



Seminario: La microbiota intestinal

Autor: Javier Santos M.D, Ph.D

-El interés creciente por la microbiota queda reflejado en el aumento de becas, publicaciones, patentes y ensayos clínicos en la última década¹. En este tiempo se han invertido > \$1.700 mill. en la investigación del microbioma humano. El valor actual de los productos e intervenciones basados en el microbioma humano para uso diagnóstico y terapéutico oscila \$275 y \$400 mill y se espera que crezca a \$750-1.900 mill en 2024².

Primero se caracterizaron las comunidades microbianas (microbiota) y sus genes (microbioma) en numerosas zonas del cuerpo en sujetos adultos sanos para posteriormente estudiar la dinámica longitudinal de estas comunidades en pacientes con diabetes, enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y en la infancia. Actualmente, se integran los datos de la composición de la microbiota con las funciones metabólicas para tener una visión integradora del papel de la microbiota en el desarrollo de múltiples enfermedades. (Diapositiva 4).

-Las técnicas (*Culturomica*) más empleadas para el estudio de la microbiota son³: *Metagenómica*: todos los genomas de las poblaciones de microorganismos presentes en un ecosistema determinado de una muestra obtenidos mediante secuenciación masiva basada en el gen de la subunidad 16 del RNA ribosomal (1500 nucleótidos) presente en todas las bacterias, que permite identificar todos los taxones hasta el nivel de especie. (454 pyrosequencing, Ion Torrent Personal Genome Machine, Illumina MiSeq o HiSeq y Applied Biosystems SOLiD); *Metatranscriptómica*: describe los genes activos y sus funciones en una comunidad bacteriana mediante la secuenciación completa del ARN, y el análisis de la expresión diferencial de vías metabólicas utilizando herramientas como HUMAnN2; *Metaproteómica y meta-metabolómica*: caracterización exhaustiva de hasta 50.000 proteínas (cromatografía líquida y espectrometría de masas) y 50.000 metabolitos (<1,500 Da) (cromatografía+ espectrometría y espectroscopia por resonancia magnética protónica) producidos por las comunidades microbianas presentes en las heces⁴. (Diapositiva 5).



PROGRAMA DOCENTE ACADÉMICO
GASTROENTEROLOGÍA
Y HEPATOLOGÍA

-Los datos procedentes de la culturómica son analizados mediante procedimientos bioinformáticos (QIIME, mothur, DADA2), que agrupan las secuencias del gen del ARNr 16S en unidades taxonómicas operativas (OTUs), que sería un equivalente del concepto de especie bacteriana o, utilizando algoritmos más recientes que tienen en cuenta el error de la plataforma de secuenciación utilizada, y dividen estas secuencias en variantes de secuencias de amplicones, que se clasifican taxonómicamente mediante la comparación con secuencias homólogas descritas en diferentes bases de datos públicas (RDP: <https://rdp.cme.msu.edu/>, Greengenes: <http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nphindex.cgi> et Silva: <https://www.arb-silva.de/>; Genome (NCBI)). Para la metagenómica, metaproteómica, metabolómica y metatranscriptómica existen herramientas y bases de datos específicas como MetaPhlan2 para perfilar la composición de las comunidades microbianas o KEGG, SEED y PICRUST2 para perfilar los datos funcionalmente^{3,5}. (Diapositiva 6).

-La diversidad alfa representa el número de OTUs dentro de la misma muestra. Puede estimarse mediante índices de riqueza que sólo tienen en cuenta el número de OTUS en la muestra (riqueza específica) o también estiman las OTUs que no se observan (CHAO1) o mediante índices de diversidad alfa, que miden la riqueza y la uniformidad de la muestra, y que se ponderan según la abundancia relativa de las especies presentes (Shannon; Simpson inverso) o su distancia filogenética (diversidad filogenética de Faith). La diversidad beta representa la variedad de OTUs entre varias muestras ponderada por la abundancia relativa de taxones (Bray-Curtis), por la presencia o ausencia de taxones (UNIFRAC) o por el parentesco filogenético (UNIFRAC ponderado). El índice de Jaccard, o coeficiente de similitud, es otra medida cualitativa que no considera las abundancias relativas, sino la presencia/ausencia de taxones^{5,6}. (Diapositiva 8).

