



**UNIVERSITAT
ROVIRA i VIRGILI**

**REVISIÓ BIBLIOGRÀFICA SOBRE LES RELACIONS ENTRE EL
VIROMA INESTINAL, LA MICROBIOTA I LA SALUT HUMANA
COM A EINA BIOTECNOLOGICA**

Albert Sevilleja Torrents

TREBALL DE FI DE GRAU DE BIOTECNOLOIA

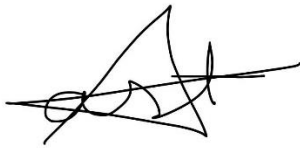
Tutor acadèmic: Javier Capilla Luque, Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques.

Email: javier.capilla@urv.cat

Data de convocatòria; Juny 2023

Jo, Albert Sevilleja Torrents , amb DNI 47671524E, sóc coneixedor de la guia de prevenció del plagi a la URV Prevenció, detecció i tractament del plagi en la docència: guia per a estudiants (aprovada el juliol 2017) (<http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formacio-competencies-nuclears/plagi/>) i afirmo que aquest TFG no constitueix cap de les conductes considerades com a plagi per la URV.

Tarragona, 07 de Juny de 2023

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Albert Sevilleja', written in a cursive style.

ÍNDEX

1	INTRODUCCIÓ	5
2	OBJECTIUS	7
2.1	OBJECTIUS PRINCIPALS	7
2.2	OBJECTIUS SECUNDARIS.....	7
3	MÈTODES	8
3.1	CRITERIS D'ACCEPTACIÓ.....	8
3.2	CRITERIS D'EXCLUSIÓ	8
4	COLONITZACIÓ DEL TRACTE INTESTINAL DE LA MICROBIOTA I VIROMA	9
4.1	TRANSMISSIÓ VERTICAL DE MICROBIOTA EN EL ÚTER.....	9
4.2	NOU NATS	9
4.3	ADULTS.....	13
5	TAXONOMIA DEL VIROMA INTESTINAL ADULT SALUDABLE	16
5.1	COM S'ESTUDIA EL VIROMA INTESTINAL I LES SEVES LIMITACIONS	16
5.2	BACTERIÒFAGS	18
5.3	VIRUS EUCARIOTES	19
6	RELACIONS ENTRE LA MICROBIOTA I EL VIROMA	26
6.1	TRANSMISSIÓ HORITZONTAL DE GENS	26
6.2	CICLE DELS NUTRIENTS	27
6.3	COLONITZACIÓ DEL TRACTE INTESTINAL.....	27
6.4	MODULACIÓ DE RECEPTORS BACTERIANS	28
7	RELACIONS ENTRE EL SISTEMA IMMUNE HUMÀ I EL VIROMA	29
7.1	MECANISMES INNATS.....	29
7.2	MECANISMES ADAPTATIUS.....	30
7.3	IMMUNITAT MEDIADA PER BACTERIÒFAGS.....	31
8	POSSIBLES APLICACIONS BIOTECNOLÒGIQUES VIROMA INTESTINAL	35
8.1	VIROMA COM A BIOMARCADOR	36
8.2	ANTI-INFLAMATORIS BASATS EN BACTERIÒFAGS.....	41
9	DISCUSSIÓ	42
10	AUTOAVALUACIÓ	45
11	BIBLIOGRAFIA	46

1 Introducció

Els cos humà no és només un organisme, sinó que és un ecosistema en el qual conviuen tot tipus de microorganismes en diverses parts anatòmiques, formant una comunitat dinàmica que es coneix com a microbiota humana. La microbiota està composta per bacteris de tot tipus, fongs, arqueobacteris i virus, que en un estat de salut conviuen amb el cos humà establint diferents tipus de relacions. La microbiota humana es pot dividir en compartiments anatòmics, ja que cadascun presenta un equilibri d'espècies diferents, i dins de tots ells, el que presenta una major quantitat i diversitat de microbiota és el tracte intestinal. La microbiota s'adquireix durant el part i hi ha diversos factors que al llarg de la vida tindran un paper clau en determinar la composició de la microbiota, per exemple, el tipus de part, la dieta, l'estrès o les exposicions ambientals. (Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

Dins de l'estudi de la microbiota, la branca més estudiada i la que a priori sembla tenir el major impacte en la salut humana és el bacterioma, que és el conjunt de poblacions bacterianes que habiten el cos humà. En part coneixem tant dels bacteris, especialment els extracel·lulars, degut a la facilitat de treballar amb ells, ja que tradicionalment s'han aïllat en cultius. A més, el bacterioma en concret s'ha estudiat extensivament en estats patològics, com la diabetis o la malaltia inflamatòria intestinal, indicant que aquestes patologies presenten un bacterioma característic. (Barrera-Vázquez & Gomez-Verjan, 2020; Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

Tot i que el component més estudiat del microbioma són els bacteris, no és el grup més abundant del microbioma intestinal, ja que es calcula que hi ha 10^9 partícules víriques per gram de matèria fecal a l'intestí, superant als bacteris. (Barrera-Vázquez & Gomez-Verjan, 2020; Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

Els virus són paràsits obligats formats com a mínim per dos elements: una càpsida proteica que té la funció de protegir el material genètic, que pot ser tant DNA com RNA de doble cadena o cadena senzilla. Dins del viroma, aquest es pot separar en tres components principals: els retrovirus endògens humans que formen part del genoma humà, els virus eucariotes i els bacteriòfags. En aquesta revisió bibliogràfica, es tindrà en compte només els virus eucariotes i bacteriòfags. (Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

El conjunt de bacteriòfags, també anomenat fagogenoma, representa la major porció del viroma i són virus que infecten el bacterioma. Els bacteriòfags poden tenir dos estils de vida: estrictament lític o poden ser temperats i tenir la capacitat de realitzar cicles lisogènics i integrar-se al genoma bacterià com a pròfags fins que canvis en les condicions ambientals indueixin l'activació del pròfag i es faci el cicle lític. No obstant això, quin estil de vida presentin, en tots dos casos el resultat de la infecció és la lisi del bacteri. És per aquest motiu que els bacteriòfags tenen un paper molt important en el microbioma, ja que tenen la capacitat de modular les poblacions bacterianes que poden créixer i, per tant, tindran un impacte directe en totes les malalties en les quals es presenta un microbioma alterat. (Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

En quant als virus d'eucariotes, es poden separar en virus que infecten humans i virus que ingerim per la dieta. El seu rol és poc conegut ja que la majoria dels virus humans que estableixen relacions de comensalisme amb l'intestí humà s'han descobert recentment a partir d'estudis metagenòmics. Pel que respecta als virus ingerits per la dieta, són virus passatgers que a priori no interactuen amb el cos humà. La majoria d'aquests virus són de plantes de RNA i són el principal component detectable del viroma. Hi ha un tercer grup dins dels virus d'eucariotes que són els virus d'altres components de la microbiota com ara amebes, fongs o helmints, tot i que aquests virus gairebé no han sigut estudiats o caracteritzats degut a la falta de seqüències consens. (Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019; Vemuri et al., 2020)

A l'hora d'estudiar les poblacions víriques que habiten el cos humà, presenten una sèrie de dificultats afegides respecte als bacteris. La primera dificultat és que els virus, al ser paràsits obligats, és més difícil que siguin aïllats i cultivats. Un altre gran inconvenient respecte als bacteris és que els virus no posseeixen gens ben conservats com ho seria el cas dels bacteris, on es pot utilitzar tant el 16S com 18S rRNA per realitzar estudis metagenòmics de seqüenciació massiva i així determinar les espècies bacterianes presents. Amb els virus, també s'utilitza la seqüenciació massiva i metagenòmica, no obstant això, la identificació de seqüències víriques es fa per comparació amb bases de dades que contenen seqüències consens dels pocs virus que coneixem, el que porta a que la majoria de seqüències amplificades no tinguin un *match* amb una seqüència consens. (Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

En quant al terme viroma humà, és un concepte relativament nou, ja que va ser utilitzat per primera vegada el 2003 per Anderson N, et al. i fins al 2008 no va sorgir el primer

estudi en descriure el viroma humà utilitzant tècniques metagenòmiques (Breitbart et al., 2008) Aquest estudi va consistir en l'estudi del viroma en recent nascuts utilitzant la seqüenciació metagenòmica. Arran d'aquest estudi, es va començar a establir el concepte de viroma, i actualment el viroma és un tema d'actualitat que es veu reflectit en el creixement exponencial que han experimentat les cites bibliogràfiques relacionades amb el viroma humà. Donat el gran volum de cites bibliogràfiques recents sobre la temàtica, juntament amb la descripció de noves interaccions entre el viroma, la microbiota i el cos humà, s'obre la porta al desenvolupament de noves aplicacions biotecnològiques en molts àmbits molt dispars.

2 Objectius

2.1 Objectius principals

Conèixer la relació entre el viroma, la microbiota i el cos humà per poder aplicar aquest coneixement per desenvolupar noves eines biotecnològiques basades en el viroma humà.

2.2 Objectius secundaris

Comprendre com el viroma interactua amb el sistema immune i quins mecanismes són capaços d'induir canvis en l'estat de salut.

Entendre com adquirim el viroma i quins són els principals components en el viroma humà.

3 Mètodes

Per a realitzar la cerca bibliogràfica s'ha utilitzat majoritàriament PubMed, i en menor mesura Google Scholar.

Primerament, es va realitzar una cerca general amb les paraules clau "*Virome*", "*Human Virome*" o "*GI Tract Virome*", i es va filtrar per a obtenir *reviews* publicades en els últims 5 anys, amb l'objectiu d'obtenir un coneixement general sobre el camp del viroma humà intestinal. Un cop realitzada la cerca inicial, en la qual es va començar a combinar els termes de cerca anteriors amb operadors AND, OR, NOT per obtenir informació per a apartats concrets. En diferents ocasions s'han realitzat cerques addicionals per completar el text, i s'han utilitzat termes específics per a cada apartat, com per exemple "*Bacteriophage*" AND "*Immune System*", "*PMMoV*" AND "*Waste water*", o "*Anellovirus*" AND "*Immunosuppression*". Els filtres aplicats a partir de la segona cerca sempre han sigut els últims 5 anys, tot i que, en alguna ocasió, per falta de bibliografia nova, s'han utilitzat les referències més recents independentment del filtre de 5 anys.

3.1 Criteris d'acceptació

S'han seleccionat articles científics que compleixen els següents criteris:

- El contingut s'ajusta al viroma intestinal.
- El contingut ajuda a entendre algun aspecte clau sobre el viroma intestinal.
- Articles més antics que ajudin a comprendre aspectes bàsics o descobriments rellevants sobre el viroma intestinal.
- Idioma és l'anglès.
- Article de lectura gratuïta.

3.2 Criteris d'exclusió

- Articles sobre el viroma que no s'ajustaven al viroma intestinal.
- Idioma de l'article no és l'anglès.
- L'article no es pot accedir de manera gratuïta.

4 Colonització del tracte intestinal de la microbiota i viroma

4.1 Transmissió vertical de microbiota en el úter

El concepte de la transmissió vertical de microbiota esta sota escrutini en la comunitat científica en base a nous estudis que semblen indicar que realment si hi ha una transmissió vertical de microbiota entre mare i fetus. (Aagaard et al., 2014; Bushman & Liang, 2021)

La hipòtesi que durant l'embaràs hi havia transmissió vertical de microbiota va sorgir del descobriment per seqüenciació de poblacions bacterianes en la placenta, meconi i líquid amniòtic, anant en contra de la hipòtesi de l'úter estèril. No obstant això, a partir d'aquest descobriment es van realitzar diversos estudis per comprovar la veracitat de la troballa i es va determinar que les seqüències bacterianes detectades provenien de contaminacions dels reactius utilitzats. Una altra evidència que suporta la hipòtesi de l'úter estèril és el fet que podem aconseguir animals lliures de microbiota si durant el part es realitza per cesària estèril i traslladem l'animal a un ambient lliure de bacteris. L'animal romandrà estèril, indicant que durant la gestació no hi ha hagut una transmissió de microbiota. (Aagaard et al., 2014; Bushman & Liang, 2021)

Pel que fa a la transmissió vertical de virus patògens, sí és un mecanisme ben descrit (Liang & Bushman, 2021). No obstant això, aquesta transmissió es dona quan hi ha estats de malaltia associats a infeccions víriques i encara no hi ha cap estudi al respecte de la transmissió vertical del viroma. (Barr, 2017)

Alhora de realitzar aquest treball es tindrà en compte la hipòtesis del úter estèril degut a la falta d'evidències fermes en contra. Per tant els nous nats alhora del part no presenta cap tipus de microbiota.

4.2 Nou nats

Respecte a com els nounats adquireixen la microbiota, és un procés àmpliament estudiat i del qual coneixem les seves fases. Aquest procés de colonització és similar en tots els nounats, independentment de les seves diferències individuals. El procés de colonització es pot dividir en les següents etapes: després del naixement i part, tres mesos de vida, sis mesos de vida i tres o més anys de vida. (Senn et al., 2020)

Durant el part, es pot observar una diferència entre els nadons que neixen de forma natural o per cesària, ja que, en el part natural, acostumen a tenir una major diversitat

bacteriana i viral als primers mesos. No obstant això, aquests resultats no s'han pogut reproduir en tots els grups estudiats. Per tant, s'ha de tenir en compte que el tipus de part no influeix en l'adquisició de microbiota. (Liang & Bushman, 2021; Tiamani et al., 2022; Townsend et al., 2021)

En la primera etapa de colonització bacteriana, després del naixement, els infants que han nascut sense experimentar una colonització ràpida del tracte intestinal, degut a la ruptura de membranes durant el part (Liang & Bushman, 2021). Principalment, aquesta colonització és realitzada per bacteris aeròbics, els quals, en consumir oxigen, creen nínxols on els bacteris anaeròbics facultatius, com ara els bacteris representats pels fílums Fimbricutes o Proteobacteria, poden prosperar i consumir encara més oxigen. Aquest consum d'oxigen facilita l'aparició més endavant dels bacteris anaeròbics estrictes dels gèneres Actinobacteria, Bacteroidetes i Fimbricutes. (Senn et al., 2020)

Durant aquest període, el tipus de dieta que s'administri al nou-nat, ja sigui llet materna o llet de fórmula, també té un efecte. Recentment, s'ha vist que la llet materna podria portar bacteris de la mare al nadó, específicament bacteris del gènere *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*, representant una altra via per la qual els nou-nats adquireixen microbiota que conté profàgs que poden ser induïts. (Bushman & Liang, 2021; Dahlman et al., 2021; Townsend et al., 2021)

A partir de tot aquest bacterioma adquirit per diverses vies, sembla ser que també és la via d'entrada dels bacteriòfags al nadó. La hipòtesi més acceptada sobre d'on provenen els primers bacteriòfags es basa en que la majoria dels bacteriòfags que troben inicialment a l'intestí humà provenen de pròfags en la microbiota colonitzadora inicial. Aquesta hipòtesi, anomenada "*piggyback*", es pot suportar pel fet que en ratolins, els bacteris que tenen pròfags tenen una avantatge competitiu sobre els bacteris sense pròfag, ja que en expressar-se el pròfag, pot evitar la colonització d'espècies semblants que no en tenen al seu genoma. No s'ha demostrat aquest efecte en humans (Dahlman et al., 2021; Tiamani et al., 2022). Si considerem aquesta hipòtesi com a certa envers humans, voldria dir que la majoria del viroma inicial prové de la inducció dels pròfags. (Liang et al., 2020)

Al primer mes de vida, el viroma del nadó presenta majoritàriament bacteriòfags que presenten un cicle lisogènic, ja que són els que provenen de pròfags. No obstant això, la

senyal de inducció massiva de pròfags no es coneix, no s'ha determinat el seu origen en humans, tot i que s'han postulat diverses hipòtesis com a explicació.

