



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Microbioma equino

Equine microbiome

Autor/es:

Andrés Rasillo de Alba

Director/es:

Alina Cequier Soler

Antonio Romero Lasheras

Facultad de Veterinaria

2020.

ÍNDICE

| | | |
|----------|--|----|
| 1. | RESUMEN | 3 |
| 2. | ABSTRACT | 3 |
| 3. | INTRODUCCIÓN | 4 |
| 4. | JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS | 10 |
| 5. | METODOLOGÍA..... | 10 |
| 6. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 11 |
| 6.1. | DEFINICIÓN MICROBIOMA Y COMPOSICIÓN | 11 |
| 6.2. | ANÁLISIS Y METODOLOGÍA DEL ESTUDIO DEL MICROBIOMA | 16 |
| 6.3. | DESARROLLO DEL MICROBIOMA..... | 17 |
| 6.4. | FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL MICROBIOMA | 21 |
| 6.4.1. | DIETA Y MANEJO | 21 |
| 6.4.1.1. | Dieta | 21 |
| 6.4.1.2. | Suplementos dietéticos que modifican la microbiota | 23 |
| 6.4.1.3. | Variaciones estacionales e interacciones sociales | 25 |
| 6.4.2. | MEDICAMENTOS | 26 |
| 6.4.2.1. | Antibióticos | 26 |
| 6.4.2.2. | Anestesia | 27 |
| 6.4.2.3. | Antiinflamatorios..... | 28 |
| 6.4.2.4. | Antihelmínticos | 28 |
| 6.4.3. | ESTRÉS | 29 |
| 6.4.3.1. | Transporte | 29 |
| 6.5. | SALUD Y ENFERMEDAD | 30 |
| 6.5.1. | COLITIS Y DIARREA | 30 |
| 6.5.2. | CÓLICO..... | 31 |
| 6.5.3. | LAMINITIS | 31 |
| 6.5.4. | ASMA EQUINO..... | 32 |
| 7. | CONCLUSIONES | 33 |
| 7. | CONCLUSIONS | 34 |
| 8. | VALORACIÓN PERSONAL..... | 34 |
| 9. | BIBLIOGRAFÍA..... | 35 |

1. RESUMEN

El microbioma se define como la comunidad de microorganismos, junto con sus genes y metabolitos que habitan en un nicho ecológico dado. La aparición de las nuevas técnicas moleculares y el amplio uso de la PCR para secuenciación de genes han provocado que el microbioma pueda estudiarse en profundidad permitiendo conocer las funciones que desarrolla dentro de nuestro organismo. El desarrollo del microbioma en la especie humana se ha relacionado con el aumento de la incidencia de ciertas enfermedades de carácter autoinmune como alergias y el asma. Recientemente en la especie equina se ha estudiado la formación del microbioma en las etapas iniciales del desarrollo, destacando el comportamiento de coprofagia y la transición a alimento sólido como eventos críticos con repercusión en la salud del individuo adulto. Por otro lado existen estudios sobre el impacto de ciertos factores en la composición del microbioma y su relación con el hospedador destacando los cambios en la dieta, el uso medicamentos (antibióticos y antihelmínticos) y situaciones estrés como inductores de estados disbióticos que favorecen el desarrollo de enfermedades gastrointestinales. El estudio del microbioma en animales afectados por colitis, laminitis, cólico y asma equina ha permitido por un lado, identificar los cambios en su composición y por otro lado, la repercusión que tiene en la regulación de la respuesta inflamatoria e inmune. Además se ha descrito tanto en la especie humana como en la equina, una relación bidireccional entre la microbiota intestinal y el sistema nervioso central que repercute en la correcta homeostasis del organismo. Por último, se han descrito diferentes herramientas terapéuticas para modificar los estadios disbióticos en un intento de enriquecer y estabilizar el microbioma intestinal. Los conocimientos actuales sobre el microbioma equino siguen siendo objeto de estudio y se requiere una mayor investigación para poder entender mejor sus implicaciones en el estado de salud de los caballos.

2. ABSTRACT

The microbiome is defined as the community of microorganisms, together with their genes and metabolites that inhabit a given ecological niche. The emergence of new molecular techniques and the wide use of PCR for gene sequencing have meant that the microbiome can be studied in depth, allowing us to understand the functions it performs within our organism. The development of the microbiome in the human species has been related to the increase in the incidence of certain autoimmune diseases such as allergies and asthma. Recently, in the

equine species has been studied the formation of the microbiome in the early stages of development, highlighting the behavior of coprophagia and transition to solid food as critical events with impact on the health of the adult individual. On the other hand, there are studies on the impact of certain factors in the composition of the microbiome and its relationship with the host, highlighting the changes in diet, the use of drugs (antibiotics and antihelmintics) and stress situations as inducers of dysbiotic states that favor the development of gastrointestinal diseases. The study of the microbiome in animals affected by colitis, laminitis, colic and equine asthma has allowed on the one hand to identify the changes in its composition and on the other hand the repercussion that it has in the regulation of the inflammatory and immune response. In addition, a bidirectional relationship between intestinal microbiota and the central nervous system has been described in both the human and equine species, which affects the correct homeostasis of the organism. Finally, different therapeutic tools have been described to modify the dysbiotic stages in an attempt to enrich and stabilize the intestinal microbiome. Current knowledge of the equine microbiome remains under study and further research is required to better understand its implications for the health status of horses.

3. INTRODUCCIÓN

A lo largo de la historia muchos científicos han estudiado las bacterias que habitan dentro de nuestro organismo. En 1683, Anton van Leeuwenhoek escribió sobre unos “animáculos” que había observado en el tracto intestinal al microscopio. Dos siglos más tarde Louis Pasteur descubrió las bacterias intestinales anaerobias. Pero no fue hasta comienzos del siglo XX cuando Ilya Metchnikov, científico ucraniano galardonado con un premio nobel en 1908, describió un tipo de bacterias presentes en los fermentos lácteos que consumían los habitantes de Bulgaria , las BAL (bacterias ácido lácticas) que podían tener repercusión en la salud hasta el punto de influir en la longevidad de estas poblaciones (Sebastián & Sánchez, 2018).

El primer científico que acuña el término microbioma fue Joshua Lederberg en 2001. Este biólogo molecular fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina en 1958 por sus estudios genéticos en bacterias. En sus trabajos afirma que los microorganismos simbióticos que colonizan diferentes órganos del cuerpo humano forman una gran unidad metabólica, además reconoce que las bacterias que habitan en nuestro organismo tienen una enorme repercusión en nuestra salud (Lederberg, 2000).

Desde entonces, la investigación biomédica no ha dejado de avanzar en el conocimiento de la microbiota intestinal, mediante estudios de genética molecular aplicados en el análisis de ADN bacteriano basada en la secuenciación del gen 16S rARN y rADN. Esto ha desencadenado una revolución de las "ómicas": metagenómica, metatranscriptómica, metabolómica y metaproteómica, que aportan datos sobre la composición de las comunidades bacterianas de nuestro organismo y revelan sus propiedades funcionales. En los últimos 15 años han aparecido dos grandes proyectos que han marcado la dirección de esta nueva vía de conocimiento el MetaHIT (Metagenomics of the Human Intestinal Tract) en Europa y el HMP (Human Microbiome Project) en Estados Unidos. El objetivo de estos proyectos ha sido definir con detalle la composición del microbioma y la forma en que interactúan con el hospedador estas poblaciones polimicrobianas (O'Hara & Shanahan, 2006; "The Integrative Human Microbiome Project," 2019).

Así pues, podemos definir la Microbiota como la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico determinado. Por otra parte, definimos el concepto de Microbioma como el conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico determinado. En el microbioma fecal humano se han identificado 9,9 millones de genes microbianos (Li et al., 2014) y la gran mayoría de estas bacterias intestinales residen en el colon. Estudios recientes han concluido que el volumen de bacterias en el colon es de unas 10^{11} bacterias por gramo, considerando que el peso del colon son unos 400 gramos, se ha estimado que el colon contiene $3,8 \times 10^{13}$ de bacterias. Así, de forma global, se ha estimado que el número de células que componen un ser humano es de unos treinta billones, por lo que el ratio bacterias/células humanas es de aproximadamente 1,3. También se ha estimado que el peso medio de las bacterias que componen el microbioma humano es de aproximadamente un 0,3% del peso corporal (Sender et al., 2016).

Los principales componentes de la microbiota intestinal son bacterias, hongos, levaduras y virus (viroma intestinal). El microbioma intestinal humano está definido principalmente por dos filotipos de bacterias, Firmicutes y Bacteroidetes (estos últimos suponen el 90% de la microbiota intestinal) y, en menor medida, Actinobacterias. El filo de las Firmicutes incluyen dos familias muy importantes los *Lactobacillaceae* y *Clostridiaceae* mientras que en el de los Bacteroidetes incluyen las bacterias pertenecientes al género *Bacteroides* y al *Prevotella*. Dentro del filo de las Actinobacterias, el género más importante es el *Bifidobacterium* (Grenham et al., 2011). En el estudio de la microbiota intestinal humana, se han identificado varios "enterotipos" que se definen como las diferentes agrupaciones de la microbiota intestinal de acuerdo a estados de equilibrio en su composición. Cada uno de estos enterotipos

se diferencian en las proporciones de los tres géneros más importantes del microbioma intestinal: *Bacteroides* (enterotipo 1), *Prevotella* (enterotipo tipo 2) y *Ruminococcus* (tipo 3). Estos enterotipos encontrados están probablemente influenciados por patrones dietéticos diferentes. Por ejemplo, el enterotipo 1 se ha asociado a dietas ricas en proteínas y grasas siendo el patrón dietético prevalente entre la población europea, y el patrón tipo 2 está asociado al consumo dietas ricas en hidratos de carbono (Robles-Alonso & Guarner, 2013; Wu et al., 2011).

En cuanto a los aspectos funcionales que desempeña el microbioma, se encuentran las funciones metabólicas y nutricionales, de protección antimicrobiana, de mantenimiento de la integridad de la mucosa intestinal y de regulación de la respuesta inmune.

Dentro de las funciones metabólicas más importantes destacan:

- La fermentación bacteriana anaerobia de los carbohidratos de la fibra dietética produce AGCC (Ácidos grasos de cadena corta) que son el “combustible energético” del epitelio del colon y tienen un efecto antiinflamatorio, ya que son capaces de inhibir citoquinas pro inflamatorias. Así mismo, se ha estudiado que son capaces de inducir la apoptosis de las células malignas del cáncer de colon (Andoh et al., 2003).
- La microbiota también está implicada en el metabolismo energético y en la regulación de los ácidos grasos y por lo tanto en la regulación del almacenamiento de la grasa corporal (Gérard, 2016).
- La microbiota juega un papel fundamental en la síntesis de algunas vitaminas o algunos componentes de ellas como es el caso de la vitamina K o la vitamina B (LeBlanc et al., 2013).