-La importancia del microbioma para la salud y el desarrollo humanos es indudable. Aunque más del 90% de las enfermedades se han relacionado con alteraciones del microbioma, aún no hay acuerdo en la definición de un microbioma saludable o cómo definir uno deteriorado. Hoy se acepta que dos tercios de la microbiota es propia y específica de cada individuo, que compartimos un tercio de nuestra microbiota con otros seres humanos, que sólo una pequeña fracción del total de taxones



parece estar presente en todos los puntos temporales y que muchos más taxones son miembros persistentes pero no permanentes de la microbiota de un individuo⁷.

Diferentes combinaciones y proporciones de microorganismos pueden dar lugar a una situación estable de salud, o por el contrario asociarse con una enfermedad en ese individuo. Se están definiendo cambios comunes a enfermedades específicas que estarían presentes en la mayoría de individuos. Estos cambios incluyen alteraciones metagenómicas y metabióticas que se asocian con alteraciones en rutas metabólicas en la fisiología del huésped. Por ejemplo, los pacientes con enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa producen un número reducido de familias de proteínas del microbioma que sus controles y los sujetos con cáncer colorrectal albergan un mayor número de familias de proteínas⁸.

Entre el 40 y el 70 % de los genes microbianos no tienen una función conocida como tampoco podemos cultivar el 70% de las bacterias predichas en los metagenomas. Sabemos poco sobre cómo interactúan los microbiomas de diferentes regiones del cuerpo entre sí, y sobre cómo las comunidades de microbios funcionan como un todo y cómo son las relaciones entre los diferentes microbios⁹. (Diapositiva 9).

-La microbiota intestinal representa el 95% de las bacterias del cuerpo humano, pesa 2kg y está compuesta por 100 billones de microbios (x1.3 el número de células del cuerpo humano¹⁰), representados por más de 2000 especies bacterianas diferentes que pertenecen al dominio filogenético *Bacteria*^{11,12}. El microbioma intestinal supera en número a los genes al genoma humano en una proporción de 150:1. Además de bacterias, nuestro microbioma también contiene otros procariontes como *Archeas* metanogénicas (dominio *Archaea*), al menos 5 virus y bacteriófagos por cada bacteria, y eucariotas como múltiples especies de hongos (dominio *Eucarya*).

Las bacterias del intestino humano pertenecen en su mayoría a 10 filos, dominando los *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria*, siendo los dos primeros casi el 90% de las bacterias¹³. Se han descrito 127 géneros comunes a todos los seres humanos como *Blautia*, *Coprococcus*, *Ruminococcus*, *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Streptococcus* y *Oscillospira*. (Diapositiva 10).



-Los géneros más abundantes de la microbiota intestinal son *Bacterioides* (10-15%) seguidos de *Eubacterium*, *Faecalibacterium*, *Alistipes*, *Ruminococcus* y *Roseburia* (0.5-1.5%), todos pertenecientes a los filos *Firmicutes* o *Bacteroidetes*. Las especies más abundantes son *Bacterioides doreivulgatus*, *Bacterioides uniformis* (5-10%), *Alistipes putredinis*, *Eubacterium rectale*, *Bacterioides ovatus* y otra docena de especies de los filos *Firmicutes* o *Bacteroidetes* seguidos de decenas de especies cuya abundancia relativa es aproximadamente del 0.1%¹⁴. (Diapositiva 11)

-La composición de la microbiota difiere entre segmentos. Los estudios con cultivos tradicionales indican que el número de bacterias aumenta desde el duodeno (10^3), pasando por el íleon (10^7) hasta el colon (10^{12}). Además, en la parte alta del intestino predominan las bacterias gram+ parcialmente aeróbicas, mientras que en el íleon terminal y colon dominan las gram- y anaerobias estrictas^{15,16}

-Con las nuevas técnicas, como la secuenciación masiva y el análisis bioinformático y el advenimiento de nuevos métodos para aislar la microbiota del intestino delgado (luminal y mucosa), en condiciones más asépticas, evitando la contaminación cruzada al aspirar el contenido intestinal (cápsulas inteligentes^{17,18}, Brisbane aseptic biopsy device y Reimagine Study^{19,20}, estamos empezando a descifrar las importantes diferencias entre la microbiota del tracto digestivo superior e inferior. (Diapositiva 13).

