurrencia; sin embargo, en un rango del 46 al 100% se demostró cierta variabilidad en lo encontrado, atribuible al tipo de dispositivo y a las características del paciente (3).

La idea de que el FMT podría disminuir la permeabilidad intestinal por incremento de la fabricación de ácidos grasos de cadena corta (lo que permitiría, también, reconstruir la disbiosis inmune al inhibir la producción de factores inflamatorios (2)), hacen que el FMT se contemple como posible tratamiento para las enfermedades inflamatorias intestinales.

Diversos estudios han demostrado que en la colitis ulcerativa (CU) y en la enfermedad de Crohn (EC) existen diferencias en la composición de la microbiota en comparación con la de individuos sanos, caracterizándose por una disminución de *Bacteroides* y *Firmicutes* junto con un aumento de anaerobios facultativos, como *Campylobacter*, *Proteobacteria* y *Escherichia coli*. Dicha disbiosis causa un aumento de la inflamación, por lo que la corrección de dicho desequilibrio bacteriano se ha señalado como posible enfoque terapéutico (3).

Estudios realizados desde 1989, y a través de los años (2003, 2015-2017), han señalado que el FMT produce mejoría clínica significativa en los síntomas y la inflamación que en muchos casos se sostuvo a largo plazo, y en otros también se notificó remisión histológica y endoscópica. Un ensayo aleatorio controlado de 2016 incluyó a 85 pacientes con CU para estudiar la remisión clínica y endoscópica de un FMT por colonoscopia seguida de un enema de trasplante fecal durante 5 días por semana a lo largo de 8 semanas, en comparación con un grupo placebo, observándose un porcentaje de remisión del 27% en el grupo sometido a FMT versus una remisión del 8% en el grupo control. A los pacientes de este grupo se les administró, más tarde, el régimen de FMT notificándose una mejoría clínica del 27% (22).

Por otro lado, un estudio prospectivo no controlado realizado en 2017 siguió a 30 pacientes con EC los cuales recibieron FMT. Después de un mes de la administración del FMT, 26 de los 30 pacientes notificaron remisión clínica, y en total, se observó que 21 pacientes destacaron por presentar mejoría clínica de los síntomas y 31 mostraron remisión clínica y endoscópica (3). Una revisión reciente y el metanálisis de nueve estudios que incluyeron 122 pacientes (79 con CU, 39 EC y cuatro con EII no clasificada) que recibieron FMT, encontraron una tasa de remisión del 36,2%. La remisión fue mayor en pacientes más jóvenes (7-20 años de edad) y en pacientes con EC (64.1% y 60.5%, respectivamente), en comparación con pacientes con CU donde sólo el 22% logró la remisión (2).

4.4 Uso de las bacterias o de sus productos en el tratamiento del cáncer

Los tratamientos habituales para el cáncer, como la radioterapia, quimioterapia o inmunoterapia, no son suficientes para combatir la enfermedad debido a su complejidad, lo que lleva a considerar otros enfoques terapéuticos. Entre estas nuevas estrategias

destaca la utilización de bacterias normales o modificadas genéticamente como agentes anticancerígenos. Las bacterias terapéuticas podrían dirigirse y atacar directamente a las regiones hipóxicas de los tumores y secretar moléculas terapéuticas que conduzcan a la muerte de las células cancerosas (23).

La investigación en el área de bacterioterapia contra el cáncer no es reciente ya que en 1990, la Administración de Drogas y Alimentos de EE. UU aprobó el uso intravesical del BCG para el tratamiento del cáncer de vejiga superficial como terapia adyuvante. BCG es una cepa viva y atenuada de *Mycobacterium bovis* (24) y se introdujo por primera vez en humanos en 1921 para inducir inmunidad contra la tuberculosis, formando parte del Programa ampliado de inmunización de la OMS (25).