Primerament, s'ha postulat que la composició de la llet materna és clau perquè es doni la inducció. La llet materna conté múltiples components immunes que protegeixen al nadó de infeccions intestinals, com ara anticossos materns IgM, oligosacàrids i lactoferrina. El rol d'aquests components és principalment actuar com a defenses contra possibles infeccions víriques o bacterianes intestinals, ja que els nadons amamentats amb llet materna presenten una menor proporció de virus eucariotes en femtes. A més, sembla ser que la llet materna té un efecte secundari en la microbiota, ja que en presència de llet materna s'ha observat que bacteris específics incrementen la seva abundància, el que es reflecteix a nivell de viroma com un augment dels bacteriòfags associats a aquests bacteris. El primer efecte observable que té la dieta sobre el viroma es manifesta en relació amb el tipus de lactància materna. S'ha observat que els nadons que són alimentats amb llet materna presenten una menor acumulació de virus humans (Liang & Bushman, 2021). Això podria ser degut al fet que la llet materna conté múltiples components immunes que protegeixen al nadó de les infeccions intestinals, com ara la presència d'anticossos materns IgM, oligosacàrids i lactoferrina. A part d'aquest efecte de prevenir malalties, la llet materna també té un efecte sobre els bacteriòfags, ja que s'ha observat que bacteris específics incrementen la seva abundància quan hi ha llet materna, i això porta a un augment dels bacteriòfags associats (Liang & Bushman, 2021; Tiamani et al., 2022). Altres possibles efectes directes en el fagogenoma de la llet materna estarien lligats a la seva gran concentració de greixos, ja que s'ha observat en ratolins amb dietes riques en greixos que presentaven una composició del viroma característica, amb un augment de bacteriòfags de la família *Microviridae*. Aquest efecte, per ara, només s'ha descrit en ratolins, però podria ser un altre exemple de la importància de la llet materna i de com influeix en el viroma. (Townsend et al., 2021)

Una altra possible explicació per explicar per què es dona aquesta inducció de bacteriòfags podria ser la presència dels metabòlits bacterians les condicions de pH i oxigen, els nutrients i la bilis podrien actuar com a senyals inductores per a la producció de pròfags, com s'ha observat en diferents models. (Liang & Bushman, 2021). No obstant això, en el cas del cos humà, no es coneix si hi ha una senyal específica ni quina és.

A partir d'aquest moment s'establirà la relació bacterioma-viroma de predació, en la qual els pròfags induïts podran infectar els seus hostes per propagar-se per tot l'intestí. Durant aquesta etapa, els bacteriòfags presents dependran del tipus de bacteris presents, ja que s'ha vist que hi ha una relació entre l'abundància de la microbiota a l'intestí i el nombre de bacteriòfags que infecten aquesta microbiota. (Liang & Bushman, 2021; Townsend et al., 2021). Per tant, és normal que els primers bacteriòfags que es detecten en nounats pertanyin a les famílies *Siphoviridae*, *Podoviridae* i *Myoviridae*, ja que tradicionalment els seus hostes són espècies dels primers bacteris que colonitzen el tracte intestinal. (Liang & Bushman, 2021).

Tots els factors esmentats anteriorment promouen un canvi en el bacterioma al voltant dels tres mesos de vida, on el bacterioma presenta una dominància d'*Actinobacteris*, especialment *Bifidobacterium* provinent de la llet materna, *Bacteroidetes* i *Proteobacteria* com *Escherichia coli*. (Senn et al., 2020).

Cal destacar la importància del moment en què el nadó comenci a ingerir menjar sòlid, aproximadament a partir dels 6 mesos de vida, ja que marca el punt en què el seu microbioma començarà a semblar-se al de l'adult. Aquest canvi sembla ser que no ve propiciat per la introducció del menjar sòlid, sinó que el factor determinant és que el nadó deixa de ingerir llet materna. (Senn et al., 2020)

Tot i que el menjar sòlid no és el factor determinant, sí que té un paper secundari moderat, ja que gairebé tots els aliments que ingerim contenen bacteriòfags, fins i tot els menjars que han passat per processos de desinfecció com la fermentació o la pasteurització. Aquesta podria ser una nova via per la qual els nadons adquireixen diverses poblacions tant de bacteriòfags com de bacteris. (Townsend et al., 2021)

Finalment, aproximadament després dels 3 anys de vida, i amb l'efecte combinat de tots els factors esmentats, la microbiota intestinal s'estabilitza i es similar a la microbiota adulta tant en diversitat com en l'abundància d'espècies dels fílums *Firmicutes* i *Bacteroidetes*. La dominància d'aquests fílums promourà que els bacteriòfags específics per a aquests hostes augmentin en quantitat, i alhora que disminueixen els bacteriòfags que no tenen els seus hostes presents. Això provoca una gran disminució en la riquesa i diversitat del viroma. (Lim et al., 2015)

Pel que fa a l'estil de vida dels bacteriòfags que trobem en els nounats, sembla indicar que la majoria presenta un estil de vida lisogènic. Aquest estil de vida estaria

determinat, en part, per les condicions limitants d'hostes a qui infectar, ja que durant aquestes etapes el bacterioma experimenta canvis significatius. La predominància de l'estil de vida lisogènic durant la primera etapa seria un mecanisme d'autopreservació dels bacteriòfags. (Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

Durant aquest procés d'adquisició, també en algun moment apareixen els virus humans comensals. Realment es coneix poc sobre aquests virus, i no està ben establert en quin moment comencen a formar part del viroma, però es creu que tot i que poden aparèixer durant el procés de lactància amb llet materna, la seva adquisició majoritària es dona amb la introducció de menjar sòlid, ja que les defenses que s'administren per la llet materna desapareixen i a partir de l'exposició ambiental, els virus humans comensals s'estableixen al tracte intestinal. (Lim et al., 2015; Senn et al., 2020)

Resumint, podem dir que la colonització del tracte intestinal en nounats per part del viroma es produeix de manera escalonada. Primerament, hi ha una gran inducció dels pròfags que acompanyen el bacterioma. Després, amb la introducció de menjar sòlid, es promou l'aparició de virus humans. A més, hi ha un canvi menors en el fagogenoma, influenciat per un canvi en el bacterioma. (Bushman & Liang, 2021; Liang et al., 2020)

4.3 Adults

El viroma dels adults es considera estable amb el temps, i segons alguns autors, hi ha una predominança dels bacteriòfags lítics. A més de ser estable, s'ha observat que el viroma és altament individualitzat. No obstant això, tot i ser considerat estable, estudis recents indiquen que amb el temps hi ha una desviació genètica significativa en el viroma, en part relacionada amb la desviació del bacterioma associada a l'edat. (Dahlman et al., 2021)

Durant la fase adulta, a més del viroma persistent de bacteriòfags i virus humans comensals, també es poden detectar clústers virals transitoris que generalment presenten una major abundància que el viroma persistent. Aquests clústers solen estar formats per bacteriòfags lisogènics o virus eucariotes, com virus de plantes o altres virus que ingerim a través de la dieta. (Dahlman et al., 2021)

Cal tenir en compte que a través de la dieta ingerim tot tipus de virus, tant bacteriòfags com virus de plantes i altres eucariotes, que poden tenir un efecte sobre el nostre microbioma (Tiamani et al., 2022). No obstant això, aquest efecte sobre el microbioma és moderat i reversible, i en alguns casos els canvis en el microbioma associats a la dieta

en adults no són superiors a la variabilitat interindividual. A més de contenir virus, es creu que diversos aliments podrien actuar com a inductors de pròfags, tot i que en aquest cas l'efecte seria molt petit i estaria per sota de la variabilitat interindividual. (Townsend et al., 2021)

En quant al manteniment del viroma al llarg del temps, estudis recents indiquen que hi ha una gran estabilitat temporal del viroma a nivell individual. S'ha observat que les composicions de viromes en individus sans són iguals o molt semblants a les composicions de fa 26 mesos. No obstant això, no disposem d'estudis a llarg termini sobre com evoluciona el viroma. (Shkoporov et al., 2019).

Durant l'edat adulta, el principal factor que influencia el viroma humà és la localització geogràfica, per damunt dels factors genètics, tot i que encara hi ha discrepàncies a la literatura científica en aquest camp d'estudi.

D'una banda, diversos estudis en nadons bessons, tant univitel·lins com bivitellins, indiquen que el component genètic té un efecte, ja que els bessons univitel·lins presentaven un viroma més semblant entre ells que amb la resta de individus. D'altra banda, tenim estudis a gran escala en els quals es va observar que el viroma presentava similituds entre grups de persones que habitaven regions geogràfiques similars, a causa de l'efecte dels factors ambientals. Aquest fet es va corroborar en un estudi realitzat amb bessons adults, on es va observar que, tot i que en general els bessons univitel·lins presentaven una major similitud entre ells que amb persones desconegudes, en alguns casos el viroma havia canviat tant entre bessons que no hi havia cap similitud (Liang & Bushman, 2021). Totes aquestes discrepàncies es poden explicar si tenim en compte els factors ambientals. En l'estudi realitzat amb nadons bessons, cal tenir en compte que aquests habitaven el mateix entorn, per tant, a més de compartir els factors genètics, també comparteixen els mateixos factors ambientals (Lim et al., 2015). Seguint la mateixa lògica, quan els bessons estan sotmesos a diferents factors ambientals, és normal que s'observin diferències en el viroma. (Lim et al., 2015)

Un altre factor a tenir en compte és l'ús d'antibiòtics, ja que, d'una banda, maten de manera indiscriminada la microbiota i promouen un estat de disbiosi que afecta els bacteriòfags, ja que el seu amfitrió pot no estar present en el tracte intestinal o estar-hi en menor quantitat. Paradoxalment, en estudis sobre l'abundància del viroma durant el tractament amb antibiòtics, s'ha observat que aquest no experimenta cap variació en la

seva abundància. Finalment, també cal tenir en compte que durant tractaments curts amb antibiòtics, s'ha observat un augment en la inducció de pròfags a causa dels danys al DNA causats pels antibiòtics i l'inici de la resposta de SOS del bacteri, augmentant així la quantitat de viroma. (Townsend et al., 2021)

Degut a la suposada dominància lítica dels bacteriòfags en adults, han sorgit diferents hipòtesis per explicar la coexistència estable entre bacteriòfags lítics i bacteris de la microbiota. Les principals hipòtesis són les següents: dinàmica de carrera armamentista (tant bacteriòfags com bacteris estan en constant evolució per evitar l'extinció), canvis d'amfitrió facilitats per la microbiota (els bacteriòfags poden canviar d'amfitrió un cop han erradicat el seu amfitrió principal) o refugis espacials (llocs on els bacteris poden proliferar sense ser objectius dels bacteriòfags). (Dahlman et al., 2021)

En l'avaluació d'aquestes hipòtesis, encara estem en etapes primerenques, però per la hipòtesi de la dinàmica de carrera armamentista s'han descrit mecanismes que encaixarien, com l'aparició de resistència a bacteriòfags per part dels bacteris. Pel que fa a la hipòtesi dels canvis d'amfitrió facilitats per la microbiota, es coneix que en ambients amb una elevada diversitat microbiana, s'estimula el canvi d'amfitrió i que hi hagi una major disponibilitat d'amfitrions potencials, el que podria explicar com sobreviuen els bacteriòfags lítics en l'intestí de nadons i nens, ja que presenten una major variabilitat, tot i que això encara ha de ser demostrat. La hipòtesi actualment més acceptada és la dels refugis espacials, ja que en estudis recents s'ha observat una heterogeneïtat espacial en l'intestí que porta a la formació de microhàbitats, que serien el principal mecanisme de coexistència. (Dahlman et al., 2021)

No obstant això, donat el nostre coneixement limitat de la biologia dels bacteriòfags, és molt probable que hi hagi altres mecanismes que afectin a la coexistència. Un exemple seria la capacitat dels bacteriòfags crAss-like de reproduir-se a nivells normals sense afectar el creixement de l'amfitrió bacteri en cultius, mitjançant mecanismes que encara no coneixem. (Dahlman et al., 2021)

També és plausible pensar que la relació de predació entre els bacteriòfags del viroma i el bacterioma tingui un efecte a nivell de soques i subsoques de bacteris i bacteriòfags, mentre es manté intacta la composició taxonòmica superior, com ara el gènere o la família. Per tant, en realitzar estudis metagenòmics i centrar-se en aquests nivells

superiors, és possible que no s'observin els canvis induïts pel fagogenoma. (Shkoporov et al., 2019)

Finalment, en estudis més recents s'ha plantejat la hipòtesi que els bacteriòfags que dominen durant l'etapa adulta també presenten majoritàriament cicles lisogènics. Això podria ser plausible ja que el nostre coneixement actual de la composició del viroma és limitat, i és possible que els bacteriòfags lisogènics quedin enmascarats per la gran abundància de bacteriòfags lítics que sí podem detectar. (Townsend et al., 2021).