-En comparación con las heces, el microbioma duodenal muestra una mayor abundancia relativa de los filos *Firmicutes* (~ 55%), *Proteobacteria* (~ 21%), *Fusobacteria*, *Actinobacteria* y *TM7* y una disminución significativa de *Bacteroidetes* y *Verrucomicrobia*, con diferencias en más de 2000 OTUs²¹. Los géneros predominantes en el tracto gastrointestinal superior (*Gemella*, *Veillonella*, *Neisseria*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Prevotella*, *Pseudomonas* y *Actinomyces*) son muy diferentes a los del íleon terminal y colon (*Faecalibacterium*, *Ruminococcus* y *Bacterioides*) y se parecen más a los de la saliva que a los de las heces²². De hecho, en pacientes con problemas digestivos funcionales, los 23 géneros bacterianos más prevalentes en duodeno también se encuentran en la saliva²³.



Las comunidades bacterianas del tracto gastrointestinal superior se caracterizaron por una mayor riqueza, y heterogeneidad que las del tracto gastrointestinal inferior, con concentraciones bacterianas que varían entre 10^3 y 10^9 , dependiendo si son sanos o enfermos. En pacientes con sobrecrecimiento bacteriano, bacterias como *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterococcus* y *Clostridium* desplazan a los anaerobios estrictos en el duodeno, lo cual se asocia con síntomas digestivos más severos²⁴. (Diapositiva 14).

-En el yeyuno e íleon la carga bacteriana varía entre $1,5 \times 10^5$ a $3,1 \times 10^7$ OTUs/mL con una diversidad alfa/beta similar entre segmentos. Los principales filos son *Firmicutes*, *Proteobacterias* y *Actinobacterias*, que en conjunto representan casi el 90% de la abundancia relativa total, siendo las *Proteobacterias* más abundantes en el yeyuno que en el duodeno. Las cinco clases dominantes son *Bacilos* y *Clostridios*, *gammaproteobacterias*, *actinobacterias* y *fusobacterias*. Las familias más abundantes en todos los segmentos son *Streptococcaceae* (26%) y *Enterobacteriaceae* (21%).

La microbiota yeyunal también se parece a la de la placa dental y la saliva a nivel de filo, pero no a nivel de género o especie, siendo los anaerobios facultativos *Streptococcus*, *Escherichia* y *Haemophilus* los géneros dominantes^{20,24}. (Diapositiva 15).

-Hay muchos factores que intervienen en el desarrollo de la microbiota del lactante como la edad gestacional de la madre, el modo de parto, la composición de la microbiota materna, la exposición a antibióticos y toxinas, y en general las prácticas de alimentación temprana²⁵. (Diapositiva 16).

-El periodo entre la concepción y los 2 años de edad es una ventana crítica definida por la rápida maduración de las vías metabólicas, endocrinas, neuronales e inmunitarias, cuyo desarrollo depende en gran medida de la correcta colonización de la microbiota intestinal que puede determinar la salud a lo largo de la vida y entre generaciones²⁶.

La microbiota del recién nacido por parto natural se asemeja a la microbiota vaginal de la madre, dominada por *Lactobacillus*, mientras que las microbiota de los bebés nacidos por cesárea se asemejan más a la microbiota cutánea, que está dominada por *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*²⁷.



El establecimiento de la microbiota intestinal sufre dos grandes transiciones en la infancia. La primera, después del nacimiento con la lactancia, dirigida por *Bifidobacterias*. La segunda, durante el destete, con la introducción de alimentos sólidos y la continuación de la alimentación con leche materna, con el establecimiento de un microbioma complejo de tipo adulto dominado por los filos *Bacteroidetes* y *Firmicutes*. Estas alteraciones continúan hasta los tres años de edad y, posteriormente, los seres humanos adquieren microbiotas intestinales estables conocidos como enterotipos, dominados por *Bacteroides* o *Prevotella* o *Ruminococcus*²⁸. (Diapositiva 17).

-La microbiota materna es el mayor determinante de la formación del sistema inmunitario del bebé a través de la liberación de señales moleculares que contribuyen a la expansión de los sistemas inmunitarios innato y adaptativo²⁹. y a su vez la microbiota determina el desarrollo del sistema nervioso y endocrino³⁰. (Diapositiva 18).