Aparte de las funciones metabólicas descritas, las bacterias que conforman la microbiota intestinal son capaces de producir sustancias antimicrobianas llamadas bacteriocinas que juegan un papel fundamental en el control de organismos patógenos. Como ejemplo podemos citar el caso del *Streptococcus* (*S. mutans*), que es comensal de la microbiota natural de la mucosa oral y que secreta mutanobactinas que evitan la invasión de *Cándida albicans*, interfiriendo en su ciclo de desarrollo (Joyner et al., 2010).

Otro ejemplo interesante ampliamente estudiado es el potencial de las BAL en el control del ecosistema intestinal mediante la producción de bacteriocinas y la competencia por los nutrientes. Este tipo de bacterias son principalmente sacarolíticas y proteolíticas que compiten con bacterias comensales y patógenas por estos sustratos. Además, su metabolismo

fermentativo genera ácidos que compiten metabólicamente frente a especies endógenas y exógenas junto con el dióxido de carbono, el etanol y el peróxido de hidrogeno. Los ácidos orgánicos como el ácido láctico, acético y propionico interfieren en el potencial eléctrico de la membrana plasmática de las bacterias al mismo tiempo que inhiben el transporte activo de éstas. Además, la formación de dióxido de carbono y peróxido de hidrogeno producidas por este tipo de bacterias y ciertas levaduras, generan un ambiente desfavorable que impiden el crecimiento de algunas bacterias (Pessione, 2012).

Otros de los aspectos ampliamente estudiados en la especie humana y otras especies animales, es el papel de la microbiota intestinal en la estimulación y modulación del sistema inmune. La microbiota está en simbiosis homeostática con el huésped debido a una barrera intestinal funcional que contiene altas concentraciones de IgA (inmunoglobulina A) secretora. Esta inmunoglobulina está producida por las células plasmáticas que se localizan en las placas de Peyer y la lámina propia del epitelio intestinal. Su papel biológico fundamental es presentar selectivamente los componentes bacterianos a las células dendríticas, induciendo una señalización muy compleja y la producción de citoquinas antiinflamatorias como la IL-10 (interleuquina-10). De este modo modulan la respuesta inflamatoria por una parte y estimulan al sistema inmune por otra. Además, esta interacción entre las bacteria intestinales y las células linfocíticas permite la creación de un ambiente tolerogénico entre el sistema inmune y la microbiota (Gutzeit et al., 2014).

Durante muchos años, se pensó que los seres humanos nacíamos con el intestino estéril y este comenzaba a colonizarse, según la vía de nacimiento. Durante el parto la principal vía de colonización intestinal es la microbiota vaginal y en el en el caso de los partos por cesárea la vía principal de colonización sería la flora cutánea (Goulet, 2015). Por otra parte, se conoce que la leche materna es uno de los principales factores en el desarrollo y composición de la microbiota del neonato. Así pues, se han observado diferencias entre la microbiota de niños amamantados y niños alimentados con leche artificial aunque posteriormente estas diferencias en la microbiota desaparecen por el efecto de la alimentación con otros suplementos de alimentación infantil (Martín et al., 2009).

La colonización intestinal inicial, es decir, desde el momento del parto y el periodo de lactancia, es determinante en el desarrollo de la respuesta adaptativa y la programación metabólica temprana. El aumento de incidencia de enfermedades inflamatorias y autoinmunes se ha relacionado con la pérdida de tolerancia inmunológica durante este periodo denominado “ventana” debido a la pérdida de la variabilidad y riqueza del microbioma. Un ejemplo que

corroborar estas teorías sobre la influencia del microbioma en la homeostasis del sistema inmune sería un estudio (Arrieta et al., 2014), donde valoraron la influencia entre la forma de nacimiento (cesárea o parto natural) y la probabilidad de padecer asma infantil. En dicho estudio se deduce que los niños nacidos por cesárea tienen hasta un 20% más de probabilidad de padecer asma que los niños nacidos por parto natural.

Recientemente se ha descrito en diferentes estudios tanto en la especie humana como en otros animales, que el eje microbiota-intestino-cerebro es un eje bidireccional. El cerebro puede influir indirectamente en la microbiota mediante cambios en la secreción, motilidad y permeabilidad intestinal o bien puede influir directamente en la microbiota por vía neuronal mediante la liberación de sustancias por parte de células inmunitarias y células enterocromafines, estas últimas son células enteroendocrinas encargadas de la producción y almacenamiento de la serotonina. Por otro lado, la microbiota puede comunicarse con el cerebro mediante la estimulación directa de ciertos receptores a través de aferentes vagales o indirectamente a través de la vía humoral. Todo esto afecta a la morfología y neuroquímica del cerebro, influyendo en los niveles de GABA (*Gamma*-Aminobutyric Acid) y serotonina. Este eje implica ciertos procesos de tipo neuronal como la percepción del dolor visceral y modulación del sistema inmune (Rhee et al., 2009).

Estos avances en el conocimiento del microbioma humano han permitido el estudio del microbioma intestinal de los animales de compañía y su repercusión en el estado de salud de estos. Los perros y gatos comparados con los humanos y otras especies de abasto son animales carnívoros, que poseen un tracto intestinal más simple y no dependen tanto de la microbiota para mantener el equilibrio energético. Esto determina la proporción de los filos predominantes en estas especies destacando la abundancia del filo de las Proteobacterias, cuya presencia en otras especies se ha relacionado con estadios de disbiosis (Moon et al., 2018). De hecho la dieta de estos animales contiene un alto porcentaje de proteínas (por tratarse de animales carnívoros) con un contenido muy bajo de hidratos de carbono. Los estudios sobre los efectos de la dieta en la microbiota intestinal de los animales de compañía es muy importante, diferentes factores influyen en la microbiota como el contenido en fibra, el formato de presentación húmeda o seca, así como los efectos de ingredientes funcionales como por ejemplo ácidos grasos volátiles o prebióticos (Deng & Swanson, 2015).

En los animales de producción se ha investigado mucho sobre el mantenimiento de un microbioma intestinal sano y su repercusión en el estado de salud, sistema inmune y productividad. En los rumiantes se calcula que aproximadamente un 70% de los

requerimientos energéticos proviene de la microbiota intestinal ya que juega un papel importante en la degradación de los hidratos de carbono estructurales, transformándolos en AGCC (Flint & Bayer, 2008). Además, en estos animales, la microbiota intestinal no solo se encarga de proporcionar energía y de degradar fibra sino que también se encarga del metabolismo del nitrógeno siendo capaz de atenuar ciertas toxinas. La importancia de la microbiota intestinal en estas especies ha llevado a investigar la inoculación de ciertas bacterias que promueven la salud del individuo. Esto es lo que se conoce como probióticos, que se definen como bacterias vivas que se añaden al pienso como un suplemento alimentario. Su uso se ha relacionado con incremento de resistencia a enfermedades, un mayor rendimiento reproductivo y un mayor crecimiento (Yeoman & White, 2014).

En los caballos se han realizado estudios sobre la composición del microbioma y su relación con el estado de salud. El microbioma intestinal del caballo es especialmente importante ya que estos son animales herbívoros que fermentan la fibra en el ciego y el colon donde la microbiota es altamente diversa y compleja. Esta microbiota juega un papel importante en el equilibrio energético del caballo ya que produce el 65% de la energía de estos (Al Jassim & Andrews, 2009). Como en el resto de las especies descritas anteriormente, la microbiota intestinal equina juega un papel fundamental en la regulación del sistema inmune así como en el correcto desarrollo de las vellosidades intestinales y por lo tanto en la absorción de nutrientes. Las enfermedades gastrointestinales en el caballo son una de las principales causas de mortalidad y morbilidad, ciertos tipos de cólico, colitis y laminitis se han relacionado con alteraciones en la microbiota intestinal (Marcio C. Costa & Weese, 2012).

Los estudios más recientes en el microbioma de esta especie se han basado en el estudio de los factores que alteran este ecosistema. Entre los factores que tienen especial relevancia se encuentran la dieta y manejo. Por ejemplo, se ha demostrado que dietas ricas en almidón pueden causar disbiosis grave en el colon predisponiendo al padecimiento de colitis crónica y/o síndromes de malabsorción (Marcio Carvalho Costa & Weese, 2018). Por otra parte, el uso de antihelmínticos y antibióticos también se ha relacionado con un empobrecimiento de la variabilidad y diversidad del microbioma lo que según diversos autores predispone a la aparición de enfermedades autoinmunes como el asma equina o enfermedades metabólicas como el síndrome metabólico equino (Lynch, 2016; Perry et al., 2018).

A lo largo de este trabajo vamos a profundizar en los conceptos que se relacionan con esta área de conocimiento así como en los factores que alteran la microbiota en la especie equina y las posibles enfermedades que se están relacionando recientemente con esta alteración de la

homeostasis del microbioma intestinal en esta especie. También desarrollaremos los diferentes abordajes terapéuticos que se están investigando basados en el restablecimiento del equilibrio de la microbiota intestinal mediante técnicas como la trasfaunación o la administración de probióticos y prebióticos en la dieta.

4. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El estudio del microbioma en la especie humana y en otras especies ha despertado en la comunidad científica un gran interés debido a su interrelación con los diferentes sistemas del organismo y su repercusión en la correcta homeostasis y salud del mismo. Por ello, hoy en día es considerado como un “órgano” e incluso se le ha llegado a denominar “el segundo cerebro” debido a la existencia de un eje microbiota intestinal y cerebro. Del mismo modo, se ha estudiado la interrelación entre el desarrollo del microbioma y las enfermedades autoinmunes que son cada día más frecuentes tanto en la especie humana como en otras especies animales incluida la equina. Por todo ello, para la consecución de este trabajo se han elaborado los siguientes objetivos:

- Describir las comunidades de microorganismos que se asientan desde el nacimiento del hospedador y cuáles son las variables que afectan al desarrollo de los diferentes microbioma de la especie equina.
- Profundizar en los factores que predisponen el desarrollo de procesos disbióticos y cómo estos pueden afectar a la salud del animal.
- Estudiar algunas de las principales enfermedades que afectan a la especie equina y su interrelación con procesos disbióticos del microbioma intestinal del caballo, así como algunas de las herramientas terapéuticas propuestas en la bibliografía encontrada.