El que sí està clar és que a l'intestí humà hi ha un delicat equilibri entre els estils de vida lític i lisogènic que encara no coneixem a fons. (Jansen & Matthijssens, 2023)

En aquest treball, davant de la discrepància en la literatura, s'acceptarà que l'estil de vida de la majoria del fagogenoma és temperat en adults, afavorint el cicle lisogènic sobre el lític

Com a conclusió podem dir que cal tenir en compte que la composició del viroma varia al llarg del tracte intestinal a causa de les condicions ambientals i, en el cas dels bacteriòfags dels hostes que habiten aquesta part del tracte intestinal (Townsend et al., 2021). No obstant això, degut a la majoria dels estudis sobre el viroma es realitzen a partir de femtes, no podem avaluar ni conèixer realment la distribució al llarg de l'intestí.

5 Taxonomia del viroma intestinal adult saludable

Aquest apartat es centrarà en el viroma adult ja que comparat amb el viroma d'infants es estable durant el temps i la majoria d'estudis s'han realitzat a partir de mostres d'adults.

5.1 Com s'estudia el viroma intestinal i les seves limitacions

Per estudiar el viroma intestinal, s'acostuma a partir d'una mostra de femta, degut a que és més fàcil d'adquirir que una biòpsia d'intestí. El protocol normal consta de dues parts: primerament, aïllar el material genètic que prové de les *Virus-Like Particles* (VLP) que com el seu nom indica són partícules amb característiques semblants als virus que poden o no ser infeccioses, i a continuació, ampliar aquest material genòmic i fer la llibreria metagenòmica. (Aggarwala et al., 2017)

Depenent del tipus de purificació que es faci, s'aïllarà el material genètic de virus d'RNA o DNA, o de virus amb embolcall o nucli. El primer pas d'un protocol típic per

aïllar VLP consisteix a suspendre una quantitat de femta en un buffer per a ser centrifugat o filtrat i poder separar les VLP de les cèl·lules bacterianes o humanes. Cal tenir en compte, en filtrar, que la majoria de protocols utilitzen mides de porus entre 0,2 i 0,45 micròmetres, i cal destacar que hi ha tant virus eucariotes com bacteriòfags que tenen una mida superior a 0,45 micròmetres, i d'altra banda també coneixem que hi ha bacteris més petits de 0,45 micròmetres. Així doncs, cal tenir en compte que podem estar discriminant una part del viroma o afegint contaminació via bacteris petits. (Aggarwala et al., 2017)

Seguit de la filtració, s'acostuma a fer un segon pas de purificació, que pot ser una altra filtració en centrifuga o centrifugació en gradient de clorur de cesi (CsCl) per purificar i concentrar les VLP. Tot i que el pas més utilitzat és la filtració en centrifuga, s'ha observat que la centrifugació en gradient de clorur de cesi és millor per eliminar el DNA procedent de l'hoste. No obstant això, aquest pas és molt laboriós i per això s'utilitza més la filtració en centrifuga. Addicionalment, es poden afegir altres passos de purificació, com afegir cloroform per trencar les membranes cel·lulars tant de bacteris com de cèl·lules de l'hoste. No obstant això, aquest pas presenta l'inconvenient que podem perdre els virus embolcallats i podria tenir altres efectes en altres poblacions de virus, és per això que aquest pas no s'acostuma a realitzar. L'últim pas de la purificació consisteix en eliminar els àcids nucleics lliures afegint DNases i RNases. (Aggarwala et al., 2017)

En la segona part del protocol s'inicia amb l'aïllament del material genètic de les VLP purificades, això es pot fer per diversos mètodes comercials estandarditzats. Com la quantitat de material genètic aïllat de les VLP és considerablement poc, s'acostuma a fer passos d'amplificació del material genètic. Si volem amplificar DNA, un dels mètodes més utilitzats és "*Multiple Displacement Amplification*" on s'utilitza la polimerasa del bacteriòfag $\Phi 29$ per amplificar el material genètic utilitzant oligonucleòtids aleatoris com a primer. En el cas que vulguem amplificar l'RNA, tindríem que afegir un pas per aconseguir cDNA i podríem utilitzar el mateix mètode que amb el DNA. (Aggarwala et al., 2017)

Un cop ja tenim una quantitat considerable de material genètic, ja podríem construir la llibreria genètica per mètodes estàndard comercials. (Aggarwala et al., 2017)

Degut a les limitacions que presenta l'estudi dels virus i al fet que la majoria dels estudis sobre la composició del viroma es basen en utilitzar una base de dades de seqüències consens per identificar les espècies víriques, aproximadament el 90% de les seqüències del viroma detectades no presenten homologia amb cap seqüència consens (Aggarwala et al., 2017; Shkoporov et al., 2019) i aquest conjunt de seqüències víriques no identificades es coneix com a "*viral dark matter*". (Shkoporov et al., 2019).

No obstant això, en un dels estudis de metagenòmica més detallats, els resultats indiquen que només 23 bacteriòfags es comparteixen per més de la meitat dels individus, tot i que encara així aquesta coincidència és només una part del viroma que detectem acuradament. (Koonin et al., 2021)

5.2 Bacteriòfags

Dins dels virus bacteriòfags, la gran majoria de deteccions en el viroma pertanyen a dos dominis: *Duplodnaviria* i *Monodnaviria*.

Els bacteriòfags que pertanyen al domini *Duplodnaviria* es caracteritzen per ser de material genètic dsDNA, tenen càpsida icosaèdrica i utilitzen terminases, un tipus d'ATPases, per empaquetar el material genètic. (Koonin et al., 2021)

Dins d'aquest domini, la classe amb major representació en tot el viroma és *Caudovirales*. Aquests bacteriòfags de dsDNA presenten, a part de la càpsida icosaèdrica, una cua. Pel que fa als seus hostes bacterians, poden infectar un gran rang de microbiota humana intestinal; per exemple, tenen la capacitat d'infectar membres dels següents filums: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* i *Proteobacteria*. (Jansen & Matthijnssens, 2023)

Arribant al nivell de família, les principals famílies representades en el viroma intestinal són *Myoviridae* que es una família amb un estil de vida majoritàriament lític, *Podoviridae* i *Siphoviridae* que presenten majoritàriament un estil de vida temperat i la família més abundant *CrAssphages*. (Tiamani et al., 2022). Pel que fa al nostre coneixement sobre la família *CrAssphages*, encara és limitat, ja que va ser descobert el 2013 a partir d'estudis metagenòmics (Koonin & Yutin, 2020). El seu hoste sembla ser membres del filum *Bacteroidetes* en general, ja que l'única espècie confirmada que té la capacitat d'infectar és *Bacteroides intestinalis*, d'on va ser aïllat per primer cop. (Koonin & Yutin, 2020; Tiamani et al., 2022; Yutin et al., 2018). Pel que fa al seu estil de vida,

sembla ser que afavoreix l'estil de vida temperat, realitzant cicles lisogènics i integrant el material genètic a l'hoste, tot i que encara és tema de debat. (Yutin et al., 2018)

El segon domini amb major presentació és Monodnaviria, que es caracteritza per ser virus de material genètic ssDNA i codifica per una endonucleasa homòloga encarregada d'iniciar la replicació del material genètic per cercle rodant. (Koonin et al., 2021)

A nivell de classe dins del domini, la classe de *Malgratnaviricetes* és la més representada. Dins d'aquesta classe, els virus presenten una càpsida esfèrica sense cua i encara no es coneix l'hoste d'aquests bacteriòfags. No obstant això, es creu que els amfitrions d'aquests virus podrien ser paràsits intracel·lulars com clamídies o membres de l'*Enterobacteria* (Jansen & Matthijnssens, 2023). Pel que fa a l'estil de vida d'aquesta classe, és obligatòriament de cicle lític, ja que no tenen els elements genètics per realitzar el cicle lisogènic (Jansen & Matthijnssens, 2023). Finalment, dins d'aquesta classe cal destacar la família *Microviridae*, que és la segona família més abundant en el viroma intestinal. (Liang & Bushman, 2021)

5.3 Virus eucariotes

Dins dels virus que infecten organismes eucariotes, els podem separar entre virus que infecten humans i virus que infecten altres organismes eucariotes, o virus dels quals no sabem quin és el seu amfitrió.

5.3.1 Humans

Dins dels virus que infecten humans, es podem separar segons el seu domini, sent els principals *Riboviria* i *Monodnaviria*, i els virus que no tenen un domini assignat, com seria la família *Anelloviridae*.

El domini *Riboviria* engloba els virus que tenen material genètic d'ARN, tot i que també trobem virus de DNA que es repliquen per estratègies de transcripció inversa (Koonin et al., 2021). Els virus d'aquest domini es poden separar en dos regnes principals: *Orthonaviria* i *Pararnaviria*.

Els virus del regne *Orthonaviria* són virus exclusius de RNA que contenen una RNA polimerasa dependent de RNA. Un dels principals representants d'aquest regne en el viroma humà és la família *Flaviviridae*, i en especial l'espècie *Pegivirus C*, també coneguda com virus de la hepatitis G. Aquest virus, tot i ser anomenat com virus de la hepatitis, no està associat a cap malaltia i podria presentar avantatges per a l'hoste humà.

Quant a la presència en el viroma humà, els virus de la família *Pegivirus* no solen detectar-se en adults sans, però si ens fixem en el *Pegivirus C*, trobem una incidència en humans del 5%. Aquesta infecció no està associada a cap simptomatologia característica, però recentment s'ha observat que haver patit aquesta infecció podria representar un avantatge en com el sistema immune respon contra el VIH, ja que s'ha associat haver passat una infecció prèvia per *Pegivirus C* amb una millora clínica en el moment de ser infectat per VIH i el desenvolupament de la SIDA. Això podria indicar que la infecció podria beneficiar l'hoste, segurament protegint les cèl·lules humanes de futures infeccions víriques. (Koonin et al., 2021).

En quant al regne *Pararnaviria*, engloba els virus que utilitzen estratègies de transcripció reversa per replicar-se. Tot i que no s'ha vist que aquest tipus de virus estiguin en simbiosi en l'intestí, els humans tenim més de 3000 retrovirus endògens en el nostre material genètic, que representa un 8% (Koonin et al., 2021). Aquest material genètic proveït de virus té diversos rols importants en la fisiologia humana, tot i que encara és un camp en expansió i no coneixem si té algun efecte sobre el viroma o si els hauríem de considerar com a part del viroma.

Canviant de domini a *Monodnaviria*, que són virus de ssDNA majoritàriament, les principals famílies que podem detectar en el viroma intestinal són *Parvoviridae* i *Polyomaviridae*.

La família *Parvoviridae* presenta virus amb patogenicitat i tropismes cel·lulars molt variables, ja que dins de la família trobem virus tant patogènics com asimptomàtics. Exemples de parvovirus que normalment trobem en el viroma de pacients aparentment sans serien: *Human bocaviruses* (HBoV), *Virus Adeno-Associats* (AAV), *Parvovirus humà 4* (PARV4), *Parvovirus B19*. Un dels *Parvovirus* que trobem en el viroma gastrointestinal, sanguini o respiratori és el HBoV, i és degut a que té tropisme per diferents tipus cel·lulars. Aquest *Parvovirus* s'ha associat amb simptomatologia respiratòria aguda, sobretot en nens, no obstant això, en adults es pot trobar com a part del viroma aparentment saludable. Les dinàmiques que permeten que un virus a priori patogènic pugui persistir en el viroma de manera estable sense causar patologia encara no les coneixem. Un altre exemple d'aquesta dinàmica seria el *Parvovirus B19*. Aquest virus té la capacitat d'infectar els precursors de les cèl·lules sanguínies i és un patògen humà que causa exantemes i altres patologies. No obstant això, podem trobar en el

viroma de la pell una prevalença del 25% d'aquest virus en humans sans. (Koonin et al., 2021)

L'altra família amb representació en el viroma és *Polyomaviridae*, que té material genètic dsDNA circular tot i estar dins del domini *Monodnaviria*. Els polyomavirus en humans es caracteritzen per tenir una taxa de replicació baixa i evadir el sistema immune. En pacients immunocompromesos tendeixen a donar-se infeccions asimptomàtiques per polyomavirus. El polyomavirus més estès en la població humana és el *John Cunningham virus* (JC virus), present en el 90% de la població humana. El virus s'adquireix durant la infància, establint una infecció primària a les amígdals o al tracte intestinal, tot i que no se sap amb certesa científica (Koonin et al., 2021). Sembla ser que el JC virus té la capacitat d'establir infeccions latents o ser excretat pel tracte intestinal, segons indiquen dos estudis (Bofill-Mas et al., 2001; Boltin et al., 2000). No obstant això, aquests estudis daten del 2000 i 2001, abans de la revolució de la metagenòmica, per tant, és un camp que cal tornar a avaluar el paper del JC virus en el tracte intestinal.

Finalment arribem als virus humans sense assignació, on els més importants són la família *Anelloviridae*, que són virus de ssDNA amb una càpsida icosaèdrica. Els virus d'aquesta família estan sense classificació, ja que fora de la família dels *Anelloviridae* no s'ha detectat homologia de proteïnes amb altres virus. Es creu que tota la població humana global està infectada per aquests virus, i tampoc hi ha cap evidència de que el sistema immune elimini la infecció. Es creu que la primera infecció es dona durant la infància, però encara no s'ha pogut associar els anellovirus a cap malaltia relacionada amb la infecció primària (Koonin et al., 2021). Tenint en compte que s'han detectat anellovirus en molts tipus de mostres biològiques, podem pensar que els anellovirus no presenten un tropisme per a cap tipus cel·lular en específic. Cal destacar que avui en dia encara no sabem si els anellovirus són capaços de persistir en el cos humà i tenir la capacitat de reactivar-se sota condicions concretes, o si la seva estratègia és reinfectar-nos contínuament, ja que el sistema immune té la capacitat d'eliminar el virus. Les dues hipòtesis podrien ser certes, ja que si en un període de temps no podem detectar anellovirus, podria ser degut a que la càrrega viral està per sota del llindar de detecció o que realment la persona no presenta la infecció en aquell moment. (Kaczorowska & Van Der Hoek, 2020) La infecció crònica està controlada pel sistema immune, i s'ha observat que els nivells d'anellovirus oscil·len segons la immunocompetència de l'hoste

(Kaczorowska & Van Der Hoek, 2020; Koonin et al., 2021). Els anellovirus no són exclusius de humans, ja que s'han trobat en altres mamífers, indicant una coevolució llarga amb els mamífers. (Koonin et al., 2021)

5.3.2 Virus d'altres essers vius o amb hoste desconegut

En aquest apartat es discutiran els principals virus sense un hoste definit o que el seu hoste no són cèl·lules humanes.