-En el adulto, la microbiota desarrolla funciones metabólicas como la fermentación de los residuos alimentarios no digeribles y del moco endógeno, la recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, la absorción de iones, la producción de vitamina B3, B5, B6, B12, K, biotina, tetrahidrofolato, vit D y la absorción de hierro, entre otras. También tiene funciones defensivas como la protección contra los agentes patógenos y el reforzamiento de la barrera intestinal, y funciones tróficas, como el control de la proliferación y diferenciación de las células epiteliales y el desarrollo del sistema inmunitario, nervioso y endocrino, funciones neurológicas mediante la producción de sustancias neuroactivas, y prácticamente puede intervenir en el desarrollo y regulación de cualquier proceso morboso^{31,32,33}. (Diapositiva 19).

-En el adulto, factores como la secreción de ácido gástrico, la producción de IgA y de péptidos antimicrobianos, la motilidad gastrointestinal, los antibióticos, los inhibidores de la bomba de protones y casi cualquier fármaco pueden afectar a la composición de la microbiota³⁴. Otros factores, como la geografía, la edad, el sexo, la genética, el peso, el estrés, el ejercicio físico, el tabaco, el alcohol, el sueño también influyen en la microbiota. Pero el factor más determinante es la nutrición, ya que se ha visto que el consumo de proteínas animales, azúcares, grasas saturadas, emulsionantes y edulcorantes artificiales favorecen una microbiota desequilibrada y



proinflamatoria, y el desarrollo de enfermedades inflamatorias, metabólicas, alérgicas y autoinmunes³⁵, mientras que... (Diapositiva 21).

-La alimentación rica en semillas, cereales, fruta, y verdura, está asociada con una mayor riqueza y diversidad de la microbiota, como se ha visto comparando la microbiota de niños que viven en USA o Italia con niños que viven en poblaciones rurales de Africa o sudamérica^{36,37}. (Diapositiva 22).

-La disbiosis intestinal es un desequilibrio cuantitativo y cualitativo en la composición y función normal de la microbiota intestinal que se relaciona con síntomas gastrointestinales y con una alteración de la homeostasis inmunitaria y metabólica y es el hallazgo más común subyacente a la mayoría de enfermedades humanas.

A diferencia del SIBO, en la disbiosis los cambios en la abundancia relativa afectan presumiblemente a numerosas especies bacterianas, aunque la magnitud de los cambios cuantitativos individuales es menor que en el SIBO. Así, en comparación con los controles sanos, los pacientes con síntomas como diarrea, distensión y dolor abdominal muestran diferencias significativas en la diversidad α/β , que incluyen una disminución significativa de *Porphyromonas*, *Prevotella* y *Fusobacterium* y una menor diversidad filogenética, riqueza y uniformidad de la microbiota³⁸. Los principales determinantes de la disbiosis en los pacientes sintomáticos fueron la edad > 50 años, el uso de antibióticos e inhibidores de la bomba de protones y la cirugía gastrointestinal. Las vías asociadas con el metabolismo de los azúcares simples estaban enriquecidas en los pacientes sintomáticos, mientras que las vías de degradación de los hidratos de carbono complejos eran más frecuentes en los individuos sanos. (Diapositiva 23).

-Algunas intervenciones dietéticas, prebióticos, probióticos, simbióticos, antibióticos y trasplante de microbiota fecal son terapias establecidas, aunque en evolución. Así, por ejemplo, ya disponemos de datos sólidos que indican una respuesta sintomática prolongada (78%), de hasta 3 años, en pacientes con intestino irritable sometidos a trasplante fecal (vía oral y rectal, dosis altas y repetidas)³⁹. La terapia con fagos ya se está ensayando en el control de infecciones multirresistentes, en el cólera, la enf. de Crohn y para limpiar el agua del mar y de los ríos^{40,41}.



Gracias al estudio de la microbiota, hoy disponemos de biomarcadores diagnósticos como la disminución en la abundancia de bacterias productoras de butirato, indicativa de la diabetes de tipo 2 o el aumento de *Fusobacterium* y *Porphyromonas*, indicador de cáncer colorrectal. También podemos estratificar a los pacientes de acuerdo a su microbioma para dirigir terapias existentes, como la dieta FODMAP o la respuesta a quimioterapia, y para perfeccionar las respuestas a las vacunas e inmunoterapia para el melanoma, seleccionar donantes para el trasplante fecal o monitorizar la respuesta clínica a probióticos⁴². (Diapositiva 25).