Los metanálisis de diversos ensayos aleatorios han demostrado la eficacia del tratamiento intravesical con BCG para reducir las recurrencias locales del cáncer de vejiga y el riesgo de progresión al músculo después de la resección transuretral (24). Así, un metanálisis basado en datos de pacientes individuales para comparar la eficacia de BCG y mitomicina C en ensayos aleatorios reveló que los datos referentes a la terapia de mantenimiento con BCG mostraron una reducción general del 32% en el riesgo de recurrencia en comparación con la terapia con mitomicina C (26). El mecanismo de acción de BCG como agente inmunoterapéutico contra el cáncer de vejiga se desconoce, pero se cree que implica respuestas inmunes innatas y adaptativas que dan lugar a una reacción inflamatoria granulomatosa local mediada por células T (24).

En cuanto a la posibilidad de emplear bacterias modificadas genéticamente en el tratamiento del cáncer, los géneros *Salmonella*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Listeria* y *Clostridium* son las más empleadas en investigación. Estudios en modelos animales, destacan el uso de las esporas de *Clostridium* como vectores para la administración o expresión de péptidos citotóxicos, proteínas terapéuticas, genes supresores de tumores y agentes anticancerígenos. Asimismo, este género se ha investigado por la capacidad de sus esporas de sobrevivir, pero no crecer, en condiciones hipóxicas, lo que conllevaría la muerte de las células tumorales que abarcan zonas hipóxicas y que son resistentes a los tratamientos habituales. Así, en varios estudios en ratones a los que se les inyectó intratumoralmente esporas de *C.histolyticum* se observó lisis de los tejidos tumorales y algo similar ocurrió en ratones inyectados por vía intravenosa con esporas de *C.sporogenes*, en los que la bacteria sólo se halló en los tumores pero no en los tejidos normales (27).

Una forma atenuada de *Salmonella typhimurium* está siendo efectiva en ensayos clínicos en fase I como vehículo de entrega para expresar el gen de la citosina desaminasa de *E.coli*, resultando útil como agente anticancerígeno contra las líneas celulares de cáncer de colon C38, WiDr y CT26 (28). En ratones portadores de células de melanoma B16-F1 esta cepa ha aumentado la antigenicidad de las células tumorales y ha activado la función de los macrófagos, células dendríticas y neutrófilos por reducción de su función inmunosupresora. Además, la inyección intratumoral de una

cepa recombinante de *S. typhimurium*, en cáncer de colon condujo al cambio de los macrófagos de su forma de fenotipo inmunosupresor inmaduro a la forma madura que expresa TNF- α , lo que impulsó su acción antitumoral (23).

Las toxinas producidas por determinadas bacterias, cuyas actividades incluyen la alteración de distintos procesos celulares, han despertado el interés por su empleo como posibles herramientas antitumorales (27). Por ejemplo, se ha observado que la forma no tóxica atenuada de la toxina diftérica (CRM197) es capaz de revertir la resistencia contra el paclitaxel en las células de cáncer de ovario (29). CRM197 también ha resultado ser eficaz para minimizar reacciones adversas, en combinación con fármacos antineoplásicos convencionales, e incrementa el efecto citotóxico de la doxorubicina en la línea celular de leucemia linfoblástica aguda de células T. Del mismo modo, la unión de CRM197 con cisplatino inhibe el crecimiento y conduce a la apoptosis en células de glioma (28).

En otro estudio, se observó que una proteína EGF quimérica fusionada con el fragmento del dominio N-terminal de la exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* (EGF-ETA), con actividad de ribosilación de ADP e inducción de apoptosis, inhibía la proliferación del carcinoma epidermoide A431 EGFR-positivo y de células tumorales de cabeza y cuello HN5. Comparándolo con el tratamiento convencional, EGF-ETA mostró mayor capacidad de destrucción de las células cancerosas que cetuximab. Asimismo, EGF-ETA fue eficaz en las líneas celulares de colon HCT116 y SW480 (30).