El primer grup de virus del qual es parlarà són els *Statovirus*, un nou grup taxonòmic descrit el 2017 a partir d'estudis metagenòmics del viroma intestinal de diferents mamífers en diferents localitzacions geogràfiques. Es caracteritzen per ser virus de ssRNA que contenen una RNA polimerasa dependent de RNA que està relacionada filogenèticament amb les famílies víriques *Tombusviridae* (virus de plantes) i *Flaviviridae* (virus d'artròpodes i humans). No obstant això, els *Statovirus* presenten una organització genòmica única, amb diferències significatives respecte a les famílies víriques prèviament esmentades, indicant que es podria considerar un taxonòmic propi. L'hoste d'aquest taxonòmic encara roman un misteri, ja que a part de l'intestí humà, no s'han identificat seqüències de *Statovirus* en conjunts de dades de bacteris, fongs, plantes, organismes unicel·lulars eucariotes o mostres ambientals. Per tant, es postula que el seu hoste és l'intestí de mamífers (Janowski et al., 2017). Recentment, a partir d'un estudi de filogènia de la RNA polimerasa dependent de RNA, s'indica que els *Statovirus* presenten una relació amb un grup de virus no classificats anomenat tombus-like. Aquests virus formen part de holobionts d'invertebrats. A partir d'aquest estudi, també es podria plantejar la hipòtesi que els *Statovirus* provenen de la dieta o que són simbiotes o paràsits d'alguns invertebrats (Janowski et al., 2017; Wolf et al., 2018). Sobre els *Statovirus* encara queda molt per investigar, com per exemple quin és el seu hoste i quin paper tenen en el viroma humà, ja que el *Statovirus CI* es va detectar a partir d'una mostra humana que presentava símptomes febrils no específics. Tot i que en la mostra es van trobar altres virus que podrien ser els causants de la simptomatologia, no es pot descartar que el causant sigui el *Statovirus CI*. (Janowski et al., 2017)

La següent família amb un hoste desconegut que trobem en el viroma intestinal de mamífers és la família *Picobirnaviridae*. Són una família de virus dsRNA que pertanyen al regne *Orthornavira*. Pel que fa al seu hoste, no es coneix i mai han sigut cultivats in vitro o en animals models (Kashnikov et al., 2020; Krishnamurthy & Wang, 2018). No obstant això, la hipòtesi més acceptada és que són bacteriòfags de la microbiota

(Krishnamurthy & Wang, 2018). Aquesta família vírica encara no ha sigut associada a cap malaltia, tot i que es sospita que la infecció per *Picobirnaviridae* podria estar associada amb la diarrea. (Kashnikov et al., 2020; Koonin et al., 2021)

Les següents famílies de virus són *Marseilleviridae* i *Mimiviridae*. Els virus d'aquestes famílies són de dsDNA amb una càpsida icosaèdrica. Els virus d'aquestes famílies solen ser inclosos com a *Megaviroma*, degut a la seva gran mida d'aproximadament 500 nm, i el seu hoste natural són les amebes (Koonin et al., 2021; Sahmi-Bounsiar et al., 2021). Aquests virus gairebé no estan presents en el viroma humà, tot i que s'han aïllat espècies d'aquestes famílies en l'intestí. (Colson et al., 2013; Koonin et al., 2021). S'han detectat virus d'aquestes famílies tant en sang com en femta, tant en persones sanes com en aquelles que presentaven patologies amb un agent causal desconegut. No obstant això, encara es desconeix quin paper juguen aquests virus en la salut humana. (Sahmi-Bounsiar et al., 2021)

Finalment, tenim els virus de plantes, que provenen de la dieta, i la majoria d'aquests virus són de RNA. El nombre de virus detectables pot ser molt alt, depenent de la dieta, i no hi ha cap evidència que indiqui que aquests virus de plantes tinguin algun efecte en l'ésser humà. El virus de plantes que es detecta més és el *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), en català virus del motejat suau del pebrot. Aquest virus, com bé indica el seu nom, infecta els pebrots i es pot adquirir a través de la dieta. Aquest virus presenta una gran estabilitat, ja que tot i passar pel tracte intestinal humà, manté la seva capacitat infectiva un cop és expulsat per la femta. (Koonin et al., 2021)

Taula 1: Taula resum sobre la taxonomia viral intestinal trobada en adults

Domini	Regne / Classe	Família	Hoste conegut	Característiques distintives
<i>Duplodnaviria</i>	Classe <i>Caudovirales</i>	<i>Myoviridae</i>	<i>Enterobacteria</i>	Càpsida icosaèdrica amb cua contràctil, material genètic dsDNA i estil de vida lític.
		<i>Podoviridae</i>	<i>Enterobacteria</i> i <i>Proteobacteria</i>	Càpsida icosaèdrica amb cua no contràctil, material genètic dsDNA i estil de vida temperat.
		<i>Siphovioridae</i>	<i>Enterobacteria</i> i <i>Arqueobacteris</i>	Càpsida icosaèdrica amb cua no contràctil curta, material genètic dsDNA i estil de vida temperat.
		<i>CrAssphages</i>	<i>Bacteroidetes</i>	Càpsida icosaèdrica amb cua curta no contràctil, material genètic dsDNA i estil de vida temperat/lític. El component principal del viroma.
<i>Riboviria</i>	Regne <i>Orthornaviria</i>	<i>Flaviviridae</i>	Humans	Virus de ssRNA amb transcriptasa reversa, com l'espècie <i>Pegivirus C</i> , té una especial importància com a possibles virus comensals de l'intestí. No hi ha informació disponible sobre la seva morfologia ja que no han estat aïllats.
		<i>Picobirnaviridae</i>	Desconegut, però es sospita que es bacteriòfag de microbiota	Virus de dsRNA amb Càpsida isomètrica.
		<i>Virgaviridae</i>	Plantes	Virus de RNA que infecten plantes. Especial importància l'espècie <i>Pepper mild mottle virus</i> , és el virus de plantes present en humans
<i>Monodnaviria</i>	Classe <i>Malgratnaviricetes</i>	<i>Microviridae</i>	<i>Enterobacteria</i> o paràsits bacterians intracel·lulars	Càpsida icosaèdrica sense cua, estil de vida lític. El segon component més abundant en el viroma.

	Clase <i>Quintoviricetes</i>	<i>Parvoviridae</i>	Humans	Virus de ssDNA que acostumen a desencadenar malalties en nens, però els podem trobar en viomes adultes sense donar estats de malaltia. Representants característics: <i>Human bocaviruses</i> (HBoV), <i>Virus Adeno-Associats</i> (AAV), <i>Parvovirus humà 4</i> (PARV4), <i>Parvovirus B19</i> .
	Clase <i>Papovarivicetes</i>	<i>Polyomaviridae</i>	Humans	Virus de dsDNA circular que presenten taxa de replicació baixa per evadir el sistema immune. Representat característic: <i>John Cunningham virus</i> , present en el 90% de la població humana.
<i>Varidnaviria</i>	Clase <i>Megaviricetes</i>	<i>Marseilleviridae</i> i <i>Mimiviridae</i>	Amebes	Virus de dsDNA de gran mida (fins a 500 nm) detectats en humans.
Sense assignació	Sense assignació	<i>Anelloviridae</i>	Humans i altres mamífers	Virus de ssDNA presents en tota la població humana. No presenten homologia de proteïnes amb altres virus.
Sense assignació	Sense assignació	Nou taxo <i>Statovirus</i>	Desconegut	Virus de ssRNA que contenen transcriptasa reversa i presenten una organització genòmica única.

Informació obtinguda de les referències citades en el text i base de dades taxonòmica de *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV).

6 Relacions entre la microbiota i el viroma

Clàssicament, la relació entre la microbiota, més específicament els bacteris, i els bacteriòfags és de predació, ja que independentment de si els bacteriòfags fan el cicle lític o lisogènic, eventualment l'hoste serà llistat. Tot i aquesta relació clara de predació dels virus al seu hoste, també s'han desenvolupat diverses relacions en les quals la presència de bacteriòfags presenta un avantatge per al bacteri. Així, podríem parlar que, a més d'establir una clara relació de predació, també s'estableixen relacions de simbiosi o mutualisme, les quals s'abordaran en aquest apartat. (Townsend et al., 2021)

6.1 Transmissió horitzontal de gens

Els bacteriòfags tenen la capacitat de ser portadors de gens que beneficien als bacteris, actuant com a vectors de transferència horitzontal de gens (Ciešlik et al., 2021; Shuwen & Kefeng, 2022; Townsend et al., 2021). Els bacteriòfags poden ser portadors de gens que codifiquen toxines, polisacàrids o vies metabòliques, així com gens de resistència a antibiòtics, tot i que és estrany. (Van Belleghem et al., 2018).

A més, s'estima que la conversió lisogènica dels bacteriòfags contribueix en un 5% a la funció de la microbiota en l'intestí humà, indicant que els pròfags tenen una gran influència en la funció que desenvolupa la microbiota. (Townsend et al., 2021)

Un exemple de transferència horitzontal de gens entre bacteriòfags i bacteris, beneficiós per als bacteris, seria quan els bacteriòfags tenen la capacitat de disseminar gens de resistència als antibiòtics després d'una exposició a l'antibiòtic en qüestió. Això concorda amb el fet que els antibiòtics poden induir els pròfags a entrar en cicle lític, provocant una sobre-representació de bacteriòfags que porten gens de resistència als antibiòtics i, d'aquesta manera, disseminant el gen a més bacteris. (Ciešlik et al., 2021; Shuwen & Kefeng, 2022)

Sorprendentment, s'ha observat que els bacteriòfags també juguen un paper important en la formació de biofilm en alguns bacteris. Un exemple seria el cas de *Bacillus anthracis*, que per si mateix no és capaç de formar biofilms. No obstant això, quan aquest bacteri conté un pròfag de la família *Siphoviridae*, pot utilitzar el factor sigma de l'RNA polimerasa que està codificat en el pròfag per activar l'expressió dels gens necessaris per a la formació de biofilm. (Ciešlik et al., 2021)

Un altre exemple serien els bacteris que porten factors de virulència. Un exemple és el cas de *Vibrio cholerae*, on el gen estructural de la toxina colèrica està codificat en el bacteriòfag filamentós *CTXφ*, fent que *Vibrio cholerae* sigui inòcua sense la conversió lisogènica d'aquest bacteriòfag. (Cieslik et al., 2021; Shuwen & Kefeng, 2022)

6.2 Cicle dels nutrients

El paper que juguen els bacteriòfags en el cicle dels nutrients en ambients marins o en el sòl és ben conegut. Els bacteriòfags alliberen carboni al medi quan lisen els seus hostes, incrementant la quantitat de nutrients disponibles. En el cas de l'intestí humà, aquest presenta una densitat de nutrients molt més elevada, la qual cosa promou una densitat bacteriana major i, per tant, una major competència pels nutrients. S'ha proposat que el viroma intestinal és l'encarregat d'alleujar la competència entre bacteris, ja que limita el seu creixement, regula l'estabilitat de la comunitat i el cicle dels nutrients, tal com ocorre en els ecosistemes marins o en el sòl. No obstant això, degut a la gran variació del viroma entre individus, és molt difícil determinar quins nutrients altera, com els altera o quins virus estarien implicats en aquest mecanisme. (Townsend et al., 2021)

6.3 Colonització del tracte intestinal

Una altra relació de mutualisme es dona durant la colonització del tracte intestinal. Suposant que abans del part el nou-nat no presenta microbiota, les seves mucoses no presenten cap tipus de microbiota. Aquest procés de colonització s'ha observat que podria estar facilitat per bacteriòfags ja que s'han descrit que els bacteriòfags tenen la capacitat d'unir-se a les mucoses per mecanismes d'adherència febles entre les glicoproteïnes mucines i dominis “Ig-like” de la càpsida vírica. (Chin et al., 2022; Popescu et al., 2021)

Els dominis “Ig-like” dels bacteriòfags són capaços d'unir-se a les mucines per interaccions febles. El domini es caracteritza per tenir almenys 7 làmines beta disposades en dues fulles paral·leles. Els dominis “Ig-like” es troben a la càpsida i poden presentar un gran nombre de variacions diferents, es calcula que aproximadament 10^{13} alternatives, sense afectar la seva integritat estructural. (Barr, 2017; Chin et al., 2022)

Quant a la colonització del tracte intestinal, es suposa que els dominis “Ig-like” ajuden a l'absorció del bacteriòfag al bacteri que infecta en determinades condicions ambientals, tot i que encara no s'ha confirmat la hipòtesi. A partir d'aquesta relació es proposa el

concepte de bacteriòfags adherits a mucoses, que per una banda actua com un mecanisme de selecció positiva on s'evita la seva degradació per part del sistema immune i representa una possible barrera innata mediada per bacteriòfags, sobre la qual s'elaborarà més en el pròxim apartat. D'aquest mecanisme s'ha observat un cas en el qual un bacteriòfag filamentós ajuda a la colonització del bacteri *Neisseria meningitidis*, tot i que només s'ha observat a nivell epitelial. A partir d'aquest descobriment, es pot proposar un mecanisme de mutualisme entre els bacteriòfags que s'uneixen a mucoses i els bacteris que infecten aquests bacteriòfags, en el qual els bacteriòfags, en comptes de lissar els bacteris, actuen com a llocs d'unió a les mucoses, facilitant la colonització del bacteri específic. (Van Belleghem et al., 2018)

Un altre mecanisme que els bacteriòfags podrien utilitzar per facilitar la colonització indirectament és per la capacitat dels pròfags de canviar la fisiologia de l'hoste, inclús quan no hi ha inducció dels pròfags. Un exemple d'aquest fenomen es dona en *E. coli* que conté el pròfag del bacteriòfag $\Phi 24B$. En aquest bacteri s'observa expressió de 26 gens del bacteriòfag sense donar-se la inducció del pròfag. Estudis fisiològics en aquesta *E. coli* indiquen que la presència del pròfag fa que sigui més resistent al pH àcid que bacteris sense el pròfag, i a més a més, aquests bacteris amb el pròfag tenen la seva taxa de respiració i proliferació cel·lular augmentades respecte a *E. coli* sense el pròfag (Ciešlik et al., 2021). Per tant, la presència de pròfags podria suposar un avantatge a l'hora de colonitzar i permetre que el bacteri sigui capaç de prosperar en l'intestí amb adaptacions d'aquest tipus.

6.4 Modulació de receptors bacterians

Els bacteriòfags infecten els bacteris per mitjà d'unions amb proteïnes de superfície. Un exemple de proteïna de superfície que els bacteriòfags són capaços de reconèixer és el LPS. (Van Belleghem et al., 2018)

A més, alguns bacteriòfags tenen la capacitat de modular l'antigenicitat dels microorganismes ja que produeixen enzims que són capaços de modificar l'antigen-O del LPS en diferents bacteris Gram negatius. Aquest mecanisme, en modificar la molècula que reconeixen els bacteriòfags per infectar el bacteri, evita que altres bacteriòfags puguin infectar el mateix bacteri. (Van Belleghem et al., 2018).