-Además, se está desarrollando el campo de la mimética del microbioma, que incluye cualquier intervención que reproduzca la interacción entre el microbioma y el huésped, que produzca un resultado terapéutico beneficioso. La mayoría de las investigaciones se han centrado en los postbióticos, que son moléculas o componentes de las bacterias que confieren un beneficio para la salud. Dentro de los postbióticos hay dos clases principales: los paraprobióticos, componentes no viables de las bacterias, incluidas las proteínas bacterianas y polisacáridos, y las fórmulas infantiles fermentadas, siendo los ácidos grasos de cadena corta, el candidato más avanzado⁴³. Otras opciones prometedoras en desarrollo son los antimicrobianos y probióticos avanzados, personalizados y de alta precisión. (Diapositiva 26).



REFERENCIAS

- 1 Matthewman C, Narin A, Huston H, Hopkins CE. Systems to model the personalized aspects of microbiome health and gut dysbiosis. *Mol Aspects Med* 2022;101:115.
- 2 Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature* 2019;569(7758):641-648.
- 3 Renwick S, Ganobis CM, Elder RA, et al. Culturing Human Gut Microbiomes in the Laboratory. *Annu Rev Microbiol* 2021;75:49-69.
- 4 Zhang X, Chen W, Ning Z, Mayne J, Mack D, et al. Deep metaproteomics approach for the study of human microbiomes. *Anal Chem* 2017; 89:9407-15.
- 5 Galloway-Peña J, Hanson B. Tools for Analysis of the Microbiome. *Dig Dis Sci* 2020;65:674-685.
- 6 Mosca A. Making sense of the diversity of diversity indices. *La revue des microbiotes* 2022;23:14.
- 7 Flores GE, Caporaso JG, Henley JB, et al. Temporal variability is a personalized feature of the human microbiome. *Genome Biol* 2014;15:531.
- 8 Armour CR, Nayfach S, Pollard KS, Shapton TJ. A Metagenomic Meta-analysis Reveals Functional Signatures of Health and Disease in the Human Gut Microbiome. *mSystems* 2019;4(4):e00332-18.
- 9 Proctor L. Priorities for the next 10 years of human microbiome research. *Nature*. 2019;569(7758):623-625.
- 10 Sender R, Fuchs S, Milo R. Are We Really Vastly Outnumbered? Revisiting the Ratio of Bacterial to Host Cells in Humans. *Cell* 2016;164:337-40.
- 11 Qin J, Li R, Raes J, Arumugam M, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 2010;464(7285):59-65.
- 12 Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012;486(7402):207-14.



-
- 13 Turpin W, Espin-Garcia O, Xu W, et al. Association of host genome with intestinal microbial composition in a large healthy cohort. *Nat Genet* 2016;48(11):1413-1417.
- 14 Maier L, Pruteanu M, Kuhn M, et al. Extensive impact of non-antibiotic drugs on human gut bacteria. *Nature* 2018;555(7698):623-628.
- 15 Kastl AJ Jr, Terry NA, Wu GD, Albenberg LG. The Structure and Function of the Human Small Intestinal Microbiota: Current Understanding and Future Directions. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2020;9(1):33-45.
- 16 Sundin OH, Mendoza-Ladd A, et al. The human jejunum has an endogenous microbiota that differs from those in the oral cavity and colon. *BMC Microbiol* 2017;17:160.
- 17 Kalantar-Zadeh, K., Berean, K.J., Ha, N. *et al.* A human pilot trial of ingestible electronic capsules capable of sensing different gases in the gut. *Nat Electron* 2018;1:79-87.
- 18 Rezaei Nejad H, Oliveira BCM, Sadeqi A, et al. Ingestible osmotic pill for *in-vivo* sampling of gut microbiome. *Adv Intell Syst* 2019; 1:1900053.
- 19 Leite GGS, Morales W, Weitsman S, Celly S, Parodi G, Mathur R, Sedighi R, Barlow GM, Rezaie A, Pimentel M. Optimizing microbiome sequencing for small intestinal aspirates: validation of novel techniques through the REIMAGINE study. *BMC Microbiol* 2019;19:239.
- 20 Shanahan ER, Zhong L, Talley NJ, Morrison M, Holtmann G. Characterisation of the gastrointestinal mucosa-associated microbiota: a novel technique to prevent cross-contamination during endoscopic procedures. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;43:1186-96.
- 21 Leite GGS, Weitsman S, Parodi G, et al. Mapping the Segmental Microbiomes in the Human Small Bowel in Comparison with Stool: A REIMAGINE Study. *Dig Dis Sci* 2020;65:2595-2604.