5. METODOLOGÍA

Para alcanzar este objetivo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de literatura científica en inglés y castellano sobre el microbioma equino. Para ello se ha buscado información en libros especializados, actas de congresos de sociedades científicas y artículos científicos encontrados en bases de datos como Pubmed, Web of Science o Science direct, buscadores académicos como Google Scholar, así como la página del NIH (National Institutes of Health) sobre HMP (Human Microbiome Project). Para dicha búsqueda, se han realizado combinaciones de palabras claves como “equine”, “horse”, “microbiome”, “microbiota”. Aunque

la especie de interés de este trabajo es el caballo, se ha incluido también bibliografía de medicina humana para cubrir los aspectos menos conocidos en la especie equina. Finalmente, para la administración de las citas bibliográficas se ha empleado el gestor bibliográfico “Mendeley”.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. DEFINICIÓN MICROBIOMA Y COMPOSICIÓN

En este apartado se definen los conceptos más importante (Marchesi & Ravel, 2015):

- **Microbioma:** es el conjunto formado por los microorganismos, sus genes y sus metabolitos en un nicho ecológico dado.
- **Microbiota:** es la comunidad de microorganismos vivos residentes en un nicho ecológico.
- **Patobionte:** son los microorganismos comensales que en condiciones favorables pueden producir determinadas patologías.
- **Disbiosis:** es la pérdida del equilibrio homeostático entre la microbiota y el hospedador.
- **Holobionte** es la totalidad de organismos en un ecosistema dado en este caso el caballo.
- **Metagenoma:** es el conjunto total de genes presentes en una comunidad de microorganismos.
- **Metaboloma:** es el conjunto total de metabolitos producidos por una comunidad de microorganismos.

Por los tanto según la definición de microbioma citada anteriormente, el microbioma equino lo podemos definir como el conjunto de genes que forman las poblaciones microbianas que se asientan en los diferentes nichos ecológicos que existen en el cuerpo del caballo.

De este modo la microbiota forma complejos ecosistemas compuestos por bacterias, virus, protozoos y hongos en las diferentes mucosas y epitelios de los caballos, con los que mantiene una relación simbiótica. Estas comunidades tienen un comportamiento simbiótico y mutualista con las células animales y son imprescindibles para el correcto funcionamiento del organismo. Debido a su enorme capacidad metabólica, el microbioma es considerado un “órgano” imprescindible para la vida. Además, presenta particularidades y características propias

inherentes a cada individuo, pudiendo variar en función de la base genética, la dieta, y la interacción con el medio ambiente (Marcio Carvalho Costa & Weese, 2018).

El microbioma intestinal es el más importantes en la especie equina, ya que juega un papel muy importante en la fermentación del ciego y el colon, donde las poblaciones microbianas fermentan la fibra vegetal proporcionando nutrientes esenciales al hospedador como AGCC proteínas y vitaminas (Jullian & Grimm, 2016).

Los caballos son animales herbívoros, pero a diferencia de los rumiantes, la fermentación se produce en el ciego y el colon, que suponen un 60% del tracto gastrointestinal. La digestión del alimento comienza en el estómago, donde se secretan enzimas proteolíticas y los carbohidratos se convierten en ácido láctico lo que produce un descenso del pH. Una vez que el alimento alcanza el duodeno el pH vuelve a aumentar debido a la secreción biliar por parte del hígado, responsable de la mayor parte de la digestión enzimática. Las proteínas se degradan en aminoácidos y las grasas en ácidos grasos y glicerol. Los carbohidratos solubles se hidrolizan mediante de enzimas tipo amilasas a ácido láctico (Dicks et al., 2014).

A las 3h aproximadamente el alimento llega al ciego, que es una cámara fermentativa de 25-35 litros de capacidad que favorece la interacción entre las bacterias y el alimento. En el ciego y el colon los hongos, bacterias y protozoos degradan la hemicelulosa y pectinas. Por otro lado, los carbohidratos complejos como la celulosa, son fermentados en AGCC principalmente, aunque también se sintetizan vitaminas (B, K) y aminoácidos esenciales. En este tramo del tracto gastrointestinal el pH suele tener un valor aproximado de 6 y las variaciones repentinas del pH debido a cambios en la alimentación pueden producir alteraciones significativas en la microbiota fermentadora (Dicks et al., 2014).

Además del microbioma intestinal, se están estudiando otros microbiomas que se cree que pueden jugar un papel importante en determinadas enfermedades. Las vías aéreas suponen un área de contacto con el exterior muy importante, ya que están expuestas a una carga de bacterias importante, siendo mayor la carga microbiana en las vías altas. En la especie humana se ha descubierto que las reacciones de hipersensibilidad en el pulmón se asocian a una carga bacteriana elevada. En el caso del microbioma pulmonar, se está estudiado su composición y relación tanto con la patogenia del asma tanto en humana (Lynch, 2016) como en caballos (Bond et al., 2017). Así, el microbioma pulmonar en caballos está formado principalmente por Proteobacteria, Actinobacterias, Firmicutes y Bacteroidetes. Diversos estudios recientes están centrados en el estudio de la enfermedad inflamatoria de las vías aéreas o asma equino, que es una enfermedad inflamatoria, pero que tiene un componente infeccioso ya que se han

aislado *Streptococcus zooepidemicus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Mycoplasma equihinis* en muestras traqueales de animales afectados por dicha enfermedad (Bond et al., 2017).

Otro de los microbiomas equinos que han sido objeto de estudio es el microbioma del tracto genital que es un ecosistema altamente dinámico y que depende del ciclo sexual, de hormonas externas y de la etapa del desarrollo del animal. *Lactobacillus* es la principal bacteria del ecosistema vaginal y se trata de una bacteria Gram positiva, anaeróbica facultativa que produce ácido láctico, lo cual baja el pH a niveles en el que se dificulta el crecimiento de bacterias patógenas y de esta manera se controla el entorno (Greenbaum et al., 2018). Con las nuevas técnicas de secuenciación se ha podido estudiar la composición de este microbioma, así como sus cambios en distintos escenarios. En caballos los estudios del microbioma del aparato genitourinario son escasos, ya que se han limitado a aislar las bacterias patógenas que causaban la endometritis en yeguas, pero no han estudiado el microbioma de yeguas sanas. Recientemente se han realizado estudios preliminares de metagenómica del microbioma vaginal en yeguas (Heil et al., 2018; Jones, 2019).

La superficie ocular también tiene su propio microbioma, éste se desarrolla en una superficie que contiene muchas sustancias antimicrobianas y estudios recientes en la especie humana relacionan cambios en la composición de este microbioma con problemas corneales (Kugadas & Gadjeva, 2016). En caballos está también siendo objeto de estudio, ya que son muy propensos a patologías en la córnea como queratitis ulcerativa o abscesos corneales. En estos estudios han descrito que la familia Pasteurellaceae del filo de las proteobacterias es el más abundante seguido del filo de los Firmicutes. Los cambios en estas poblaciones se deben principalmente al uso continuado de antimicrobianos tópicos para tratar los problemas corneales del caballo (Scott et al., 2019).

A continuación se desarrollan los diferentes microorganismos que han sido descritos en el microbioma de la especie equina y sus principales funciones:

Protozoos

El primer microorganismo del intestino que se estudió en el caballo fueron los protozoos del ciego y del colon, que fueron descritos en 1843 por Gruby y Delafond. Estos autores describieron en su inicio 7 especies de protozoos, pero a día de hoy se conocen alrededor 72 especies principalmente de la clase *Ciliata* (Julliard & Grimm, 2016). La concentración de protozoos en el ciego esta entre 10^3 y 10^5 por mililitro (Dicks et al., 2014) y participan de forma muy importante en la digestión de la fibra ya que son capaces de digerir la hemicelulosa y las

pectinas (Frape, 2007). Hasta 1990 los estudios se realizaban mediante observación directa por microscopio y las técnicas se basaban en el aislamiento y el cultivo, aunque resultaba muy difícil recrear el ambiente intestinal *in vitro* y el mayor inconveniente es que no todas las especies son cultivables. Actualmente los estudios de los protozoos se realizan por técnicas de PCR de la región 18S RNA ribosomal.

Bacterias

A partir del estudio de los protozoos, Dyar y Keith en 1894, pusieron el foco de atención sobre otros organismos microbianos de forma que describieron por primera vez el *bacterium intestinalis equi* como la bacteria dominante en el intestino del caballo. Después Choukevitch en 1911 describió por primera vez el papel de las bacterias intestinales del caballo definiendo el papel fibrolítico de las bacterias fecales (Julliand & Grimm, 2016). Los estudios en esa época se veían muy limitados debido a la ausencia de técnicas de cultivo que recreasen los medios anaerobios y a su dificultad de expansión y cultivo ya que aún en la actualidad el 50% de las bacterias fecales del caballo no son cultivables.

En cuanto a la composición de la microbiota intestinal podemos decir que varía en función del tramo intestinal en el que habitan, cambiando de un compartimento a otro. El filo más predominante en todos los “compartimentos digestivos” es el Firmicutes (M. C. Costa et al., 2015). Estas diferencias son mayoritariamente debidas a algunas condiciones ambientales como el pH o la tensión de oxígeno presentes (Dicks et al., 2014). Por ejemplo, en el estómago el filo predominante es el Firmicute siendo *Lactobacillus*, *Sarnia* y *Streptococcus* los principales géneros de este filo predominante. Además, este autor señala que el estómago es uno de los compartimentos que más variabilidad presenta entre individuos. Por otro lado, en el intestino delgado el filo mayoritario al igual que en el estómago es el Firmicute, aunque en el duodeno destacan los géneros *Lactobacillus* y *Streptococcus* mientras que en el íleon predominan las proteobacterias. Estos cambios son en parte debidos a las diferencias ostensibles de acidez dentro del intestino delgado (M. C. Costa et al., 2015).

En el intestino grueso del caballo, el ciego y colon se comportan como verdaderas cámaras fermentativas de la fibra vegetal por lo que la complejidad de su microbiota es mucho mayor con respecto al intestino delgado. La concentración de bacterias en el ciego y colon es de 10^9 por gramo de alimento y los filios predominantes son Firmicutes, Verrumicrobia y Fibrobacter. Dentro del filo de los Firmicutes destacan por su importancia la clase de los Clostridiales, siendo las familias más destacadas por la implicación que tienen en la salud gastrointestinal (M. C. Costa et al., 2015).

En el intestino grueso destacan la producción de ácidos grasos volátiles (butirato, propionato y acetato), provenientes de la digestión de la celulosa. Desequilibrios en la fermentación de ésta, pueden inducir cambios de pH favoreciendo la proliferación de bacterias lácticas y Gram positivas lo cual se ha relacionado con desencadenamiento de patologías como el cólico o la laminitis (Dicks et al., 2014). Además, otros estudios señalan que los caballos con inflamación intestinal como la colitis idiopática presentan una significativa reducción de Lachnospiraceae y Ruminococcaceae que son productoras de butirato y este AGCC parece tener un efecto antiinflamatorio a nivel intestinal (Marcio C. Costa & Weese, 2012).