Un exemple d'això és el cas de *Shigella flexeni*, ja que quan pateix una infecció per bacteriòfags i aquests formen el pròfag, es codifica una acetilasa de l'antigen O del LPS, provocant aquest canvi. (Yan Teh et al., 2020)

El paper d'aquests enzims capaços de modificar el LPS no es coneix. Quin efecte tenen en la immunogenicitat dels bacteris ja que podria induir canvis que donin un LPS que no promogui l'activació del TLR4. En conclusió, aquest camp roman inexplorat, però amb moltes implicacions respecte a la tolerància de la microbiota.

7 Relacions entre el sistema immune humà i el viroma

El viroma, especialment en el cas dels bacteriòfags, aquests no tenen només te la capacitat d'interaccionar amb el seu hoste sinó que s'han descrit recentment diversos mecanismes en els que els bacteriòfags podrien influenciar amb el cos humà, especialment amb el sistema immune. Apart de les interaccions amb el sistema immune, els bacteriòfags poden establir mecanismes immunes independent que son beneficiosos pel cos humà i el sistema immune humà.

7.1 Mecanismes innats

7.1.1 Estimulació constant de receptors material genètic

Segons la hipòtesi de Duerkop i Hooper, el viroma té la capacitat d'activar, per diferents vies, una resposta immune innata basal en contra dels virus. (Barr, 2017; Duerkop & Hooper, 2013)

El principal receptor encarregat de la detecció de patrons moleculars associats a patògens (PAMP) associats a material genètic són els "toll-like receptors" (TLR). Els principals TLR implicats són els encarregats de detectar material genètic, com el TLR3 que detecta dsRNA, TLR7 i 8 que detecten ssRNA, o el TLR9 que detecta DNA. (Van Belleghem et al., 2018).

Aquests mecanismes són factibles de pensar que es podrien donar ja que com es discutirà en el proper apartat, els bacteriòfags tenen la capacitat d'atravesar la barrera epitelial intestinal, el que suposa que en alguns casos el material genètic del bacteriòfag serà exposat. Una altra possible via per la qual el material genètic dels bacteriòfags podria ser detectat és utilitzant el bacterioma com a portador. En certes condicions, els bacteris del bacterioma poden entrar a cèl·lules epitelials o ser fagocitats per fagòcits.

En aquestes condicions, el bacteri podria expressar bacteriòfags que serien reconeguts pels receptors immunes de material genètic de tipus TLR. (Duerkop & Hooper, 2013)

Si es produeix el reconeixement del material genètic, l'activació dels sensors de material genètic portaria a la secreció d'IFN-I i altres citocines proinflamatòries com IL-6, IL-1beta, i quimiocines com IL-8 o CXCL-10. Aquesta secreció basal de citocines proinflamatòries i quimioquines conferiria a l'epiteli intestinal una protecció contra possibles infeccions patogèniques. (Duerkop & Hooper, 2013)

7.1.2 Fagocitosis de bacteriòfags

El sistema immune innat humà té la capacitat de fagocitar bacteriòfags. Un exemple d'això són els components del sistema mononuclear fagocític que es troben a la melsa i al fetge. La funció d'aquest sistema és filtrar partícules estranyes al cos humà, com ara els bacteriòfags que acaben a la circulació sistèmica. (Van Belleghem et al., 2018)

Sabem que probablement el sistema mononuclear fagocític és l'encarregat d'eliminar la majoria dels bacteriòfags que aconsegueixen travessar la barrera epitelial per fagocitosis, ja que és una de les localitzacions anatòmiques amb una major concentració de bacteriòfags. (Van Belleghem et al., 2018)

7.2 Mecanismes adaptatius

7.2.1 Producció d'anticossos

Com s'ha comentat a l'apartat anterior, els bacteriòfags poden ser fagocitats per cèl·lules immune, i per tant poden ser presentats tant per MHC-I com per MHC-II. A partir de la presentació per MHC-II es podrien generar anticossos neutralitzants contra les proteïnes de la càpsida. Aquests anticossos, majoritàriament IgG o IgA, s'han trobat en condicions normals en animals als quals no se'ls hi ha administrat bacteriòfags exògens, confirmant que es poden produir anticossos de forma natural. Aquests anticossos presentaven activitat neutralitzadora, bloquejant l'activitat del bacteriòfag. (Barr, 2017; Van Belleghem et al., 2018)

No obstant això, en un altre estudi en el qual es va administrar un còctel de bacteriòfags per via oral o local, es va reportar que per la majoria dels pacients no va haver-hi producció d'anticossos contra el bacteriòfag, i dels pocs pacients que sí presentaven anticossos IgG o IgM contra els bacteriòfags, no van tenir cap efecte negatiu en la teràpia amb bacteriòfags. Una possible explicació de per què no va haver-hi gairebé producció d'anticossos és el poc temps que els pacients van estar sotmesos als

bacteriòfags, i podríem explicar que els pocs pacients que presentaven anticossos podria ser degut a la memòria immunològica d'haver estat en contacte prèviament amb el bacteriòfag en qüestió. (Van Belleghem et al., 2018)

En estudis realitzats en ratolins, es va quantificar els nivells d'anticossos contra el bacteriòfag T4. El bacteriòfag es va administrar durant 100 dies consecutius, seguit d'un període de 112 dies sense bacteriòfag, i finalment es va tornar a administrar durant 240 dies. En quantificar la producció d'anticossos, es va observar que els ratolins presentaven tant IgA, anticossos associats a les mucoses com la intestinal, com IgG en la sang. Els resultats d'aquest experiment corroboren el que coneixem dels bacteriòfags, ja que la presència d'IgG en sang a partir de bacteriòfags administrats oralment indica que tenen la capacitat de travessar la barrera epitelial, tal com es discutirà en el pròxim apartat. (Van Belleghem et al., 2018)

7.3 Immunitat mediada per bacteriòfags

7.3.1 Oponització de bacteris per bacteriòfags

Els bacteriòfags, com s'ha establert prèviament, tenen la capacitat d'unir-se a la membrana dels bacteris per infectar-los. Ja que els bacteriòfags poden ser detectats pels macròfags a través dels receptors de reconeixement de patrons (PRR), els bacteriòfags units als bacteris podrien actuar com a opsonines, millorant la capacitat fagocítica dels macròfags. (Van Belleghem et al., 2018)

A més, alguns autors especulen que durant la fagocitosi els bacteriòfags retenen la seva capacitat de lisi, per tant, si els bacteriòfags realitzen el cicle lític o si hi ha una inducció de pròfags ajudarien els macròfags a degradar els bacteris fagocitats. (Van Belleghem et al., 2018)

7.3.2 Bacteriòfags adherits a mucus

Com s'ha discutit a l'apartat 6.3, els bacteriòfags tenen la capacitat d'unir-se al mucós de l'intestí utilitzant dominis "*Ig-like*", que en part ajuda a la colonització de l'intestí per part del bacterioma. No obstant això, també es pot plantejar com una barrera immune no derivada de l'hoste. Aquest revestiment de bacteriòfags al mucus s'anomena "*Bacteriophage Adherence to Mucus*" (BAM). (Barr, 2017; Popescu et al., 2021)

El mucus està principalment compost per aigua, que representa un 98% de la seva composició, i per glicoproteïnes mucines que són les principals proteïnes estructurals. Les mucines són proteïnes molt grans que tenen un esquelet d'aminoàcids altament

glicosilats, on els dominis "*Ig-like*" dels bacteriòfags poden unir-se (Barr, 2017). Cal recalcar que, donada la gran variabilitat que poden presentar els dominis "*Ig-like*", és possible pensar que l'intestí humà té la capacitat de seleccionar diferents bacteriòfags per unir-se de manera específica al mucus, canviant la seva composició o patró de glicosilació cap a un més afavorit pels dominis "*Ig-like*" del bacteriòfag desitjat i que aquesta unió es mantingui al llarg del temps a l'intestí, (Chin et al., 2022). No obstant això, aquest suposat mecanisme està en etapes primerenques i ens manca coneixement, en part perquè gairebé no coneixem com funciona el sistema de secreció de mucus en humans. (Bakshani et al., 2018)

Aquest mecanisme simbiòtic entre els bacteriòfags i els éssers humans sembla indicar una coevolució estreta en la qual els éssers humans i els bacteriòfags, ja que els humans guanyen un mecanisme de defensa extra i els bacteriòfags tenen més interaccions amb possibles hostes per infectar i és més difícil que siguin detectats pel sistema immune al estar units al mucus (Almeida et al., 2019; Barr, 2017; Chin et al., 2022; Townsend et al., 2021). Una altra evidència d'aquesta coevolució entre bacteriòfags, bacteris i éssers humans és el fet que en contacte amb el mucus intestinal els bacteris que s'adhereixen canvien el seu fenotip a un menys virulent, i a més, s'ha observat que són més susceptibles a patir infeccions per bacteriòfags. Per contra, també s'ha observat que la capa epitelial dels mamífers i el mucus que produeix tenen un efecte d'augmentar la virulència dels bacteriòfags envers el seu hoste. (Almeida et al., 2019; Chin et al., 2022)

En conclusió, la unió al mucus dels bacteriòfags és un exemple de la coevolució estreta entre mamífers, bacteris i bacteriòfags a partir de la qual s'han desenvolupat relacions tant mutualistes com de predació entre els tres.

7.3.3 Capacitat de creuar la barrera epitelial intestinal

Gràcies a diversos experiments realitzats amb bacteriòfags en els quals es podien detectar bacteriòfags administrats oralment en la sang i posteriorment a diversos òrgans, ens ha ajudat a conèixer que els bacteriòfags tenen la capacitat de travessar la barrera epitelial intestinal. (Barr, 2017; Nguyen et al., 2017; Townsend et al., 2021)

Aquest mecanisme difereix de la infecció de cèl·lules eucariotes, ja que els receptors cel·lulars d'eucariotes i la maquinària cel·lular són massa diferents respecte als bacteris. No obstant això, els bacteriòfags tenen la capacitat de travessar la barrera epitelial intestinal. Les possibles hipòtesis que es van plantejar per explicar aquest procés són les

següents: la més senzilla es basa en què hi ha una lesió a l'epiteli que permet als bacteriòfags l'entrada al torrent sanguini; una altra hipòtesi és la del cavall de Troia, on un bacteri infectat per bacteriòfags és endocitat per una cèl·lula epitelial i així travessa la barrera epitelial i, en expressar els bacteriòfags, es disseminen per tot el cos; la teoria de "*phage display*", que es basa en què els bacteriòfags presenten lligands que permeten l'endocitosis facilitada per receptor; i finalment, la teoria del "*free uptake*", en què els bacteriòfags poden ser endocitats per cèl·lules eucariotes per mecanismes encara no coneguts. Actualment, hi ha evidències que suporten que les tres hipòtesis són vàlides, indicant que la disseminació sistèmica dels bacteriòfags es dona per diverses vies. (Barr, 2017; Nguyen et al., 2017)

Una de les primeres troballes respecte a la capacitat d'atravessar la barrera epitelial van ser observacions que el bacteriòfag *M13* presentava una disseminació a tot el cos humà, tot i que en baixos nivells, quan s'administrava per via oral. Els investigadors van intentar determinar per quins mecanismes el bacteriòfag *M13* era capaç de passar del tracte intestinal a una disseminació global, per això van afegir cloroquina, un conegut inhibidor de l'endocitosis dependent de clatrina. En administrar en models in vitro el bacteriòfag *M13* i cloroquina, no hi havia una transcitosis dels bacteriòfags. A partir d'aquest descobriment, es va postular que una de les possibles vies per atravessar la barrera epitelial és l'endocitosis mediada per receptor i que és la conseqüència d'interaccions específiques entre el bacteriòfag i l'epiteli, així confirmant que la hipòtesi de "*phage display*" podria ser vàlida. (Barr, 2017; Van Belleghem et al., 2018)

Actualment, hi ha evidències que semblen apuntar que la transcitosis, el transport dels bacteriòfags a través de les cèl·lules epitelials, és possible. No obstant això, aquest no seria un mecanisme universal per a tots els bacteriòfags ja que influeixen molts factors extrínsecs com seria la fisiologia de l'hoste i les característiques dels bacteriòfags en sí. Aquest suposat mecanisme sembla que es pot donar en els dos sentits, però està afavorit en el sentit apical-basal i ha estat descrit en diferents teixits epitelials, per exemple, en intestí, pulmó, fetge, ronyó i cèl·lules nervioses. (Barr, 2017; Nguyen et al., 2017; Van Belleghem et al., 2018)

Tot i no conèixer al cent per cent el funcionament dels mecanismes que han desenvolupat els bacteriòfags, sumat al fet que segurament es descriuran nous mecanismes de transcitosis, sembla indicar que els bacteriòfags no tenen un mecanisme comú per a travessar la barrera epitelial, sinó que depèn del tipus de bacteriòfag. Pel que

fa als mecanismes d'exocitosi, encara no estan descrits. No obstant això, el coneixement de l'existència d'aquests mecanismes ajuda a explicar fenòmens com la disseminació sistèmica observada quan s'administra teràpia de bacteriòfags oralment o el fet que trobem un nivell basal sistèmic de bacteriòfags en absència de malaltia, ja que la principal font d'adquisició de bacteriòfags i el major reservori és l'intestí humà. (Van Belleghem et al., 2018)

7.3.4 Modulació immune dependent de pròfags

Tant els bacteriòfags lítics com els pròfags que trobem als bacteris juguen un paper clau en la regulació del sistema immune enfront dels bacteris, ja que s'ha vist que els bacteriòfags tenen la capacitat d'actuar com a immunomoduladors, podent donar dos escenaris: que es desenvolupi una resposta immune més feble contra bacteris, promovent la colonització bacteriana quan estiguin presents, o que actuïn com inductors perquè es produeixi una resposta immune més forta quan estiguin presents. (Ciešlik et al., 2021)

Un exemple de potenciació de la resposta immune seria el cas de les toxines que estan codificades en bacteriòfags, ja que causen una sobre reacció del sistema immune, desencadenant la majoria de les vegades respostes inflamatòries severes. Curiosament, alguns d'aquests antígens o toxines associades a bacteriòfags tenen la capacitat d'actuar com a mitogens, substàncies químiques que fomenten la divisió cel·lular, dels leucòcits, induint a una proliferació leucocitària major, la qual donarà respostes immunes més fortes contra el bacteri que adquireixi la toxina (Ciešlik et al., 2021). Aquest exemple posa en evidència com un factor de virulència que ajuda al bacteri a tenir una capacitat infectiva major al mateix temps que actua com a senyal per induir una resposta immune més forta, que pot derivar cap a una millor resolució de la infecció o causar més danys tissulars.