5. CONCLUSIONES

1. El conocimiento que se tiene sobre la microbiota normal humana permite aventurar que la bacterioterapia basada en el uso de probióticos se consolidará como estrategia terapéutica futura en el tratamiento de enfermedades con base patológica de disbiosis, sin los inconvenientes que presenta actualmente la antibioterapia.
2. Para profundizar en las aplicaciones de la bacterioterapia para el tratamiento de enfermedades odontológicas y respiratorias recurrentes resulta imprescindible realizar estudios a largo plazo, ya que la mayoría de datos sobre la utilidad y remisión clínica por el uso de probióticos se conoce gracias a ensayos clínicos a corto plazo.
3. En cuanto a las enfermedades inflamatorias intestinales, es imprescindible elaborar más estudios sobre la eficacia del FMT en dichas patologías antes de que se consolide como técnica terapéutica. Asimismo, a pesar de que ya se considere una indicación terapéutica el empleo del FMT para la colitis por *C.difficile*, falta profundizar en el modo de entrega y en la selección del donante para la estandarización de la técnica.
4. Los resultados obtenidos en los estudios sobre bacterioterapia del cáncer son prometedores, aunque es necesaria más investigación debido a ciertas dificultades que presentan las bacterias. Además, la mayoría de estudios realizados son in vitro siendo indispensable pasar al siguiente nivel para sopesar la posibilidad del uso de la bacterioterapia antineoplásica.

6. BIBLIOGRAFÍA:

1. Guarner F, Sanders M, Eliakim R, Fedorak R, Gangi A, Garisch J, Kaufmann P, Karakan T, Khan A, Kim N, De Paula J, Ramakrishna B, Shanahan F, Szajewska H, Thomson A, and Le Mair A. “Probióticos Y Prebióticos”. Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Febrero, 2017. Worldgastroenterology.org. Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
2. Sunkara T, Rawla P, Ofosu A, and Gaduputi V. “Fecal Microbiota Transplant – a New Frontier in Inflammatory Bowel Disease.” J Inflamm Res. 2018; 11: 321-28. doi: 10.2147/JIR.S176190. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbt.ull.es/pmc/articles/PMC6124474/>
3. Heath RD, Cockerell C, Mankoo R, Ibdah JA, Tahan V. “Fecal microbiota transplantation and its potential therapeutic uses in gastrointestinal disorders”. North Clin Istanb. 2018 Feb 12; 5(1):79-88. doi:10.14744/nci.2017.10692. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29607440>
4. Hlavka E. “Bacteriotherapy for clostridium difficile colitis”. European Patent Office. 2019. European Patent Application EP 3564357A1. Disponible en: <https://data.epo.org/publication-server/rest/v1.0/publication-dates/20191106/patents/EP3564357NWA1/document.pdf>
5. Passos MDCF, Moraes-Filho JP. “Intestinal microbiota in digestive diseases”. Arq Gastroenterol. 2017; 54(3):255–262. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-28032017000300255&lng=en&tlng=en
6. Neville A, Browne H, Forster S, Lawley T. “Bacteriotherapy”. European Patent Office. 2018. International Application Published Under The Patent Cooperation Treaty (PCT) WO 2017/182796 A1. Disponible en: <https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?FT=D&date=20171026&DB=EPODOC&locale=&CC=WO&NR=2017182796A1&KC=A1&ND=3#>
7. Elavarasu S, Jayapalan P, and Murugan T. “Bugs That Debugs: Probiotics.” J Pharm Bioallied Sci. 2012 Aug; 4(6): 319–322. doi: 10.4103/0975-7406.100286. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbt.ull.es/pmc/articles/PMC3467914/>
8. Ferre-Aracil C, Aguilera Castro L, Rodríguez de Santiago E, García García de Paredes A, and López-Sanromán A. “Trasplante De Microbiota Fecal: Algo Más Que Una Curiosidad Terapéutica.” Rev Esp Enferm Dig. 2015; 107(7): 399-401. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v107n7/es_editorial.pdf