El estudio de las bacterias se puede realizar a partir de heces, de líquido intestinal de caballos fistulizados o de líquido intestinal de caballos recién eutanasiados. Las heces son la muestra de elección ya que es la más accesible, pero presentan el inconveniente de que son representativas predominantemente de la microbiota del intestino grueso pero no de tramos intestinales proximales como es el estómago o el intestino delgado. Por ello, la recogida ideal de muestras debería estudiarse mediante la recolección de los contenidos de cada tramo intestinal por separado en caballos eutanasiados y con un historial de manejo conocido. (Marcio C. Costa & Weese, 2012).

Hongos:

La mycobiota, que es como se denomina a la comunidad de hongos, se encuentra principalmente en el intestino grueso, y participan activamente al igual que los protozoos en la degradación de la fibra vegetal produciendo elevadas cantidades de dióxido de carbono (Julliard & Grimm, 2016). Las primeras levaduras aisladas en intestino grueso se descubrieron en 1961 por Batista. Los principales géneros que se encuentran en el intestino grueso son *Neocallimastix*, *Piromyces*, *Caecomyces* y *Anaeromyces*. Se ha observado que las especies *Piromyces equi* y *Piromyces citronii* parecen tener una alta actividad fibrolítica *in vitro*.

La mycobiota interacciona con la microbiota bacteriana ya que ciertos metabolitos inhiben o promueven ciertas poblaciones bacterianas. Los estudios filogenéticos de la mycobiota se han realizado mediante estudio de técnicas moleculares de la región 5.8S del gen rRNA (Dougal et al., 2012).

Virus

El viroma desarrolla funciones importantes de regulación en la microbiota ya que pueden infectar bacterias induciendo cambios en su metabolismo e incluso son capaces de infectar

células intestinales induciendo su apoptosis (Stern et al., 2019). Aunque existen escasos estudios del viroma intestinal equino se ha descrito que la clase Siphoviridae es la mayoritaria (Julliand & Grimm, 2016). En la especie humana se han relacionado algunos virus con el desarrollo de ciertas enfermedades intestinales como el cáncer de colon. El viroma se sigue estudiando debido a su alta capacidad de regulación de la microbiota pero todavía se debe profundizar en su estudio ya que su detección es complicada al integrarse en el material genético de las células del hospedador o de las bacterias (Stern et al., 2019).

Archea:

Este reino fue descrito por Morvan et al., 1996 y está presente en el intestino grueso del caballo siendo más abundante su presencia en el colon dorsal derecho que en el ciego. Los principales órdenes del grupo metanogénico que habitan en el intestino son *Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales* y *Methanoplasma* y usan el hidrogeno y el dióxido de carbono para producir metano pudiendo acelerar la degradación de los carbohidratos procedentes de la degradación bacteriana de la celulosa (Julliand & Grimm, 2016). Este reino parece tener importancia a la hora de equilibrar las disbiosis ya que es capaz de eliminar el exceso de hidrogeno transformándolo en metano. También se ha observado que puede producir distensión por metano en el intestino grueso del caballo cuando hay una compactación (M. C. Costa et al., 2016). Su estudio se realiza mediante PCR cuantitativa (Dougal et al., 2012).

6.2. ANÁLISIS Y METODOLOGÍA DEL ESTUDIO DEL MICROBIOMA

La metodología de aislamiento e identificación de los diferentes microorganismos que componen el microbioma es diferente en función del nicho ecológico a estudiar.

En el caso del microbioma intestinal las muestras se pueden tomar de heces o de lavados de mucosa intestinal de animales recién eutanasiados. Se ha descrito por diversos autores que existen factores que pueden alterar la composición de estas muestras como el ayuno o la anestesia cuando la toma de muestra se realiza posteriormente a la eutanasia (Marcio C. Costa & Weese, 2012).

Para la recogida de muestras de las vías respiratorias el método más frecuentes es mediante hisopado de fosas nasales. En el caso de las vías respiratoria bajas la muestra se obtiene mediante aspirado transtraqueal o lavado bronqueoalveolar para posteriormente realizar

cultivo y/o citología y poder relacionar ciertos patrones de microbiota con enfermedades inflamatorias como el asma (Bond et al., 2017).

En el caso del análisis del microbioma genital se realiza hisopado o lavado de vestíbulo vaginal mientras que en el caso de estudio de microbioma uterino las muestras deben obtenerse mediante flushing uterino y/o biopsia (Heil et al., 2018).

Una vez obtenida la muestra, ésta se puede someter a cultivo o a técnicas moleculares de identificación. Con la aparición de las nuevas técnicas moleculares el cultivo ha quedado en un segundo plano emergiendo otras técnicas para estudiar el perfil microbiológico de un microbioma a partir del análisis de sus metabolitos, a esto se le denomina metaboloma. La metabolómica está desarrollando un gran interés en la comunidad científica ya que se pueden identificar diferentes metabolitos como marcadores de alteración (Marcio Carvalho Costa & Weese, 2018).

Las nuevas técnicas moleculares están basadas en la amplificación mediante la técnica del PCR (*polimerase chain reaction*) de la secuencia 16S del gen ribosomal rRNA que está presente en todas las células procariotas. Es una RNA de unos 1500 nucleótidos que presenta algunas HVRs (High Variability Region). Estas regiones son el resultado de la evolución divergente de las bacterias y con estas secuencias se puede realizar una clasificación filogenética (Sarangi et al., 2019).

Los estudios tanto de metagenómica y metabolómica permiten evaluar la variabilidad de filos y cuantificarlos tanto dentro de la misma especie animal como entre diferentes poblaciones sometidas a diversas condiciones de vida. A su vez, se pueden analizar perfiles genéticos de poblaciones bacterianas patógenas para poder detectar la predisposición a presentar una enfermedad determinada. Como resumen podemos decir de forma generalizada que un microbioma sano contiene una gran diversidad de géneros mientras que microbiomas con baja diversidad se relacionan con estados de enfermedad (Marcio Carvalho Costa & Weese, 2018).

6.3. DESARROLLO DEL MICROBIOMA

En el caballo al igual que se ha descrito en otras especies (Lindenberg et al., 2019) la formación del microbioma comienza en el momento del parto cuando el potro entra en contacto con la microbiota vaginal y perineal (M. C. Costa et al., 2016).

La colonización y establecimiento del microbioma está relacionado con el desarrollo del sistema inmune del hospedador. El equilibrio inmunológico se desarrolla a través de la

ingestión de los antígenos alimenticios y de bacterias comensales (Bendtsen et al., 2015). Se ha demostrado en modelos animales que una colonización inadecuada y el desarrollo de cepas patógenas en el intestino promueve el desequilibrio inmunológico promoviendo enfermedades inflamatorias y metabólicas. En animales de experimentación se ha manipulado el desarrollo del microbioma mediante manejo dietético para favorecer el desarrollo de especies beneficiosas con resultados favorables teniendo un impacto importante en el desarrollo correcto del sistema inmune (Lindenberg et al., 2019).

El inicio de la colonización, la estabilización de la microbiota, el destete y la transición de alimento de líquido a sólido son los eventos más importantes en el desarrollo del microbioma intestinal y de modulación del sistema inmune. Según algunos estudios el periodo del destete coincide con la estabilización de la microbiota que permanece constante durante el resto de su vida (Lindenberg et al., 2019). El periodo antes del destete se conoce como un periodo de ventana donde se van a desarrollar las primeras reacciones del sistema inmune, así como el contacto frente a ciertos alérgenos y bacterias patógenas. Es importante identificar el periodo “ventana”, que se denomina así porque es el periodo más decisivo para modular la microbiota intestinal. Por ejemplo, en ratones se ha observado que el uso de antibióticos durante este periodo repercute en el establecimiento de una microbiota diversa induciendo la aparición de reacciones inflamatorias más exageradas (Bendtsen et al., 2015). Por otro lado, también en ratones, se han estudiado las diferencias de la microbiota intestinal de individuos nacidos mediante parto natural e individuos nacidos por cesárea. En este estudio observaron que la principal diferencia entre los dos grupos es que los nacidos por cesárea tenían menos células T reguladoras y menos células dendríticas CD103+, así como una menor expresión de IL-10 a nivel de los linfonodos mesentéricos y el bazo, lo que confirma la importancia de la microbiota en el establecimiento del sistema inmune (Bendtsen et al., 2015). Del mismo modo, diversos trabajos, han asociado que la vía de nacimiento en la especie humana (parto natural o cesárea) puede determinar la incidencia de enfermedades inflamatorias o de procesos de naturaleza autoinmune como la enfermedad de Crohn o la obesidad. Aunque faltan evidencias científicas en este tema, los autores de estos trabajos sugieren que epidemiológicamente existe una mayor incidencia de padecer la enfermedad de Crohn o de obesidad infantil entre los niños nacidos por cesárea que entre los nacidos por parto natural (Bendtsen et al., 2015; Gérard, 2016; Goulet, 2015).

Sin embargo, existen otros factores además del anteriormente descrito, que parecen tener influencia en el establecimiento de la microbiota intestinal como es la genética de cada

individuo, aunque destacan que el mayor factor determinante es el entorno donde se desarrolla el individuo (Bendtsen et al., 2015).

Durante la gestación el feto se desarrolla en condiciones estériles y cuando comienza el parto, inmediatamente el potro comienza a entrar en contacto con las primeras bacterias. Estudios recientes (Lindenberg et al., 2019) han aislado bacterias en el meconio. Para comprobar el origen de las bacterias se tomaron muestras del meconio, del líquido amniótico y de las heces de la madre en el momento del parto. Se observó que los géneros de bacterias que compartían el líquido amniótico y el meconio se correspondían a bacterias oportunistas como *Pseudomonas*, *Aerococcus* y *Streptococcus*. También se aislaron otros géneros de otros microbiomas de la yegua como *Staphylococcus* y *Actinobacter* de la piel, *Delfia* del microbioma oral y *Akkermansia*, *Bacteroidetes* y *Faecalbacterium* del microbioma intestinal. Finalmente se han encontrado 6 OTUs (Operational Taxonomic Units) que comparten las tres muestras y son *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus equinus*, *Agathobacter ruminis*, *Paraclostridium bifermentas* y *Acinetobacter lwoffii*. Este hecho sugiere que puede existir una transmisión vertical desde el microbioma intestinal de la yegua al líquido amniótico. Se cree que esto puede estar mediado por células dendríticas del intestino que captan bacterias y antígenos y vía sanguínea, son transportados hasta la placenta. Se cree que la función biológica de la transmisión vertical es la de suministrar antígenos al feto para preparar al sistema inmune frente a las bacterias de la madre y del ambiente (Quercia et al., 2019).

Durante el parto cuando el potro atraviesa el canal del parto este entra en contacto con las bacterias del canal del parto, destacando el *Lactobacillus mucosae*, presente en el microbiota intestinal del potro aunque también se ha aislado en la leche de yeguas. Durante los tres primeros días desde el nacimiento, el potro va adquiriendo microorganismos típicos de la leche como *Enterococcus* y *Enterobacteriaceae*. Sin embargo, este hecho cambia rápidamente a partir del tercer día, que coincide con los primeros episodios de coprofagia del potro, en el cual va adquiriendo microorganismos más parecidos a los del adulto, como *Prevotella*, *Blautia* y *Ruminococcus*. Estos son capaces de producir ácidos grasos volátiles a partir de la fibra los cuales resultan importantes en la biología y nutrición del caballo (Quercia et al., 2019).