Un altre exemple de pròfags actuant com a moduladors de la resposta immune, en aquest cas la regulació dels limfòcits T, són els pròfags presents en *S. aureus* que influeixen en la resposta immune. En concret, parlem dels pròfags dels bacteriòfags $\phi NM1$, $\phi NM2$, $\phi NM3$ i $\phi NM4$ que, quan estan en forma de pròfags, confereixen a *S. aureus* gens que tenen la capacitat de modular la resposta immune, actuant com inductors de la resposta immune. En un experiment, es va observar que les soques de *S. aureus* sense els pròfags $\phi NM1-4$ causaven una disminució dels limfòcits T enfront de la infecció. En un altre experiment amb *S. aureus*, es va observar que específicament els

gens codificats en el pròfags $\phi NM3$ estaven relacionats amb la resposta immune innata, ja que quan s'expressaven aquests gens afectaven tant la presentació d'antígens com l'activació del complement de manera positiva, proporcionant una resposta immune més forta contra *S. aureus*. Tot i que no es coneix el mecanisme exacte de com aquests gens afecten la immunogenicitat dels bacteris, això podria ajudar a explicar les diferències en la susceptibilitat humana a patir infeccions bacterianes. (Ciešlik et al., 2021)

Adicionalment, els productes gènics dels bacteriòfags $\phi NM3$ i $\phi NM4$ podrien ser candidats a l'hora de buscar nous adjuvants o altres molècules amb la finalitat d'activar el sistema immune.

7.3.5 Immunovigilància sistèmica

Com s'ha vist en aquest apartat, els bacteriòfags tenen la capacitat de travessar la barrera epitelial de l'intestí i poden entrar a la circulació sistèmica i des d'allà disseminar per tot el cos. Un cop a la circulació sistèmica, és factible pensar que els bacteriòfags podrien actuar com a un tipus de defensa primerenca contra la disseminació d'infeccions oportunistes provinents de la microbiota intestinal, ja que quan la microbiota intestinal, que està en simbiosi, pot creuar l'epiteli en presència de lesions a la barrera epitelial i té la capacitat de causar infeccions oportunistes. Llavors, tenint en compte la relació de predació que hi ha entre els bacteriòfags i els bacteris, podrien actuar com un mecanisme de defensa no mediada per l'hoste. (Barr, 2017)

No obstant, tenint en compte que actualment creiem que l'estil de vida preferit dels bacteriòfags és temperat, aquest mecanisme podria no ser efectiu en el cas que existís, o, per contra, podria actuar com una opsonina. A més a més, la majoria dels cicles lisogènics fan que els bacteris amb el pròfag siguin immunes a futures infeccions pel mateix bacteriòfag, el que podria fer encara menys eficaç el suposat mecanisme de defensa en cas que es confirmi la seva existència. (Barr, 2017)

8 Possibles aplicacions biotecnològiques viroma intestinal

Tot i que clàssicament l'aplicació biotecnològica més associada als virus en general és la capacitat de lisar el seu hoste, ja sigui en teràpia amb còctels de bacteriòfags per tractar infeccions bacterianes o l'ús de virus oncolítics per tractar càncer. No obstant això, a partir del nou coneixement sobre el viroma intestinal i les seves peculiaritats, podem establir noves aplicacions biotecnològiques basades en el viroma humà intestinal per a

un ampli rang d'aplicacions variades. En aquest apartat es realitzarà una breu revisió sobre les perspectives de futur de diverses aplicacions en diferents àmbits.

8.1 Viroma com a biomarcador

8.1.1 Malaltia inflamatòria intestinal

Les malalties inflamatòries intestinals (IBD) són un tipus de malalties que engloben la malaltia de Crohn i la colitis ulcerosa. Es caracteritzen perquè hi ha una resposta immune exacerbada quan hi ha una ruptura de la barrera epitelial i els bacteris poden travessar-la. Quan els bacteris travessen la barrera, es desencadenen una sèrie de mecanismes immunitaris tant innats com adaptatius que no són els adequats i desencadenen una inflamació crònica. (Ungaro et al., 2019)

En aquest procés, la microbiota juga un paper clau. S'ha observat en pacients amb IBD que hi ha un canvi en la composició de la microbiota. A nivell bacterià, hi ha una reducció de *Bacteroidetes* i *Firmicutes*, i un augment de *Proteobacteria*. Tot i que observem un canvi en la composició de la microbiota. (Bai et al., 2022; Norman et al., 2015; Ungaro et al., 2019)

Pel que fa als bacteriòfags en pacients amb IBD, recentment s'ha vist que la composició del fagogenoma augmenta la presència de *Caudovirales* en comparació amb persones sans, i també hi ha un augment de diverses espècies de bacteriòfags que tenen com a hoste espècies de *Bacteroidetes* i *Firmicutes*, possiblement ajudant a reduir els seus nivells. (Clooney et al., 2019; Jansen & Matthijssens, 2023; Norman et al., 2015; Ungaro et al., 2019)

Quant a quines espècies de *Caudovirales* presentaven increments i disminucions, encara no es coneix degut a les limitacions d'estudi del viroma, ja que, per exemple, diversos estudis indiquen que hi ha una disminució en els nivells de *CrAssphages*, mentre que altres indiquen el contrari. (Jansen & Matthijssens, 2023)

També s'ha proposat que els bacteriòfags podrien tenir un impacte directe en el desenvolupament de l'IBD, ja que, en veure's augmentats, podrien ser detectats pels receptors TLR intracel·lulars de material genètic, induint una major inflamació per la secreció d'INF-gamma. No obstant això, no està comprovat i només és una hipòtesi. (Ungaro et al., 2019)

Un altre possible mecanisme en què els bacteriòfags podrien estar implicats és si, per alguna raó externa, hi hagués una gran inducció de pròfags, la lisi massiva de bacteris crearia un estat de disbiosi en l'intestí, i a través de la lisi, es veurien exposades al medi grans quantitats de patrons moleculars associats a patògens que podrien desencadenar una resposta immune inflamatòria. (Clooney et al., 2019; Jansen & Matthijnssens, 2023; Norman et al., 2015)

Pel que fa als virus humans i el paper que juguen en l'IBD, no és un camp molt estudiat. No obstant això, s'ha observat que la majoria dels pacients amb IBD presentaven infeccions per virus de la família *Herpesviridae*, especialment *Citomegalovirus*, tot i que el seu paper en la malaltia no està estudiat més enllà del coneixement de la seva presència. (Bai et al., 2022; Focà et al., 2015; Jansen & Matthijnssens, 2023; Ungaro et al., 2019)

Finalment, cal destacar que tot i que no es coneix si els canvis de microbiota o viroma són la causa de la malaltia o un efecte de la malaltia, les evidències semblen indicar que els canvis en el viroma i bacterioma es donen en conjunció. (Clooney et al., 2019)

Actualment, el diagnòstic de IBD no té cap test específic, i es pot diagnosticar a partir de diferents proves, tot i que es recomana que com a prova diagnòstica confirmatòria es realitzi una inspecció endoscòpica (Seyedian et al., 2019). Es podria utilitzar els canvis que pateix el microbioma intestinal com a prova diagnòstica inicial, ja que tant el bacterioma com el viroma pateixen una variació significativa, i a priori, aquest canvi del microbioma és específic per a la malaltia en qüestió. Amb aquesta aproximació aconseguiríem tenir una prova de cribratge fiable i estandarditzada, ja que si el resultat d'aquesta prova fos positiu, encara es tindria que fer una exploració endoscòpica confirmatòria.

8.1.2 Diabetis tipus II

La diabetis tipus II es caracteritza per una hiperglicèmia deguda a la poca secreció d'insulina o a la resistència a la insulina que és causada per una gran varietat de factors tant ambientals com genètics. (Bai et al., 2022)

Recentment ha estat relacionada amb canvis en la microbiota intestinal, per exemple, les observacions de canvis en la microbiota, especialment el bacterioma, podrien ser un factor clau a tenir en compte per avaluar el risc de patir diabetis tipus II (Chen et al., 2021). No obstant, en la majoria d'estudis en els quals s'ha pogut relacionar canvis en la

microbiota amb diabetis, el paper dels bacteriòfags no ha estat tingut en compte. (Ma et al., 2018)

Estudis recents han descobert que els pacients amb diabetis tipus II presenten un viroma característic que podria permetre el diagnòstic o la confirmació d'aquesta a partir d'una mostra de femta. (Bai et al., 2022; Chen et al., 2021; Ma et al., 2018)

El primer estudi que es va realitzar es va centrar en identificar totes les possibles seqüències d'origen bacteriòfag que es trobaven en una mostra de femta, això inclou tant bacteriòfags lliures com seqüències de pròfags (Ma et al., 2018). Per contra, en el segon estudi només es van tenir en compte els bacteriòfags que es trobaven en l'ambient extracel·lular (Chen et al., 2021), pel que els resultats no són comparables directament entre els dos estudis. No obstant això, els dos estudis posen en evidència que en els pacients amb diabetis tipus II es presenta un fagogenoma característic.

Quan ens fixem en totes les possibles seqüències víriques, s'observa un augment significatiu de bacteriòfags *Caudovirales* de les famílies *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Siphoviridae* i una família sense classificar. Curiosament, els hostes predits d'aquestes famílies i l'increment de bacteriòfags no presentaven correlació. (Ma et al., 2018)

En el segon estudi també es va observar que la majoria dels bacteriòfags aïllats formaven part dels *Caudovirales*, i en quant a famílies, la més representada era *Siphoviridae*, seguida de *Myoviridae*. Tot i que s'observa un augment en diverses famílies de *Caudovirales*, aquests resultats no són significatius. No obstant això, els investigadors van estudiar les diferències en bacteriòfags segons els seus hostes específics i van veure que per *Enterobacteriaceae* hi ha una diferència significativa entre el grup de control i diabetis. Aquests resultats concorden amb el fet que en aquest estudi els pacients de diabetis també presentaven nivells de *Enterobacteriaceae* significativament augmentats respecte al control. (Chen et al., 2021)

Aquest augment en bacteris gramnegatius i bacteriòfags que els infecten podria suposar un nou factor de risc per a la diabetis tipus II i explicar per què els pacients amb diabetis tipus II de l'estudi presentaven nivells de LPS en sèrum, IL-6 (citocina proinflamatòria) i TNF-alfa (citocina proinflamatòria) augmentats. Una possible explicació seria que la lisi en massa de bacteris de la família *Enterobacteriaceae* com a resultat d'infeccions per bacteriòfags alliberaria una gran quantitat de PAMPs i LPS que potenciarien una resposta immune proinflamatòria. (Chen et al., 2021)

No obstant això, els dos estudis es centren en els bacteriòfags de dsDNA obviant tant l'efecte possible dels bacteriòfags de RNA com dels ssDNA.

Tot i que podria semblar innecessari utilitzar la detecció de bacteriòfags en femta per al diagnòstic de diabetis tipus II, ja que la prova de tolerància a la glucosa oral està estandarditzada com a prova diagnòstica, la detecció del viroma en femta sí que podria presentar una avantatge com a eina per a la detecció precoç o el prediagnòstic. Amb aquest diagnòstic en estadis tan inicials de la malaltia, es podrien prendre accions preventives per evitar el desenvolupament de la malaltia o mitigar els seus efectes. (Chen et al., 2021)

8.1.3 Immunosupressió

Com s'ha vist anteriorment, els *Anellovirus* formen part del viroma humà saludable, però s'ha observat que aquests tendeixen a augmentar quan hi ha canvis en l'estat d'immunocompetència (Kaczorowska & Van Der Hoek, 2020; Koonin et al., 2021; Lim et al., 2015). Un exemple seria l'augment en la diversitat d'*Anellovirus* que s'observa entre els 6 i 12 mesos de vida. Una possible hipòtesi per explicar aquest augment seria que l'augment d'*Anellovirus* coincideix amb quan el nadó deixa de ingerir llet materna, i per tant deixa de incorporar els components humorals immunes que adquiria per la llet. (Lim et al., 2015).

Un altre exemple seria en els casos de transplantament d'òrgans. Quan es realitzen transplantaments d'òrgans, el receptor és sotmès a tractaments immunosupressors per minimitzar les reaccions de rebuig. Durant els tractaments immunosupressors, la càrrega viral dels pacients incrementa, tant de virus patogènics com seria el *Citomegalovirus* com virus de la microbiota com els *Anellovirus*. A partir d'un estudi en pacients immunosupressos als quals se'ls anava a realitzar un transplantament, es va poder determinar que la quantitat d'*Anellovirus* presents en sèrum incrementava amb el grau d'immunosupressió. En aquest estudi, també es va veure que pacients que presentaven nivells baixos d'*Anellovirus* eren més susceptibles a patir reaccions de rebuig, indicant que segurament sigui un bon indicador de la immunosupressió. (De Vlaminck et al., 2013; Kaczorowska & Van Der Hoek, 2020)

A més a més, anteriorment s'havia descrit una possible correlació entre els nivells d'*Anellovirus* i la progressió del VIH, indicant que *Anellovirus* aprofita quan el sistema

immune està deprimida per expandir-se. (De Vlaminck et al., 2013; Kaczorowska & Van Der Hoek, 2020)

Tot i que els estudis realitzats fins avui en dia es centren en la detecció d'*Anellovirus* en sèrum, no és descabellat pensar que la relació entre la seva abundància i immunosupressió també es pugui aplicar al viroma intestinal com a eina ràpida per avaluar el nivell d'immunocompetència.

8.1.4 Viroma humà intestinal com a biomarcador de contaminació fecal en aigua

Com s'ha mencionat anteriorment, en el viroma humà també podem detectar virus de plantes o altres microorganismes. Un dels virus més detectats és el *Pepper mild mottle virus* (PMMoV), o virus del motejat suau del pebrot en català. Aquest virus infecta diverses espècies de pebrots, i la seva presència en el viroma humà prové de la ingestió de pebrots o aliments que contenen derivats de pebrot. Aquest virus el podem trobar distribuït per tot el món, ja que s'ha trobat en femtes de persones d'arreu del món i els pebrots formen part les dietes arreu del món (Symonds et al., 2019). Una característica curiosa d'aquest virus és que, un cop surt per la femta, encara reté la seva capacitat infecciosa. (Koonin et al., 2021).