-
- 22 Vasapolli R, Schütte K, Schulz C, et al. Analysis of Transcriptionally Active Bacteria Throughout the Gastrointestinal Tract of Healthy Individuals. *Gastroenterology* 2019;157:1081-1092.e3.
- 23 Barlow JT, Leite G, Romano AE, et al. Quantitative sequencing clarifies the role of disruptor taxa, oral microbiota, and strict anaerobes in the human small-intestine microbiome. *Microbiome* 2021;9:214.
- 24 Sundin OH, Mendoza-Ladd A, Zeng M, et al. The human jejunum has an endogenous microbiota that differs from those in the oral cavity and colon. *BMC Microbiol* 2017;17:160.
- 25 Robertson RC, Manges AR, Finlay BB, Prendergast AJ. The Human Microbiome and Child Growth - First 1000 Days and Beyond. *Trends Microbiol* 2019;27:131-147.
- 26 Lozupone CA, Stombaugh J, Gonzalez A, et al. Meta-analyses of studies of the human microbiota. *Genome Res* 2013;23:1704-14.
- 27 Stiemsma LT, Michels KB. The Role of the Microbiome in the Developmental Origins of Health and Disease. *Pediatrics* 2018;141:e20172437.
- 28 Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011;473(7346):174-80.
- 29 Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 2016;352(6285):539-44.
- 30 Collins SM, Surette M, Bercik P. The interplay between the intestinal microbiota and the brain. *Nat Rev Microbiol* 2012;10:735-42.
- 31 Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003;361(9356):512-9.
- 32 Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol* 2019;4:623-632.



33 van Thiel IAM, Botschuijver S, de Jonge WJ, Seppen J. Painful interactions: Microbial compounds and visceral pain. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 2020;1866(1):165534.

34 Simrén M, Barbara G, Flint HJ, et al; Rome Foundation Committee. Intestinal microbiota in functional bowel disorders: a Rome foundation report. *Gut* 2013;62:159-76.

35 Ramos-Lopez O, Martinez-Urbistondo D, Vargas-Núñez JA, Martinez JA. The Role of Nutrition on Meta-inflammation: Insights and Potential Targets in Communicable and Chronic Disease Management. *Curr Obes Rep* 2022:1-31.

36 Yatsunencko T, Rey FE, Manary MJ, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* 2012;486(7402):222-7.

37 De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:14691e6

38 Saffouri GB, Shields-Cutler RR, Chen J, et al. Small intestinal microbial dysbiosis underlies symptoms associated with functional gastrointestinal disorders. *Nat Commun* 2019;10:2012.

39 El-Salhy M, Winkel R, Casen C, Hausken T, Gilja OH, Hatlebakk JG. Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation for Patients With Irritable Bowel Syndrome at 3 Years After Transplantation. *Gastroenterology* 2022;163:982-994.e14.

40 La Vergne S, Hamilton T, Biswas B, et al. Phage therapy for a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* craniectomy site infection. *Open Forum Infect Dis* 2018;5(4):ofy064.

41 Sabino J, Hirten RP, Colombel JF. Review article: bacteriophages in gastroenterology-from biology to clinical applications. *Aliment Pharmacol Ther* 2020;51:53-63.



42 Gulliver EL, Young RB, Chonwerawong M, et al. Review article: the future of microbiome-based therapeutics. *Aliment Pharmacol Ther* 2022;56:192-208.

43 Gill PA, van Zelm MC, Muir JG, Gibson PR. Review article: short chain fatty acids as potential therapeutic agents in human gastrointestinal and inflammatory disorders. *Aliment Pharmacol Ther* 2018;48:15-34.