Más tarde, durante la primera semana de vida la microbiota del potro es muy cambiante y altamente dinámica debido a la toma de leche y la coprofagia, siendo estas las principales fuentes de microorganismos del potro hasta los dos meses de vida aproximadamente. Los oligosacáridos de la leche materna parecen tener especial importancia a la hora de constituir la microbiota intestinal. Se ha observado en otras especies que los cambios en la cantidad y

calidad de los oligosacáridos muestran efectos en la composición de la microbiota de los cerdos (Salced et al., 2016). Es por esto por lo que se cree que estos oligosacáridos actúan estabilizando la microbiota de los potros durante las primeras semanas de vida (Lindenberg et al., 2019).

Aproximadamente a partir del mes de vida del potro, se observa un incremento de *Bacteroides*, lo que sugiere que como en la especie humana, la microbiota intestinal se va transformando cada vez en más anaerobia, reflejando las condiciones del tracto intestinal del animal adulto (Bordin et al., 2013). Las principales bacterias que componen la microbiota intestinal del animal adulto como *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacillus mucosae* y *Streptococcus spp.* así como el *Fibrobacteres succionogenes*, se ven incrementadas a partir del día 50 de vida del potro. Esto sugiere que a partir de entonces la microbiota se va pareciendo cada vez más a la del adulto. Los dos hitos más importantes en la transformación de la microbiota del potro neonato en una microbiota similar a la del animal adulto es por una parte la coprofagia de las heces de la madre y el incremento progresivo del consumo de la dieta materna lo que supone el desarrollo de un ecosistema rico en especies fibrolíticas (Lindenberg et al., 2019).

En el momento del destete, una parte muy importante de la dieta que consumen los potros está compuesta por elementos fibrosos por lo que suelen tener una microbiota adaptada a este tipo de dieta aunque los efectos del destete pueden variar de uno a otro individuo. Por otra parte, hay estudios (Torre et al., 2019) que sugieren que se pueden producir alteraciones de la microbiota debidos a la ausencia total de consumo de leche materna. En la especie equina no sea ha investigado con detalle el proceso del destete en los potros y por lo tanto no se conoce muy bien el proceso de estabilización de la microbiota ya que el proceso es tremendamente complicado si se tiene en cuenta la variabilidad de factores que intervienen como el ambiente, la dieta de las madres, la edad del destete etc. (Lindenberg et al., 2019). En ratones se han realizado trabajos estudiado el sistema inmune y el estado inflamatorio en el momento del destete y se observaron diferencias en la distribución y tipos de linfocitos (Manzano et al., 2002). Por otro lado, se sabe que en potros el marcador Foxp3 que regula los procesos patogénicos mediante la estimulación de los linfocitos T durante los tres primeros de vida estaba elevado (Lindenberg et al., 2019). Este hecho refuerza algunas hipótesis de que los primeros días de vida del potro son cruciales para establecer los procesos de tolerancia inmunológica digestiva y por lo tanto es el periodo ideal para manipular y optimizar la microbiota a través de una dieta adecuada (Hamza et al., 2015; Sponseller et al., 2009).

6.4. FACTORES QUE INTERVIENEN EN EL MICROBIOMA

Como se ha desarrollado en los anteriores apartados, el concepto de microbioma hace referencia a las diferentes poblaciones microbianas que habitan en el organismo, así como los genes que lo componen, sin embargo, esto es mucho más complejo. Al hablar del microbioma también nos referimos a los factores abióticos y bióticos que interfieren en este, así como el ambiente que lo rodea. Actualmente los factores que afectan al microbioma intestinal y como estos repercuten en el estado de salud del caballo son objeto de múltiples estudios. Es importante conocer cómo afectan los diferentes factores al microbioma ya que una vez que los conocemos podemos manipular o modificar ciertas situaciones que supongan un compromiso de la estabilidad del microbioma para prevenir posibles disbiosis que pueden desencadenar procesos patológicos ya sea a nivel local o sistémico (Garber et al., 2020). Los enteropatógenos oportunistas se definen como aquellos agentes que son potencialmente capaces de causar una enfermedad pero que conviven de habitualmente con la microbiota comensal comportándose como simbioses no dañinos, sin embargo en determinadas condiciones pueden volverse patógenos (Hornef, 2015).

La domesticación de los caballos ha sido uno de los factores que más repercusión ha tenido en su microbioma intestinal, esto se debe principalmente al cambio en las interacciones sociales, la estabulación, cambios en la dieta así como el uso de antibióticos. Esto se puede constatar gracias a un estudio comparativo entre las heces de caballos salvajes (Prezwalsky) y caballos domesticados donde se observó que los primeros tenían una mayor diversidad de especies, así como una mayor abundancia de ciertas especies como *Phascolarctobacterium* relacionados con el ciclo degradativo del succinato que tiene como metabolito final el propinoato. También se ha observado una mayor abundancia de Archea metanogénicas (Metcalf et al., 2017).

6.4.1. DIETA Y MANEJO

6.4.1.1. Dieta

La dieta es uno de los factores más importantes en el microbioma del caballo, hay diversos estudios que analizan la composición del microbioma en caballos alimentados con raciones que contienen alto contenido de fibra y en otros con dietas ricas en almidón (Bulmer et al., 2019; B E Harlow et al., 2015). Se ha demostrado que las dietas a base de forraje que se suplementan con concentrado, disminuyen los géneros *Fibrobacter* y las familia Ruminococcaceae, mientras que se observa un incremento de las familias de Lachnospiraceae y Bacteroidetes, el grupo de géneros *Bacillus-Lactobacillus-Streptococcus*. Los *Streptococcus* son los mayores productores de ácido láctico, lo cual está asociado al desarrollo de disbiosis en

el intestino grueso, mientras que los Lachnospiraceae son los mayores productores de AGCC, los cuales fermentan el lactato a propionato y acetato (Daly et al., 2012). La presencia de Lachnospiraceae y Ruminococcaceae son productoras de butirato el cual tiene importantes propiedades antiinflamatorias (Garber et al., 2020).

Cuando los caballos se alimentan de grandes cantidades de almidón se observa una caída del pH y una alteración en la producción de los AGCC a nivel cecal. Una mayor disponibilidad de almidón en el intestino grueso hace que proliferen las bacterias ácido lácticas, acentuando aún más la caída del pH, lo que impide el crecimiento de la microbiota fibrolítica. Todo esto favorece la aparición de disbiosis, lo que supone en términos ecológicos una menor diversidad de especies en la microbiota del ciego y del colon, y los transforma en microbiomas más inestables (Warzecha et al., 2017). Este tipo de procesos se ha relacionado con la incidencia de cólico y laminitis (Garber et al., 2020).

Diferentes estudios han revelado que no solo la inclusión de concentrado en la dieta tiene efectos en la microbiota intestinal, sino que el origen botánico del concentrado también tiene efectos en el intestino grueso. La presencia de avena en la dieta produce un incremento de Lactobacilli y una disminución de cocos Gram positivos, pero esto se invierte cuando se incluye maíz en la dieta produciéndose el efecto inverso (B E Harlow et al., 2015). Esto puede deberse a una mayor digestión pre-ileal de la avena en comparación con el maíz, lo cual puede deberse a las diferencias en el ratio amilosa/amilopectina. La morfología de los granos de almidón, así como la ausencia o presencia de compuestos diferentes al almidón en los granos de cereal (por ejemplo, altos niveles de B-glucanos en la avena) tienen efectos prebióticos (Garber et al., 2020).

La presencia de dietas ricas en almidones no solo causa alteración en el intestino grueso, sino que existen estudios que relacionan el almidón con el comportamiento del caballo. Esta conexión entre el intestino y el cerebro se denomina eje intestino-cerebro, en el cual el microbioma intestinal parece jugar un papel en el sistema de comunicación. Este fenómeno se observó también en la especie murina, de forma que los ratones libres de patógenos presentaban niveles plasmáticos de adrenocorticoides y de cortisol elevados, mientras que los animales infectados con *Bifidobacter infantis* en el intestino no manifestaban esta anomalía. (Sudo et al., 2004). Recientemente en la especie equina se ha realizado un estudio en dos grupos de ponis, a uno de ellos se suministró una dieta con alto contenido en almidones y el otro fue alimentado con una dieta rica en fibra. Se observó que los ponis alimentados con una dieta rica en almidones presentaban un comportamiento diferente al otro grupo, mostrando

un nivel de alerta mayor así como una mayor capacidad locomotriz. En cuanto a la composición en el microbioma, el grupo de ponis alimentados con una dieta rica en almidón mostraba una mayor proporción de bacterias del género *Streptococcus spp.* (Bulmer et al., 2019).

El mecanismo de comunicación e interacción entre el cerebro y el intestino se ha descrito también en la especie humana y se cree que es vía vagal aunque sus mecanismos no están aún bien definidos. El cerebro a través del cortisol es capaz de alterar la composición del microbioma intestinal produciendo un aumento de la permeabilidad intestinal y regulando la actividad de las células del sistema inmune, pudiendo modular la liberación de citoquinas. Por otro lado, la respuesta inmune innata frente a la microbiota y los probióticos, provocan la liberación de citoquinas pro-inflamatorias y antiinflamatorias, las cuales afectan al SNC. Los AGCC producidos por la microbiota también tienen efectos a nivel neuronal así como otros neurometabolitos de la microbiota intestinal, como por ejemplo el GABA producido por *Bifidobacterium* y *Lactobacillus spp* (Cryan et al., 2012).

6.4.1.2. Suplementos dietéticos que modifican la microbiota

Los suplementos alimentarios son utilizados normalmente en animales de producción y caballos para modular la actividad y el equilibrio de la microbiota intestinal. Se ha demostrado que estos suplementos influyen en la digestibilidad tanto *in vivo* como *in vitro*. Los más utilizados son los probióticos, los prebióticos y las enzimas digestivas (Garber et al., 2020).

Los probióticos según la FAO (de sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization) son microorganismos vivos que, ingeridos en una cantidad adecuada, ejercen un efecto beneficioso para la salud. En cuanto a los probióticos más utilizados en caballos se encuentra el *Saccharomyces* (levadura), *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bacillus* y *Bifidobacterium* (Schoster, 2018). El uso de *Saccharomyces cerevisiae* parece tener efecto en la estabilización de la flora del ciego y colon, ya que contrarresta los efectos de los hidratos de carbono aumentando el pH y regulando la fermentación (Garber et al., 2020).