Actualment, un dels mètodes més utilitzats per mesurar si hi ha contaminació fecal en aigües és utilitzant "*fecal indicator bacteria*", bacteris que estan presents en la femta humana com, per exemple, *E. coli* o *Enterococci*. El problema en utilitzar aquests bacteris és que també estan presents en el medi ambient i no tenen una bona correlació amb els patògens humans que poden causar malalties ni amb virus entèrics (Symonds et al., 2019)

Una altra possible aproximació per detectar si hi ha contaminació fecal en aigües és detectar directament patògens humans o virus entèrics. No obstant aquesta aproximació requereix tècniques molt cares per a detectar aquests virus, sumat al fet que l'eficiència de detecció acostuma a ser inferior al 10% i que virus patogènics entèrics els podem trobar fins a concentracions de 10^5 en aigües residuals sense causar ni brots vírics. (Symonds et al., 2019)

Donats tots aquests problemes, el PMMoV es postula com un gran candidat com indicador de contaminació fecal en aigües domèstiques. Els principals punts forts de PMMoV són: la concentració aproximada del virus en aigües residuals domèstiques acostuma a ser d'aproximadament 10^{10} còpies del genoma per litre, el que permet una

monitorització més fàcil de les fluctuacions. Com el seu origen és la dieta, els seus nivells no depenen de si hi ha un brot actiu per ser detectat. PMMoV no s'ha detectat en aigües lliures de contaminació fecal ni s'ha observat la seva presència en femta d'altres animals a part dels humans, i finalment, PMMoV s'ha associat amb la presència de virus patogènics humans procedents de la femta i s'ha observat que PMMoV té la mateixa vida mitjana que els virus patogènics humans en rius i oceans. (Symonds et al., 2019)

Tots aquests punts fan que PMMoV sigui un bon candidat com a indicador de contaminació fecal. Actualment, la quantificació de PMMoV es realitza per PCR, no obstant això, hi ha nous mètodes de quantificació més ràpids i econòmics basats en immunoassaigs. (Symonds et al., 2019)

No obstant això, degut a que la quantitat de PMMoV en aigües residuals prové de la dieta, fa que els nivells variïn entre regions geogràfiques properes, fet que fa més difícil l'estandardització de la tècnica. Tot i això, fa que la utilització de PMMoV com a biomarcador està en etapes primerenques. (Holm et al., 2022; Symonds et al., 2019)

8.2 Anti-inflamatoris basats en bacteriòfags

Com s'ha vist anteriorment, els pròfags juguen un paper important en la immunomodulació. De manera similar, estudis recents indiquen que els bacteriòfags lítics podrien tenir propietats immunomoduladores similars, a més de la capacitat lítica antibacteriocida. (Van Belleghem et al., 2017, 2018; Zhang et al., 2018)

En un estudi (Van Belleghem et al., 2017) van utilitzar monòcits humans i els van exposar a diferents bacteriòfags lítics de *S. aureus* i *P. aeruginosa*. Es va mesurar l'expressió gènica dels següents 12 gens relacionats amb la immunitat: CD14, que és una proteïna de membrana que actua com a receptor de components bacterians com el LPS, els lligands de quimioquines CXCL1 i CXCL5, les citocines proinflamatòries IL1A, IL1B, IL6, TNFA, TGFBI, la citocina antiinflamatòria IL19, el gen del receptor antagonista de la interleucina 1 IL1RN, el gen que codifica per l'enzim lisozima LYZ i el gen supressor de la senyalització de citocines 3 SOCS3.

L'estimulació amb els bacteriòfags va donar resultats similars entre tots, donant en general una reducció de l'expressió del TLR4, un sensor especialitzat en detectar LPS i secretar citocines proinflamatòries quan hi ha reconeixement. A més, amb tots els bacteriòfags es va observar una up-regulació de IL1RN i SOCS3 propiciant un efecte antiinflamatori, i en el cas del bacteriòfag de *S. aureus* també va haver-hi una reducció

en l'expressió de CXCL1 i CXCL5, que participen en el reclutament de més cèl·lules immunes al focus de la infecció. No obstant, l'administració d'aquests bacteriòfags també estimula les citocines proinflamatòries, però mantenint un balanç antiinflamatori. (Van Belleghem et al., 2017)

En el segon estudi (Zhang et al., 2018) es va veure que bacteriòfags de *S. aureus* reduïen els nivells de IL1, TNF α , IL6 i IL10, a més de ser capaços d'evitar l'activació de NF-kB induïda pel LPS. Aquesta capacitat d'evitar la fosforilació sembla ser de caràcter transitori, de manera que el bacteriòfag no podria causar una infecció persistent. Els mecanismes que actuen per prevenir l'activació de NF-kB no es coneixen en aquest moment i es requereix més investigació per dilucidar-los.

Una altra possible aplicació seria utilitzar els propis bacteriòfags del viroma i utilitzar els dominis d'unió a bacteris, especialment els dominis d'unió a l'endotoxina LPS com la proteïna gp12 de la cua del bacteriòfag T4, per neutralitzar el LPS en septicèmia o altres infeccions (Van Belleghem et al., 2018). Aquest mecanisme antiinflamatori proposat és possible que es produeixi de manera natural quan els bacteriòfags travessen la barrera epitelial, o podria ser administrat per via oral.

Basant-nos en totes les evidències presentades, no és descabellat proposar que els bacteriòfags i les proteïnes que codifiquen poden ser una font per a nous medicaments antiinflamatoris, sent una alternativa als medicaments antiinflamatoris lliures d'esteroides amb menys efectes secundaris. (Van Belleghem et al., 2018)

9 Discussió

Durant tota aquesta revisió bibliogràfica s'han mencionat diversos mecanismes pels quals el viroma humà té un impacte en la microbiota i en l'ésser humà. No obstant això, a causa de la falta de coneixement sobre els virus, especialment els bacteriòfags i els virus humans comensals, hi ha diversos aspectes que no s'han tingut en compte a causa de la manca d'investigació actual, però que podrien tenir un impacte significatiu.

Un dels principals problemes que encara hem de solucionar són les bases de dades utilitzades per detectar la composició viral. Com s'ha mencionat, fins a un 90% de les lectures a partir de femtes són anotades correctament (Shkoporov et al., 2019). Una altra gran limitació és que la majoria dels estudis sobre la composició del viroma es centren exclusivament en virus de DNA, i dins d'aquests, en els virus dsDNA. En canvi, gairebé

cap estudi fins ara se centra en els virus d'RNA, ja que se'ls considera virus de plantes que no afecten ni la microbiota ni els éssers humans. D'aquesta manera, no detectem els bacteriòfags d'RNA, que tot i ser minoritaris, podrien tenir un paper clau en el viroma humà, ni els virus eucariotes d'RNA.(Santiago-Rodriguez & Hollister, 2019)

Recentment s'han realitzat estudis per veure si realment es desencadena una resposta immune enfront dels bacteriòfags, virus passatgers (Janowski et al., 2017) o virus que tenen altres éssers vius del microbioma com a hoste. No obstant això, cal avaluar cautelosament els resultats de l'experiment realitzat, ja que van utilitzar un lisat que contenia tant bacteriòfags com restes de bacteris, entre els quals podrien haver-hi antigens bacterians que podrien desencadenar una resposta immune (Van Belleghem et al., 2018). A més a més, el fet que els virus passatgers i els virus d'altres hostes solen ser d'RNA limita el nostre coneixement sobre aquest grup de virus. Per tant, encara queda per investigar la relació dels virus d'altres microorganismes comensals, com podrien ser les arquees o els fongs, amb el sistema immune humà i la salut humana. (Tiamani et al., 2022)

Un dels altres punts sobre els quals tampoc hi ha bibliografia recent és si el material genètic dels bacteriòfags pot ser traduït per cèl·lules humanes, ja que a priori no hauria de passar, ja que el material genètic dels bacteriòfags està optimitzat per ser traduït en bacteris. No obstant això, s'han descrit casos en els quals els bacteriòfags presentaven la tendència d'acumular-se en el nucli de les cèl·lules eucariotes quan travessen barreres epitelials, indicant que podria passar. A més, s'han observat casos en els quals el material genètic sí que es traduïa en el procés de travessar barreres epitelials de mamífers (Merril et al., 1971; Wenger et al., 1981). No obstant això, els estudis que indiquen que aquest procés es dona daten dels anys 1971 i 1981, i des de llavors no s'han publicat més estudis sobre la temàtica. També cal tenir en compte que el viroma intestinal, sobretot els bacteriòfags, és una llibreria de gens accessoris, ja que porten gens associats a tot tipus de funcions (Barr, 2017), i tenint en compte que no coneixem la naturalesa del 90% del viroma (Aggarwala et al., 2017; Shkoporov et al., 2019) no seria descabellat pensar que en aquest 90% de material genètic, del qual coneixem la seva funció, podria contenir gens que permetessin al genoma dels bacteriòfags ser traduït en cèl·lules eucariotes, influenciant a tots els nivells i canviant el paradigma. L'últim aspecte a tenir en compte és que actualment utilitzem bacteriòfags com a vectors en teràpia gènica, confirmant que realment poden arribar al nucli d'una cèl·lula

eucariota, per tant, ens queda per dilucidar si, mitjançant algun mecanisme desconegut, el material genètic dels bacteriòfags podria ser traduït a proteïnes. (Barr, 2017)

En quant als bacteriòfags, tampoc s'ha tingut en compte ni hi ha hagut estudis sobre si aquests tenen o no capacitat infectiva sobre mitocondris, ja que aquests orgànuls provenen d'un origen procariota i encara mantenen maquinària pròpia dels procariotes. (Van Belleghem et al., 2018)

Un altre gran punt de millora en l'estudi del viroma és el fet que encara no hem aconseguit determinar quin seria el viroma humà saludable estàndard, com sí hem aconseguit amb el bacterioma (Aggarwala et al., 2017). En part, seria molt complicat arribar a un viroma estàndard saludable, degut al fet que el factor geogràfic i l'ambient on s'habita semblen ser els components principals que determinen el viroma.

En quant al paper que juga el fagogenoma com a eina per remodelar el bacterioma específicament i com això influeix en els estats patològics, és un camp en expansió. No obstant, encara no coneixem si aquests canvis en el microbioma són part de la causa de la patologia o un efecte de la malaltia. Aquesta noció es complica encara més si afegim que els bacteriòfags tenen la capacitat de modular les poblacions bacterianes, ja que l'adquisició de certs bacteriòfags per factors ambientals com la dieta podria ser l'agent causant de la patologia, o bé, si adquirim bacteriòfags que lisen els bacteris causants de la malaltia, podrien prevenir el desenvolupament de la malaltia. Tots aquests aspectes encara queden per ser explicats en detall i establir les relacions de causalitat.

Finalment, cal tenir en compte que la majoria de les espècies víriques que detectem actualment s'han descobert gràcies a la revolució de les ciències òmiques i la bioinformàtica. Un dels millors exemples per il·lustrar aquest punt és el fet que fins al 2013 no teníem constància dels bacteriòfags *CrAssphages*, i fins avui en dia encara coneixem molt poc sobre la seva biologia, mecanismes moleculars, mecanismes d'expressió i replicació, i interaccions amb l'hoste. (Koonin & Yutin, 2020)

En conclusió, el camp del viroma, així com les altres subpoblacions del microbioma, es troba en etapes primerenques ja que fins fa poc no s'havien disposat de les eines adequades per al seu estudi. No obstant això, el camp de l'estudi dels bacteriòfags ha estat estancat des dels anys 70, quan va tenir lloc un gran auge en la investigació dels bacteriòfags. No obstant aquestes limitacions, actualment aquesta temàtica està

recobrant interès en la literatura científica, ja que ara disposem de les eines necessàries per aprofundir en el seu estudi.

10 Autoavaluació

El treball realitzat ha sigut una experiència tant enriquidora com difícil i frustrant.

Abans de començar el treball, ja sabia que el viroma i, en especial, els bacteriòfags, eren una temàtica complexa. No obstant això, ha sigut una gran oportunitat per conèixer més sobre una temàtica que m'ha interessat des que la vaig conèixer.

La principal limitació en realitzar la revisió bibliogràfica ha sigut la falta de bibliografia en alguns temes concrets i la manca de consens entre diferents autors en determinats conceptes clau. Donat que el concepte de viroma és relativament nou, era d'esperar, però he trobat massa discrepàncies entre autors durant la realització d'aquest treball bibliogràfic.

En conclusió, a nivell personal el treball realitzat m'ha servit per aprendre sobre una temàtica que actualment encara és desconeguda per a la majoria de la població. No obstant això, crec que el viroma és un camp en expansió que guanyarà popularitat amb el temps, degut a totes les relacions que presenta amb el cos humà, la microbiota i els estats patològics.