9. Leung P, and Cheng K. “Fecal microbiota transplantation: Historical review and current perspective.” *Baishideng Publishing Group Inc.* Nov 28, 2019; 7(9): 423-427. doi: 10.13105/wjma.v7.i9.423. Disponible en: <https://www.wjgnet.com/2308-3840/full/v7/i9/423.htm>
10. Gupta S, Allen-Vercoe E, and Petrof E. “Fecal microbiota transplantation: in perspective.” *Therap Adv Gastroenterol.* 2016 Mar; 9(2): 229–239. doi: 10.1177/1756283X15607414. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4749851/>
11. Evrensel A, and Ceylan M. “Fecal Microbiota Transplantation and Its Usage in Neuropsychiatric Disorders.” *Clin Psychopharmacol Neurosci.* 2016 Aug 31; 14(3):231-7. doi: 10.9758/cpn.2016.14.3.231. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27489376>
12. Patyar S, Joshi R, Prasad Byrav DS, Prakash A, Medhi B, and Das BK. “Bacteria in cancer therapy: a novel experimental strategy.” *J Biomed Sci.* 2010; 17(1): 21. Disponible en: <https://jbiomedsci.biomedcentral.com/articles/10.1186/1423-0127-17-21>
13. Felgner S, Kocijancic D, Frahm M, and Weiss S. “Bacteria in Cancer Therapy: Renaissance of an Old Concept”. *Int J Microbiol.* 2016. 2016: 14. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2016/8451728/>
14. Fierro-Monti C, Aguayo-Saldías C, Lillo-Climet F, and Riveros-Figueroa F. “Rol De Los Probióticos Como Bacterioterapia En Odontología. Revisión De La Literatura.” *Odontoestomatología.* 2017; 19(30): 4-13. Disponible en: <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v19n30/1688-9339-ode-19-30-00004.pdf>
15. Barton W, O`Sullivan O, and Cotter PD. “Metabolic Phenotyping of the Human Microbiome.” *Version 1. F1000Res.* 2019; 8: F1000 Faculty Rev-1956. doi: 10.12688/f1000research.19481.1. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbt.ull.es/pmc/articles/PMC6880276/>
16. Hasslof P. “Probiotic Lactobacilli in the Context of Dental Caries as a Biofilm-mediated disease”. [Tesis doctoral]. Umeå University Odontological Dissertations; 2013. Disponible en: <http://umu.diva-portal.org/smash/get/diva2:615181/FULLTEXT01.pdf>
17. Toiviainen A, Jalasvuori H, Lathi E, Gursoy U, Salminen S, Fontana M, Flannagan S, Eckert G, Kokaras A, Paster B, and Söderling E. “Impact of orally administered lozenges with *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB-12 on the number of salivary mutans streptococci, amount of plaque, gingival inflammation and the oral microbiome in healthy adults.” *Clinical Oral Investigations.* 2015; 19(1): 77-83. .Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-014-1221-6>