En cuanto a los mecanismos de acción de los probióticos, se basan en la modulación del sistema inmune, tanto la respuesta inmune innata como la adquirida están relacionadas con los probióticos. Los receptores de las células epiteliales intestinales y las células del sistema inmune asociadas al tracto intestinal reconocen a los probióticos y sus metabolitos, desencadenando una cascada de señales. Estas señales producen efectos en el mantenimiento y fortificación de la barrera intestinal mediante el mantenimiento de las uniones celulares, la producción de mucus, así como el crecimiento y supervivencia de las células epiteliales. Lo que

resulta en un fortalecimiento de la barrera intestinal frente a patógenos. También se asocian a los nódulos linfáticos, donde se presentan ciertas cepas de probióticos a través de las células presentadoras de antígenos, induciendo la diferenciación de linfocitos B hacia células plasmáticas. Como resultado las células plasmáticas liberan IgA en el espacio luminal del intestino, lo cual tiene un efecto muy importante a nivel de la inmunidad de mucosas. Las IgA y la β -defensina producida por las células epiteliales del intestino, impide el crecimiento de bacterias patógenas produciendo efectos antiinflamatorios a nivel local y sistémico. Algunos probióticos producen metabolitos antimicrobianos como peróxido de hidrogeno, bacteriocinas y enzimas bacteriolíticas. La exclusión competitiva es la capacidad que tienen los probióticos de disminuir la cantidad de patógenos y su capacidad para adherirse a las células epiteliales. Además, los probióticos también son capaces de neutralizar factores de virulencia de bacterias enteropatógenas, lo que resulta interesante para el tratamiento de ciertos tipos de diarrea infecciosa (Angelika Schoster, 2018).

Por otro lado encontramos los prebióticos, que se definen como sustratos que son utilizados selectivamente por los microorganismos del hospedador resultando beneficiosos para la salud (Gibson et al., 2017). Un prebiótico es un suplemento alimentario resistente a la digestión enzimática del estómago e intestino que puede ser fermentado por bacterias intestinales beneficiosas en el intestino grueso y cuya función principal es la estimulación del crecimiento de bacterias probióticas (Markowiak & Ślizewska, 2018). Los prebióticos utilizados en la alimentación animal son los fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), inulina y mannanoligosacáridos. Estos productos son utilizados por ciertos géneros de bacterias como por ejemplo las Bifidobacterias las cuales tienen enzimas para los FOS y GOS, lo cual tiene un efecto sobre estas resultando en un beneficio para el hospedador (Coverdale, 2016). Se ha demostrado que el uso de FOS de cadena corta mitiga el descenso de la digestibilidad en caballos geriátricos y además puede corregir las alteraciones de la microbiota causadas por cambios en la dieta tras la ingestión de grandes cantidades de almidón (Respondek et al., 2008).

Las enzimas son otro tipo de prebióticos que se comportan como biocatalizadores por lo que su adición a la dieta favorece la digestión de ciertos componentes. Se utilizan muy frecuentemente en alimentación animal, principalmente en lechones de engorde así como en avicultura. Las enzimas más utilizadas en estas especies son las fitasas, proteasas y α -amilasas, que ayudan a la digestión de diversas proteínas y almidones o interactúan en la absorción de ciertos minerales como el fósforo (Swiatkiewicz et al., 2016; Walk et al., 2018). En un estudio realizado en 8 caballos de carreras, a los que se les suministró amilasa durante 6 semanas para

facilitar la digestión del almidón a nivel del intestino delgado, no se observaron cambios en cuanto a riqueza de especies de la microbiota. Aunque sí que se detectó un aumento de la familia Veillonellaceae, bacterias utilizadoras de lactato con la capacidad de neutralizar el pH durante la fermentación de carbohidratos en el intestino grueso (Proudman et al., 2015). Al existir pocos estudios sobre los efectos de la adición de enzimas en las dietas de caballos es difícil determinar cuál es el beneficio potencial real de estas (Garber et al., 2020).

6.4.1.3. Variaciones estacionales e interacciones sociales

Las interacciones sociales y la estructuración espacial en caballos mantenidos en pasto, parece tener una repercusión en la composición del microbioma (Garber et al., 2020). En la especie humana se ha estudiado observando diferencias en el microbioma de las heces de individuos de diferentes zonas geográficas (Gaulke & Sharpton, 2018). Las diferencias en la composición del microbioma de las manadas se pueden entender gracias a que estas están estructuradas en diferentes niveles: a nivel individual, espacial y de grupo. A nivel espacial se entiende que los individuos de una misma manada, que comparten la misma zona de pasto y la dieta, muestran semejanzas del microbioma intestinal. A nivel de manada, se aprecian a su vez diferentes grupos que comparten un microbioma semejante. Por ejemplo, la relación materno-filial tiene un efecto muy importante en la composición del microbioma del potro, ya que mediante la coprofagia, el potro ingiere las heces de su madre colonizándose de su microbiota. Otro ejemplo es la semejanza de la microbiota entre el macho dominante y sus yeguas que se debe al comportamiento sexual masculino durante el celo de las hembras. Por lo que compartir el mismo ambiente y dieta, así como las relaciones madre-cría y macho-yegua determinan las similitudes del microbioma de una manada (Antwis et al., 2018).

En un estudio reciente (Salem et al., 2018), se ha evaluado el microbioma intestinal de 7 caballos mantenidos en pasto durante 12 meses para determinar los factores que influían en las variaciones del microbioma y las condiciones que favorecían el riesgo de padecer cólico, aunque ninguno de los animales presentó dicha enfermedad. La época estacional, la climatología (temperatura y pluviometría) y el heno suministrado, estaban asociados a cambios en la microbiota. El cambio más importante se registró cuando se les suministró heno para compensar la falta de pasto en los meses más fríos, suponiendo un aumento de *Fibrobacter* y *Spirochaetes*, bacterias fermentadoras de la fibra vegetal. Dicho cambio sucede de manera muy rápida ya que la microbiota se ve obligada a adaptarse al tipo de dieta. Por otro lado, la pluviometría y la temperatura influyen en el tipo de bacterias y hongos que se ingieren con el pasto que pueden derivar en cambios de la microbiota del animal. Este estudio demuestra que el microbioma intestinal es altamente dinámico y sensible a los cambios en el

ambiente, sugiriendo que el riesgo de cólico aumenta cuando ocurren cambios repentinos, a los cuales no se encuentra adaptada la microbiota.

6.4.2. MEDICAMENTOS

6.4.2.1. Antibióticos

. Uno de los factores más importantes que pueden producir cambios en la composición taxonómica del microbioma es la administración de antibióticos. El microbioma en muchas ocasiones es capaz de adaptarse a los cambios inducidos en la microbiota y esa capacidad de adaptación depende de la microbiota de cada individuo que está influida por factores individuales (edad, genética) y ambientales (dieta, manejo). En la especie humana se ha estudiado los efectos que tienen los antibióticos sobre el microbioma intestinal destacando como el efecto más importante la pérdida de diversidad de especies en el ecosistema intestinal (Lange et al., 2016). Este fenómeno facilita la colonización de patógenos debido a la disminución de la competencia de sustratos y nichos por parte de las bacterias de la microbiota sana. Otras de las implicaciones más importantes además de la pérdida de biodiversidad de la microbiota intestinal debido al uso de antibióticos, es la aparición de genes de resistencia a antibióticos tanto en bacterias comensales como en las patobiontes y ello conlleva la aparición de multiresistencias en microorganismos enteropatógenos como ocurre en el caso del *Clostridium difficile*, *E. coli*, etc. (Lange et al., 2016).

En la especie equina, Costa et al., (2015) realizó un estudio en 24 caballos sanos de los cuales 3 sirvieron como grupo control. A cada uno de los 3 grupos se les administró durante 5 días un antibiótico por grupo, Sulfadiazina-Timetropin por vía oral, Penicilina sódica y Ceftiofur por vía intramuscular y se analizaron las muestras a partir de heces frescas. Estos autores concluyen que en los tres grupos tratados se observan cambios en la microbiota frente al grupo control. El filo en el que más cambios se observaron fue el Verrucomicrobia. El grupo tratado con Sulfadiazina-timetropin fue en el que se observaron mayores variaciones con respecto al grupo control no tratado y estos cambios se observaron de forma más evidente en el día 5 del tratamiento. El restablecimiento de la microbiota a los niveles basales previos a la administración del antibiótico no se llegó a detectar aunque a partir del día 30 los valores comenzaban a normalizarse. En este mismo estudio los autores señalan que la vía de administración fue uno de los parámetros decisivos que influyen en los cambios de composición de la microbiota. Así los antibióticos administrados por vía oral pueden presentar un mayor efecto que por vía parenteral, aunque existen ciertos antibióticos parenterales que alcanzan altas concentraciones en el intestino debido a su vía de eliminación. Por otro lado,

estos mismos autores señalan que el espectro de acción así como la dosis son factores decisivos en los cambios de la microbiota.

Recientemente un estudio sobre la administración de Sulfadiazina-timetropin por vía oral y su impacto en la microbiota en caballos (Collinet et al., 2019) destaca que tras el tratamiento antibiótico se observa un descenso de la flora fibrolítica y un incremento de la flora amilolítica. También se observó que las heces eran menos consistentes posiblemente puesto que cuando hay una alteración en la producción de AGCC se altera simultáneamente la capacidad de absorción del agua a través de la mucosa del colon.

La diarrea asociada a antibióticos también se ha estudiado, ya que es algo muy común en la clínica equina. El desarrollo de este tipo de diarrea es debido a que ciertas poblaciones de la microbiota se encuentran disminuidas durante el tratamiento antibiótico. Estas poblaciones afectadas (*Veillonella spp.*) fermentadoras de lactato inhiben indirectamente a las BAL, ya que estas últimas utilizan este sustrato convirtiéndolo en ácido láctico. A su vez, este grupo (BAL) producen bacitracinas, que actúan como un antimicrobiano natural. Por ello la disminución de estas poblaciones hace que el colon sea más susceptible a ser colonizado por bacterias patógenas como *Salmonella spp.* y *Clostridium difficile*. A su vez, cuando estas bacterias patógenas invaden el colon y producen una serie de enterotoxinas, inducen alteraciones en la mucosa con la consecuente mal absorción de nutrientes y de agua desencadenando indirectamente un proceso diarreico (Harlow et al., 2013).

6.4.2.2. Anestesia

La anestesia y el ayuno se han estudiado como posibles factores que pueden causar alteraciones en la microbiota intestinal y que se pueden relacionar con el inicio de procesos patológicos como son la laminitis, la colitis y los cólicos. Se ha estudiado el microbioma durante el ayuno, premedicación y anestesia en caballos (A. Schoster et al., 2016). concluyendo que los cambios en el microbioma no se observan hasta pasadas doce horas después de la cirugía. En este trabajo también se señala que es difícil prever los cambios que se producen en la microbiota ya que existen factores determinantes como la duración del proceso quirúrgico, el tipo de cirugía, la premedicación administrada o el estado de salud del individuo previo a la cirugía.