11 Bibliografia

- Aagaard, K., Ma, J., Antony, K. M., Ganu, R., Petrosino, J., & Versalovic, J. (2014). The Placenta Harbors a Unique Microbiome. *Science Translational Medicine*, 6(237), 237ra65. <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3008599>
- Aggarwala, V., Liang, G., & Bushman, F. D. (2017). Viral communities of the human gut: metagenomic analysis of composition and dynamics. *Mobile DNA*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/S13100-017-0095-Y>
- Almeida, G. M. F., Laanto, E., Ashrafi, R., & Sundberg, L. R. (2019). Bacteriophage Adherence to Mucus Mediates Preventive Protection against Pathogenic Bacteria. *MBio*, 10(6). <https://doi.org/10.1128/MBIO.01984-19>
- Bai, G. H., Lin, S. C., Hsu, Y. H., & Chen, S. Y. (2022). The Human Virome: Viral Metagenomics, Relations with Human Diseases, and Therapeutic Applications. *Viruses*, 14(2). <https://doi.org/10.3390/V14020278>
- Bakshani, C. R., Morales-Garcia, A. L., Althaus, M., Wilcox, M. D., Pearson, J. P., Bythell, J. C., & Burgess, J. G. (2018). Evolutionary conservation of the antimicrobial function of mucus: A first defence against infection. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/S41522-018-0057-2>
- Barr, J. J. (2017). A bacteriophages journey through the human body. *Immunological Reviews*, 279(1), 106–122. <https://doi.org/10.1111/IMR.12565>
- Barrera-Vázquez, O. S., & Gomez-Verjan, J. C. (2020). The Unexplored World of Human Virome, Mycobiome, and Archaeome in Aging. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 75(10), 1834–1837. <https://doi.org/10.1093/GERONA/GLZ274>
- Bofill-Mas, S., Formiga-Cruz, M., Clemente-Casares, P., Calafell, F., & Girones, R. (2001). Potential Transmission of Human Polyomaviruses through the Gastrointestinal Tract after Exposure to Virions or Viral DNA. *Journal of Virology*, 75(21), 10290. <https://doi.org/10.1128/JVI.75.21.10290-10299.2001>
- Boltin, D., Vilkin, A., Levi, Z., Elkayam, O., & Niv, Y. (2000). JC Virus T-Antigen DNA in gastrointestinal mucosa of immunosuppressed patients: A prospective,

- controlled study. *Digestive Diseases and Sciences*, 55(7), 1975–1981. <https://doi.org/10.1007/s10620-009-0986-y>
- Breitbart, M., Haynes, M., Kelley, S., Angly, F., Edwards, R. A., Felts, B., Mahaffy, J. M., Mueller, J., Nulton, J., Rayhawk, S., Rodriguez-Brito, B., Salamon, P., & Rohwer, F. (2008). Viral diversity and dynamics in an infant gut. *Research in Microbiology*, 159(5), 367–373. <https://doi.org/10.1016/J.RESMIC.2008.04.006>
- Bushman, F., & Liang, G. (2021). Assembly of the virome in newborn human infants. *Current Opinion in Virology*, 48, 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2021.03.004>
- Chen, Q., Ma, X., Li, C., Shen, Y., Zhu, W., Zhang, Y., Guo, X., Zhou, J., & Liu, C. (2021). Enteric Phageome Alterations in Patients With Type 2 Diabetes. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2020.575084>
- Chin, W. H., Kett, C., Cooper, O., Museler, D., Zhang, Y., Bamert, R. S., Patwa, R., Woods, L. C., Devendran, C., Korneev, D., Tiralongo, J., Lithgow, T., McDonald, M. J., Neild, A., & Barr, J. J. (2022). Bacteriophages evolve enhanced persistence to a mucosal surface. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(27). <https://doi.org/10.1073/PNAS.2116197119/-/DCSUPPLEMENTAL>
- Cieślak, M., Bagińska, N., Jończyk-Matysiak, E., Węgrzyn, A., Węgrzyn, G., & Górski, A. (2021). Temperate Bacteriophages—The Powerful Indirect Modulators of Eukaryotic Cells and Immune Functions. *Viruses*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/V13061013>
- Clooney, A. G., Sutton, T. D. S., Shkoporov, A. N., Holohan, R. K., Daly, K. M., O'Regan, O., Ryan, F. J., Draper, L. A., Plevy, S. E., Ross, R. P., & Hill, C. (2019). Whole-Virome Analysis Sheds Light on Viral Dark Matter in Inflammatory Bowel Disease. *Cell Host and Microbe*, 26(6), 764-778.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2019.10.009>
- Colson, P., Fancello, L., Gimenez, G., Armougom, F., Desnues, C., Fournous, G., Yoosuf, N., Million, M., La Scola, B., & Raoult, D. (2013). Evidence of the megavirome in humans. *Journal of Clinical Virology : The Official Publication of*

- the Pan American Society for Clinical Virology*, 57(3), 191–200.
<https://doi.org/10.1016/J.JCV.2013.03.018>
- Dahlman, S., Avellaneda-Franco, L., & Barr, J. J. (2021). Phages to shape the gut microbiota? *Current Opinion in Biotechnology*, 68, 89–95.
<https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2020.09.016>
- De Vlamincq, I., Khush, K. K., Strehl, C., Kohli, B., Luikart, H., Neff, N. F., Okamoto, J., Snyder, T. M., Cornfield, D. N., Nicolls, M. R., Weill, D., Bernstein, D., Valantine, H. A., & Quake, S. R. (2013). Temporal Response of the Human Virome to Immunosuppression and Antiviral Therapy. *Cell*, 155(5), 1178.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2013.10.034>
- Duerkop, B. A., & Hooper, L. V. (2013). Resident viruses and their interactions with the immune system. *Nature Immunology*, 14(7), 654.
<https://doi.org/10.1038/NI.2614>
- Focà, A., Liberto, M. C., Quirino, A., Marascio, N., Zicca, E., & Pavia, G. (2015). Gut inflammation and immunity: What is the role of the human gut virome? *Mediators of Inflammation*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/326032>
- Holm, R. H., Nagarkar, M., Yeager, R. A., Talley, D., Chaney, A. C., Rai, J. P., Mukherjee, A., Rai, S. N., Bhatnagar, A., & Smith, T. (2022). Surveillance of RNase P, PMMoV, and CrAssphage in wastewater as indicators of human fecal concentration across urban sewer neighborhoods, Kentucky. *FEMS Microbes*, 3. <https://doi.org/10.1093/FEMSMC/XTAC003>
- Janowski, A. B., Krishnamurthy, S. R., Lim, E. S., Zhao, G., Brenchley, J. M., Barouch, D. H., Thakwalakwa, C., Manary, M. J., Holtz, L. R., & Wang, D. (2017). Statoviruses, A novel taxon of RNA viruses present in the gastrointestinal tracts of diverse mammals. *Virology*, 504, 36. <https://doi.org/10.1016/J.VIROL.2017.01.010>
- Jansen, D., & Matthijnssens, J. (2023). The Emerging Role of the Gut Virome in Health and Inflammatory Bowel Disease: Challenges, Covariates and a Viral Imbalance. *Viruses*, 15(1), 173. <https://doi.org/10.3390/v15010173>
- Kaczorowska, J., & Van Der Hoek, L. (2020). Human anelloviruses: diverse, omnipresent and commensal members of the virome. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(3), 305–313. <https://doi.org/10.1093/FEMSRE/FUAA007>

- Kashnikov, A. Y., Epifanova, N. V., & Novikova, N. A. (2020). Picobirnaviruses: prevalence, genetic diversity, detection methods. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*, 24(6), 661. <https://doi.org/10.18699/VJ20.660>
- Koonin, E. V., Dolja, V. V., & Krupovic, M. (2021). The healthy human virome: from virus-host symbiosis to disease. *Current Opinion in Virology*, 47, 86–94. <https://doi.org/10.1016/J.COVIRO.2021.02.002>
- Koonin, E. V., & Yutin, N. (2020). The crAss-like Phage Group: How Metagenomics Reshaped the Human Virome. *Trends in Microbiology*, 28(5), 349–359. <https://doi.org/10.1016/J.TIM.2020.01.010>
- Krishnamurthy, S. R., & Wang, D. (2018). Extensive conservation of prokaryotic ribosomal binding sites in known and novel picobirnaviruses. *Virology*, 516, 108–114. <https://doi.org/10.1016/J.VIROL.2018.01.006>
- Liang, G., & Bushman, F. D. (2021). The human virome: assembly, composition and host interactions. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(8), 514–527. <https://doi.org/10.1038/S41579-021-00536-5>
- Liang, G., Zhao, C., Zhang, H., Mattei, L., Sherrill-Mix, S., Bittinger, K., Kessler, L. R., Wu, G. D., Baldassano, R. N., DeRusso, P., Ford, E., Elovitz, M. A., Kelly, M. S., Patel, M. Z., Mazhani, T., Gerber, J. S., Kelly, A., Zemel, B. S., & Bushman, F. D. (2020). The stepwise assembly of the neonatal virome is modulated by breastfeeding. *Nature*, 581(7809), 470–474. <https://doi.org/10.1038/S41586-020-2192-1>
- Lim, E. S., Zhou, Y., Zhao, G., Bauer, I. K., Droit, L., Ndao, I. M., Warner, B. B., Tarr, P. I., Wang, D., & Holtz, L. R. (2015). Early life dynamics of the human gut virome and bacterial microbiome in infants. *Nature Medicine*, 21(10), 1228–1234. <https://doi.org/10.1038/NM.3950>
- Ma, Y., You, X., Mai, G., Tokuyasu, T., & Liu, C. (2018). A human gut phage catalog correlates the gut phageome with type 2 diabetes. *Microbiome*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0410-y>
- Merril, C. R., Geier, M. R., & Petriccioni, J. C. (1971). Bacterial virus gene expression in human cells. *Nature*, 233(5319), 398–400. <https://doi.org/10.1038/233398A0>

- Nguyen, S., Baker, K., Padman, B. S., Patwa, R., Dunstan, R. A., Weston, T. A., Schlosser, K., Bailey, B., Lithgow, T., Lazarou, M., Luque, A., Rohwer, F., Blumberg, R. S., & Barr, J. J. (2017). Bacteriophage transcytosis provides a mechanism to cross epithelial cell layers. *MBio*, 8(6). <https://doi.org/10.1128/mBio.01874-17>
- Norman, J. M., Handley, S. A., Baldrige, M. T., Droit, L., Liu, C. Y., Keller, B. C., Kambal, A., Monaco, C. L., Zhao, G., Fleshner, P., Stappenbeck, T. S., McGovern, D. P. B., Keshavarzian, A., Mutlu, E. A., Sauk, J., Gevers, D., Xavier, R. J., Wang, D., Parkes, M., & Virgin, H. W. (2015). Disease-specific alterations in the enteric virome in inflammatory bowel disease. *Cell*, 160(3), 447–460. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.01.002>
- Popescu, M., Van Belleghem, J. D., Khosravi, A., & Bollyky, P. L. (2021). Bacteriophages and the Immune System. *Annual Review of Virology*, 8(1), 415–435. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-VIROLOGY-091919-074551>
- Sahmi-Bounsiar, D., Rolland, C., Aherfi, S., Boudjemaa, H., Levasseur, A., La Scola, B., & Colson, P. (2021). Marseilleviruses: An Update in 2021. *Frontiers in Microbiology*, 12, 648731. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.648731/FULL>
- Santiago-Rodriguez, T. M., & Hollister, E. B. (2019). Human Virome and Disease: High-Throughput Sequencing for Virus Discovery, Identification of Phage-Bacteria Dysbiosis and Development of Therapeutic Approaches with Emphasis on the Human Gut. *Viruses*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/V11070656>
- Senn, V., Bassler, D., Choudhury, R., Scholkmann, F., Righini-Grunder, F., Vuille-dit-Bile, R. N., & Restin, T. (2020). Microbial Colonization From the Fetus to Early Childhood—A Comprehensive Review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 637. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2020.573735/BIBTEX>
- Seyedian, S. S., Nokhostin, F., & Malamir, M. D. (2019). A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *Journal of Medicine and Life*, 12(2), 113. <https://doi.org/10.25122/JML-2018-0075>
- Shkoporov, A. N., Clooney, A. G., Sutton, T. D. S., Ryan, F. J., Daly, K. M., Nolan, J. A., McDonnell, S. A., Khokhlova, E. V., Draper, L. A., Forde, A., Guerin, E., Velayudhan, V., Ross, R. P., & Hill, C. (2019). The Human Gut Virome Is Highly

- Diverse, Stable, and Individual Specific. *Cell Host & Microbe*, 26(4), 527-541.e5.
<https://doi.org/10.1016/J.CHOM.2019.09.009>
- Shuwen, H., & Kefeng, D. (2022). Intestinal phages interact with bacteria and are involved in human diseases. *Gut Microbes*, 14(1).
<https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2113717>
- Symonds, E. M., Rosario, K., & Breitbart, M. (2019). Pepper mild mottle virus: Agricultural menace turned effective tool for microbial water quality monitoring and assessing (waste)water treatment technologies. *PLoS Pathogens*, 15(4).
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PPAT.1007639>
- Tiamani, K., Luo, S., Schulz, S., Xue, J., Costa, R., Khan Mirzaei, M., & Deng, L. (2022). The role of virome in the gastrointestinal tract and beyond. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(6). <https://doi.org/10.1093/FEMSRE/FUAC027>
- Townsend, E. M., Kelly, L., Muscatt, G., Box, J. D., Hargraves, N., Lilley, D., & Jameson, E. (2021). The Human Gut Phageome: Origins and Roles in the Human Gut Microbiome. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.643214>
- Ungaro, F., Massimino, L., D'Alessio, S., & Danese, S. (2019). The gut virome in inflammatory bowel disease pathogenesis: From metagenomics to novel therapeutic approaches. *United European Gastroenterology Journal*, 7(8), 999–1007. <https://doi.org/10.1177/2050640619876787>
- Van Belleghem, J. D., Clement, F., Merabishvili, M., Lavigne, R., & Vanechoutte, M. (2017). Pro- and anti-inflammatory responses of peripheral blood mononuclear cells induced by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* phages. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-017-08336-9>
- Van Belleghem, J. D., Dąbrowska, K., Vanechoutte, M., Barr, J. J., & Bollyky, P. L. (2018). Interactions between Bacteriophage, Bacteria, and the Mammalian Immune System. *Viruses*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/V11010010>
- Vemuri, R., Shankar, E. M., Chieppa, M., Eri, R., & Kavanagh, K. (2020). Beyond Just Bacteria: Functional Biomes in the Gut Ecosystem Including Virome, Mycobiome, Archaeome and Helminths. *Microorganisms*, 8(4).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms8040483>

- Wenger, S. L., Steele, M. W., & Turner, J. H. (1981). Incorporation of bacteriophage DNA into the genome of cultured human lymphocytes. *In Vitro*, 17(8), 695–700. <https://doi.org/10.1007/BF02628405>
- Wolf, Y. I., Kazlauskas, D., Iranzo, J., Lucía-Sanz, A., Kuhn, J. H., Krupovic, M., Dolja, V. V., & Koonin, E. V. (2018). Origins and Evolution of the Global RNA Virome. *MBio*, 9(6). <https://doi.org/10.1128/MBIO.02329-18>
- Yan Teh, M., Furevi, A., Widmalm, G., & Morona, R. (2020). Influence of Shigella flexneri 2a O Antigen Acetylation on Its Bacteriophage Sf6 Receptor Activity and Bacterial Interaction with Human Cells. *Journal of Bacteriology*, 202(24). <https://doi.org/10.1128/JB.00363-20>
- Yutin, N., Makarova, K. S., Gussow, A. B., Krupovic, M., Segall, A., Edwards, R. A., & Koonin, E. V. (2018). Discovery of an expansive bacteriophage family that includes the most abundant viruses from the human gut. *Nature Microbiology*, 3(1), 38. <https://doi.org/10.1038/S41564-017-0053-Y>
- Zhang, L., Hou, X., Sun, L., He, T., Wei, R., Pang, M., & Wang, R. (2018). Staphylococcus aureus Bacteriophage Suppresses LPS-Induced Inflammation in MAC-T Bovine Mammary Epithelial Cells. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUL). <https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.01614>