18. Yoo H, Jwa S, Kim D, and Ji Y. "Inhibitory Effect of Streptococcus Salivarius K12 and M18 on Halitosis in Vitro." *Clin Exp Dent Res*. 2020 Apr; 6(2): 207–214. doi: 10.1002/cre2.269. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbtck.ull.es/pmc/articles/PMC7133729/>
19. John M, Dunne E, Licciardi P, Satzke C, Wijburg O, Robins-Browne R, and O'Leary S. "Otitis Media among High-risk Populations: Can Probiotics Inhibit Streptococcus Pneumoniae Colonisation and the Risk of Disease?" *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013; 32(9): 1101-110. Disponible en: <https://link.springer.com/accidys2.bbtck.ull.es/article/10.1007/s10096-013-1858-0>
20. Jain P, and Sharma P. "Probiotics and Their Efficacy in Improving Oral Health: A Review." *J Appl Pharm Sci*. Nov, 2012; 2(11): 151-163. doi: 10.7324/JAPS.2012.21128. Disponible en: https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/713_pdf.pdf
21. Manti S, Parisi GF, Papale M, Licari A, Salpietro C, Miraglia Del Giudice M, Marseglia GL, and Leonardi S. "Bacteriotherapy with Streptococcus Salivarius 24SMB and Streptococcus Oralis 89a Nasal Spray for Treatment of Upper Respiratory Tract Infections in Children: A Pilot Study on Short-term Efficacy." *Ital J Pediatr*. 2020; 46(1): 42. Doi: 10.1186/s13052-020-0798-4. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s13052-020-0798-4>
22. Weingarden AR, and Vaughn BP. "Intestinal Microbiota, Fecal Microbiota Transplantation, and Inflammatory Bowel Disease." *Gut Microbes*. 2017; 8(3): 238–252. doi: 10.1080/19490976.2017.1290757. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbtck.ull.es/pmc/articles/PMC5479396/>
23. Laliani G, Sorboni SG, Lari R, Yaghoubi A, Soleimanpour S, Khazaei M, Hasanian SM, and Avan A. "Bacteria and Cancer: Different Sides of the Same Coin." *Life Sciences*. 2020; 246: 117398. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/accidys2.bbtck.ull.es/science/article/pii/S0024320520301454>
24. Waked R, Choucair J, Chehata N, Haddad E, and Saliba G. "Intravesical Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Treatment's Severe Complications: A Single Institution Review of Incidence, Presentation and Treatment Outcome. *J Clin Tuberc Other Mycobact Dis*. 2020 May; 19: 100149. doi: 10.1016/j.jctube.2020.100149. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbtck.ull.es/pmc/articles/PMC7016447/>
25. Angelidou A, Diray-Arce J, Conti M., G, Smolen KK, Van Haren SD, Dowling DJ, Husson RN, and Levy O. "BCG as a Case Study for Precision Vaccine Development: Lessons From Vaccine Heterogeneity, Trained Immunity, and Immune Ontogeny." *Front Microbiol*. 2020; 11: 332. doi: 10.3389/fmicb.2020.00332. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/accidys2.bbtck.ull.es/pmc/articles/PMC7078104/>
26. Cui Z, Bou S, Zheng Y, Shi Y, Dong Y, and Naguib Y. "Applications of bacillus Calmette-Guerin and recombinant bacillus Calmette-Guerin in vaccine development and

tumor immunotherapy.” *Expert Rev Vaccines*. 2015; 14(9): 1255–1275. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4920355/>

27. Sedighi M, Bialvaei AZ, Hamblin MR, Ohadi E, Asadi A, Halajzadeh M, Lohrasbi V, Mohammadzadeh N, Amiriani T, Krutova M, Amini A, and Kouhsari E. “Therapeutic Bacteria to Combat Cancer; Current Advances, Challenges, and Opportunities.” *Cancer Med*. 2019 Jun; 8(6): 3167–3181. doi: 10.1002/cam4.2148. Disponible en: <https://www-ncbi-nlm-nih.gov.accedys2.bbt.ull.es/pmc/articles/PMC6558487/>

28. Yaghoubi A, Khazaei M, Avan A, Hasanian SM, and Soleimanpour S. “The Bacterial Instrument as a Promising Therapy for Colon Cancer.” *Int J Colorectal Dis*. 2020; 35(4): 595-606. Disponible en: <https://link-springer-com.accedys2.bbt.ull.es/article/10.1007/s00384-020-03535-9>

29. Tang X, Li H, Zheng X, Lu M, An Y, and Zhang X. “CRM197 Reverses Paclitaxel Resistance by Inhibiting the NAC-1/Gadd45 Pathway in Paclitaxel-resistant Ovarian Cancer Cells.” *Cancer Med*. 2019 Oct; 8(14): 6426–6436. doi: 10.1002/cam4.2512. Disponible en: <https://www-ncbi-nlm-nih.gov.accedys2.bbt.ull.es/pmc/articles/PMC6797568/>

30. Hashimi SM, Grant B, Alqurashi N, Alowaidi F, and Wei MQ. “EGF Ligand Fused to Truncated *Pseudomonas aeruginosa* Exotoxin A Specifically Targets and Inhibits EGFR-positive Cancer Cells.” *Oncology Reports*. 2018; 40(5): 2690-2697. doi:10.3892/or.2018.6685. Disponible en: https://search-proquest-com.accedys2.bbt.ull.es/docview/2109333545?rfr_id=info%3Axri%2Fsid%3Aprimo