Se ha asociado el efecto neurotóxico producido durante la anestesia en caballos a cambios en la microbiota, que pueden incrementar la síntesis de metabolitos como el ácido láctico y el amonio que tienen un efecto neurogénicos en el cerebro (Galland, 2014).

6.4.2.3. *Antiinflamatorios*

Los Antiinflamatorios no esteroideos (AINES) son uno de los fármacos más utilizados en la clínica equina. Los AINES más frecuentemente utilizados son el Flunixin meglumine y la fenilbutazona para tratar dolencias gastrointestinales o del aparato locomotor. Uno de los principales efectos secundarios asociados al uso de los AINES es la predisposición al padecimiento de úlceras gástricas aunque también se ha asociado a la aparición de colitis dorsal derecha (Simmons et al., 1990).

El tratamiento continuado con AINES puede inducir disbiosis intestinal. En caballos se ha observado una disminución en la microbiota intestinal de ciertas familias del filo Firmicutes principalmente de Lachnospiraceae y, en menor medida de Clostridiaceae y Ruminococcaceae. Dichas familias están relacionadas con la salud intestinal del caballo, ya que provocan una disminución en la producción de butirato, el cual tiene un efecto antiinflamatorio a nivel local. Una de las posibilidades que explicarían este fenómeno es que los AINES inducen la liberación de ROS (Reactive Oxygen Species) por parte de las células epiteliales del villi intestinal. Cuando estos metabolitos de alta capacidad oxidativa llegan a la luz intestinal, reaccionan con las poblaciones bacterianas causando una disminución de bacterias anaerobias y un aumento de las aerobias (Whitfield-cargile et al., 2018).

6.4.2.4. *Antihelmínticos*

Los helmintos gastrointestinales habitan en el mismo nicho que las bacterias, hongos y Archea, algunos autores definen dicha población como “helmintoma”. Los helmintos parecen ejercer un efecto en la respuesta inmune a través de la estimulación de células TH2 y Treg (Walshe et al., 2019). Su interacción con cada una de las poblaciones del microbioma juegan un papel muy importante en la regulación de la respuesta inflamatoria e inmune. Además se ha estudiado el efecto del “helmintoma” en la composición del microbioma. En humana se ha estudiado la evidencia de que el aumento de enfermedades inmunomediadas se debe a una menor exposición a parásitos, sugiriendo el potencial terapéutico del “helmintoma” (McKay, 2009).

El incremento de la riqueza y diversidad de la microbiota está íntimamente ligada a la presencia de helmintos intestinales. La disminución de la variabilidad de la microbiota especialmente de los géneros de *Ruminococcus* y *Clostridia XIV*, y algunas especies de la familia Lachnospiraceae desarrolla un aumento de la sensibilidad a la parasitación de Estrongídeos (Clark et al., 2018). La desparasitación mediante la administración de antihelmínticos como Febendazol y Moxidectina influyen en el microbiota intestinal,

disminuyendo su diversidad. Esta disminución de la diversidad afecta a la respuesta inmune e inflamatoria (Garber et al., 2020).

6.4.3. ESTRÉS

6.4.3.1. Transporte

Los caballos son animales que debido al uso al que están destinados, es decir la actividad comercial y deportiva, son susceptibles en numerosas ocasiones a ser sometidos a desplazamientos en ocasiones de larga duración. El estrés que supone el transporte de un caballo, se ha relacionado como un factor de riesgo para la salud del caballo (A. Schoster et al., 2016). Los caballos que no están habituados a viajar tienen tendencia a sufrir con más intensidad el estrés por transporte. Además de este hecho en sí, los desplazamientos están asociados a otro tipo de factores que pueden agravar esta situación de estrés como es la deshidratación, la orientación o las condiciones de confinamiento durante el viaje. Durante el mismo, se ha observado un incremento de cortisol, hormona liberada por la glándula suprarrenal y que está controlada por el eje pituitaria-hipotálamo-adrenal y que se secreta como respuesta a situaciones de estrés (A. Schoster et al., 2016). Como ya hemos comentado en anteriores apartados, esta hormona juega un papel importante en el eje cerebro-intestinal, que a su vez repercute en el microbioma y en la permeabilidad intestinal la cual se ve aumentada cuando los niveles de cortisol plasmáticos se ven aumentados. También se ha observado que durante el transporte se produce un incremento del tránsito intestinal, un descenso en la proporción de materia seca en heces por lo que tienen una menor consistencia. Estos cambios en la composición del microbioma inducidos por el estrés del transporte se detectan en desplazamientos de más de horas de duración (Faubladier et al., 2018).

Se ha observado que las especies de *Streptococcus* y *Lactobacilli* proliferan en una mayor proporción durante y después de desplazamientos largos de los equinos. Este tipo de bacterias se asocian a caídas de pH en el ciego, y con asiduidad, están asociadas a un incremento de carbohidratos disponibles en esta cámara. Sin embargo, se ha comprobado que en los desplazamientos no se producen cambios en la acidez del ciego por lo que esta variación de la microbiota cecal es atribuida a una migración anormal de estas especies en los tramos intestinales más proximales como duodeno y el estómago, donde las concentraciones de estas especies son mayores (Perry et al., 2018). De forma opuesta, durante el transporte, las familias Lachnospiraceae y Ruminococcaceae disminuyen su concentración y permanecen disminuidas después del transporte, debido posiblemente al estrés acumulado o al cambio de ambiente producido tras el viaje (Perry et al., 2018).

6.5. SALUD Y ENFERMEDAD

6.5.1. COLITIS Y DIARREA

A pesar de la elevada mortalidad y mortalidad de las colitis en caballos, la etiopatogenia de esta enfermedad no ha sido estudiada en detalle. Las principales bacterias asociadas al desarrollo de la colitis en caballos adultos son *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp.* y *Neorickettsia risticii* (Costa & Weese, 2018). Mientras que en la diarrea de los potros el agente etiológico aislado con más frecuencia es el Rotavirus (Frederick et al., 2009). Como en otras especies, incluida la especie humana (Khoruts et al., 2010), en esta patología se han descrito alteraciones en el microbioma que cursa con un descenso en la diversidad de especies, este descenso favorece la disbiosis intestinal la cual favorece la proliferación de bacterias patógenas (Garber et al., 2020).

En un estudio realizado por Costa et al., (2012) donde se comparó el microbioma fecal de 6 caballos sanos con el microbioma de 10 caballos con colitis, se observaron importantes modificaciones en los filos predominantes. Los hallazgos encontrados más importantes fueron que en los caballos afectados por esta patología se producía un incremento en la proporción de los filos de Bacteroidetes y Fusobacteria. Por el contrario, la abundancia de especies del filo Bacteroidetes, en humanos se ha asociado con la salud intestinal (Eckburg et al., 2005), mientras que su disminución se ha asociado con la obesidad y la diarrea crónica (Khoruts et al., 2010). Por el contrario el filo Fusobacteria ha sido investigado en la especie humana por su implicación en el desarrollo de enfermedades gastrointestinales en humanos como la enfermedad de Crohn's y el cáncer de colon (Kostic et al., 2012).

En cuanto a la fisiopatología de la colitis, la alteración en la permeabilidad intestinal parece jugar un papel importante en el desarrollo de esta enfermedad. Dicha alteración en caballos se ve favorecida por cambios en la dieta, como en el caso de la introducción de raciones ricas en almidón, que causan una caída de pH así como el aumento en la producción de AGCC, disminuyendo la diversidad de especies. A su vez se produce una reducción de la presencia de bacterias beneficiosas como ciertas especies de la familia Lachnospiraceae principales productoras de butirato. Estos cambios producen daño en el epitelio intestinal alterando su funcionalidad al mismo tiempo que permiten la proliferación de enterobacterias patógenas (Stewart et., 2017).

A día de hoy se están realizando estudios para intentar restaurar la microbiota en caballos con colitis mediante Transferencia del Microbioma Fecal (TMF)(Marcio Carvalho Costa & Weese, 2018), que se basa en transferir la microbiota intestinal de caballos sanos a caballos con

cuadros diarreicos asociados a colitis. El fundamento de esta técnica se basa en reestablecer el microbioma de los caballos con colitis lo cual es esencial para optimizar la digestión de alimentos y estimular el desarrollo de una efectiva y fuerte respuesta inmune para contrarrestar la infección. Un microbioma sano ayuda a mantener un balance de los mediadores químicos de la respuesta inflamatoria y antiinflamatoria, además de estimular la producción de mucus lo cual ayuda a prevenir la colonización de bacterias patógenas (McKinney et al., 2020).

6.5.2. CÓLICO

El cólico es un síndrome abdominal agudo de etiología multifactorial y representa la primera causa de mortalidad en la especie equina. Actualmente existen pocos estudios que relacionan las interferencias causales que existen entre el cólico y la microbiota intestinal. En un trabajo reciente en el que se describe la relación del microbioma y la predisposición de los caballos a padecer cólicos (Salem et al., 2019) se confirma que puede deberse a la incapacidad que tiene la microbiota intestinal para adaptarse a los cambios bruscos alimentarios a los que se somete a los animales. Por otra parte, se ha descrito que ciertas bacterias como *Clostridium phytofermentans* y Bacteroidetes están aumentadas en la microbiota fecal de caballos con cólico, estas bacterias se encuentran disminuidas después del cólico (Rajagopala et al., 2017).

En un trabajo llevado a cabo por Weelse y colaboradores en 2015 se estudiaron los cambios en la microbiota intestinal en 221 yeguas en el periodo post parto. Estos autores describen que las yeguas que presentaron un síndrome cólico post parto (24/221) mostraban un cambio en la proporción de los filos predominantes antes de presentar los síntomas. El filo de las Proteobacterias se encontraba aumentado frente a los filos de los Firmicutes (especialmente las especies de las familias Lachnospiraceae y Ruminococcaceae) y Bacteroidetes. El incremento de la proporción de Proteobacterias se ha relacionado con ciertas enfermedades gastrointestinales en algunas especies (Suchodolski et al., 2012), por lo que puede proponerse como un posible marcador de alteración gastrointestinal. Así pues, la relación existente entre los ratios de los filos predominantes puede ser utilizado como marcador predictivo de la predisposición a desarrollar este síndrome y podría de alguna manera ayudar, a identificar los individuos con mayor predisposición a sufrir cólico (Weese et al., 2015).

6.5.3. LAMINITIS

La laminitis es un proceso patológico que afecta al metabolismo de las laminillas del casco. Este proceso está influenciado por varios factores como el aumento de almidón en las dietas ricas en granos de cereal como el maíz, así como fructanos en los pastos. Sin embargo,

también hay otros factores no dietéticos que pueden provocar la laminitis como la colitis, contusiones en el casco, endotoxemia, uso de glucocorticoides y la retención de placenta (Garber et al., 2020).

Se ha descrito que la alteración más importante en el microbioma cecal de caballos con laminitis inducida por carbohidratos (almidón y fructanos principalmente), es el aumento de bacterias gram positivas. Las principales bacterias Gram positivas que se encuentran aumentadas son *Lactobacillus spp.* y *Streptococcus spp.* (Milinovich et al., 2010). El rol que juegan estas bacterias en la patogenia de esta enfermedad se basa en la descarboxilación de aminoácidos en aminas vasoactivas que atraviesan fácilmente la barrera intestinal, la cual está dañada debido al cambio de pH inducido por el aumento de la fermentación de almidón a ácido láctico. Todo ello favorece su entrada en el torrente sanguíneo. A través del torrente sanguíneo llegan a las laminillas del casco desencadenando el proceso inflamatorio (Bailey et al., 2003).

6.5.4. ASMA EQUINO

El asma en caballos se caracteriza por broncoespasmos reversibles e inflamación de las vías aéreas cuando se exponen a antígenos inhalados. La exacerbación de los síntomas clínicos se da cuando los animales se exponen a los alérgenos que se encuentran en el heno y la cama. Los principales alérgenos son esporas fúngicas, ácaros y polvo (Couëtil et al., 2016). Se ha descrito el efecto de los alérgenos ambientales en la patogenia del asma aunque los factores que contribuyen al desarrollo de su forma severa está todavía por determinar. Actualmente se está estudiando el papel del microbioma intestinal en el desarrollo del asma por su potente efecto en la regulación de la respuesta alérgica (Leclere & Costa, 2020).

El microbioma intestinal resulta esencial en el desarrollo de la tolerancia antigénica. En ratones se ha observado que cuando presentan una baja diversidad de especies en su microbioma intestinal, estos son más propensos a desarrollar ciertos tipos de reacciones alérgicas y el desarrollo de una respuesta mediada por Th2, lo que conlleva respuestas inmunes frente a la microbiota comensal (Gensollen & Blumberg, 2017). En humanos también se han encontrado diferencias en la composición del microbioma fecal de individuos adultos que presentaban asma en comparación con los individuos que no tenían asma (Begley et al., 2018).

En caballos se ha estudiado como afectan las condiciones ambientales en la microbiota de las vías altas y del pulmón, así mismo, también se han observado las diferencias de la microbiota pulmonar en caballos con asma. Se ha descrito que en la microbiota de caballos con asma existe un incremento de especies del género *Streptococcus* (*S. zooepidemicus* y *S. pneumonia*)

(Bond et al., 2017).

En un estudio reciente se ha observado que el cambio de ambiente y la dieta afectan en el desarrollo del asma. Se ha observado que los caballos con asma que se encuentran en pasto, cuando pasan a ambientes cerrados y dietas basadas en forraje seco, se produce una exacerbación de la sintomatología. Esto se debe a cambios en la composición de la microbiota observándose el aumento del filo Firmicutes (Leclere & Costa, 2020).

7. CONCLUSIONES

1. Al igual que ocurre en la especie humana, los recientes estudios preliminares en esta especie muestran, que existe una estrecha relación entre las alteraciones de los diferentes microbiomas y los procesos patológicos sobresaliendo dentro de estos los de naturaleza autoinmune.
2. El desarrollo del microbioma intestinal en las etapas tempranas de la vida del potro, tiene una importante repercusión en la evolución de diferentes enfermedades de la vida adulta del caballo.
3. La diversidad y riqueza de especies que componen los diversos microbiomas descritos en la especie equina, intestinal, pulmonar, vaginal y ocular, juegan un rol importante en la salud del individuo de forma que un descenso o empobrecimiento de la diversidad del mismo propicia el desencadenamiento de patologías.
4. Factores como los cambios de dieta o manejo, uso de antibióticos y/o antihelmínticos, cambios medioambientales, estrés por transporte, etc. conforman los elementos críticos que pueden desencadenar cambios bruscos o empobrecimiento de especies en el microbioma equino.
5. Las patologías del caballo en las que hasta el momento se ha relacionado con cambios drásticos del microbioma intestinal del caballo son; el cólico, la colitis y diarrea neonatal del potro, laminitis y asma equina.
6. Las propuestas terapéuticas descritas en la bibliografía consultada se basan en la reconstrucción y enriquecimiento de la microbiota intestinal mediante transfaunación o el uso de suplementos alimenticios (prebióticos y probióticos) así como cambios alimentarios que fomenten una dieta rica en fibra.

7. CONCLUSIONS

1. As in the human species, recent preliminary studies in this species show there is a close relationship between the alterations of the different microbiomas and the pathological processes, especially those of an autoimmune nature.
2. The development of the intestinal microbiome in the early stages of the foal's life has an important impact on the evolution of different diseases in the adult life of the horse.
3. The diversity and richness of species that make up the various microbiomes described in the equine species, intestinal, pulmonary, vaginal and ocular, play an important role in the health of the individual so that a decline or impoverishment of the diversity of the same leads to the development of diseases.
4. Factors such as changes in diet or management, use of antibiotics and/or antihelmintics, environmental changes, transportation stress, etc. are the critical elements that can trigger abrupt changes or impoverishment of species in the equine microbiome.
5. The horse pathologies in which so far have been related to drastic changes in the intestinal microbiome of the horse are; colic, colitis and neonatal diarrhea of the foal, laminitis and equine asthma.
6. The therapeutic proposals described in the consulted literature are based on the reconstruction and enrichment of the intestinal microbiota through transfaunation or the use of food supplements (prebiotics and probiotics) as well as dietary changes that promote a diet rich in fiber.

8. VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este Trabajo de Fin de Grado me ha permitido ampliar mis conocimientos sobre el microbioma de la especie equina. Por otro lado he aprendido como llevar a cabo tanto la búsqueda de información científica como la redacción de un texto de carácter científico.

Agradecer a amigos, compañeros de internado y tutores por poner a mi disposición su tiempo, ayuda, consejos y paciencia para poder llevar a cabo este trabajo.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Al Jassim, R. A. M., & Andrews, F. M. (2009). The bacterial community of the horse gastrointestinal tract and its relation to fermentative acidosis, laminitis, colic, and stomach ulcers. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 25(2), 199–215.
2. AndPreoh, A., Tsujikawa, T., & Fujiyama, Y. (2003). Role of dietary fiber and short-chain fatty acids in the colon. *Current Pharmaceutical Design*, 9(4), 347–358.
3. Antwis, R. E., Lea, J. M. D., Unwin, B., & Shultz, S. (2018). Gut microbiome composition is associated with spatial structuring and social interactions in semi-feral Welsh Mountain ponies. *Microbiome*, 6(1), 207.
4. Arrieta, M.-C., Stiemsma, L. T., Amenyogbe, N., Brown, E. M., & Finlay, B. (2014). The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Frontiers in Immunology*, 5, 427.
5. Bailey, S. R., Marr, C. M., & Elliott, J. (2003). Identification and quantification of amines in the equine caecum. *Research in Veterinary Science*, 74(2), 113–118.
6. Begley, L., Madapoosi, S., Opron, K., Ndum, O., Baptist, A., Rysso, K., ... Huang, Y. J. (2018). Gut microbiota relationships to lung function and adult asthma phenotype: a pilot study. *BMJ Open Respiratory Research*, 5(1), e000324. <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2018-000324>
7. Bendtsen, K. M., Fisker, L., Hansen, A. K., Hansen, C. H. F., & Nielsen, D. S. (2015). The influence of the young microbiome on inflammatory diseases-Lessons from animal studies. *Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews*, 105(4), 278–295.
8. Bond, S. L., Timsit, E., Workentine, M., Alexander, T., & Léguillette, R. (2017). Upper and lower respiratory tract microbiota in horses: Bacterial communities associated with health and mild asthma (inflammatory airway disease) and effects of dexamethasone. *BMC Microbiology*, 17(1), 1–11.
9. Bordin, A. I., Suchodolski, J. S., Markel, M. E., Weaver, K. B., Steiner, J. M., Dowd, S. E., ... Cohen, N. D. (2013). Effects of administration of live or inactivated virulent *Rhodococcus equi* and age on the fecal microbiome of neonatal foals. *PloS One*, 8(6), e66640.
10. Bulmer, L. S., Murray, J., Burns, N. M., Garber, A., Wemelsfelder, F., Mcewan, N. R., & Hastie, P. M. (2019). High-starch diets alter equine faecal microbiota and increase behavioural reactivity. *Scientific Reports*, 1–11.
11. Clark, A., Sallé, G., Ballan, V., Reigner, F., Meynadier, A., Cortet, J., ... Mach, N. (2018). Strongyle Infection and Gut Microbiota: Profiling of Resistant and Susceptible Horses Over a Grazing Season. *Frontiers in Physiology*, 9, 272.
12. Collinet, A., Grimm, P., Julliand, S., & Julliand, V. (2019). Oral administration of antibiotics alters fecal ecosystem of adult horses in the long-term. *Journal of Equine Veterinary Science*, 76(2017), 94.
13. Costa, M. C., Silva, G., Ramos, R. V., Staempfli, H. R., Arroyo, L. G., Kim, P., & Weese, J. S. (2015). Characterization and comparison of the bacterial microbiota in different gastrointestinal tract compartments in horses. *Veterinary Journal*, 205(1), 74–80.

16. Costa, M. C., Stämpfli, H. R., Allen-Vercoe, E., & Weese, J. S. (2016). Development of the faecal microbiota in foals. *Equine Veterinary Journal*, *48*(6), 681–688.
17. Costa, Marcio C., & Weese, J. S. (2012). The equine intestinal microbiome. *Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*, *13*(1), 121–128.
18. Costa, Marcio Carvalho, & Weese, J. S. (2018). Understanding the Intestinal Microbiome in Health and Disease. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, *34*(1), 1–12.
19. Couëtil, L. L., Cardwell, J. M., Gerber, V., Lavoie, J.-P., Léguillette, R., & Richard, E. A. (2016). Inflammatory Airway Disease of Horses—Revised Consensus Statement. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *30*(2), 503–515.
20. Coverdale, J. A. (2016). HORSE SPECIES SYMPOSIUM: Can the microbiome of the horse be altered to improve digestion? *Journal of Animal Science*, *94*(6), 2275–2281.
21. Cryan, J. F., Dinan, T. G., Bernard, C., Pavlov, I., Beaumont, W., James, W., ... Charles, E. (2012). *Mind-altering microorganisms : the impact of the gut microbiota on brain and behaviour of the nineteenth century through the pioneering work*. 13.
22. Daly, K., Proudman, C. J., Duncan, S. H., Flint, H. J., Dyer, J., & Shirazi-Beechey, S. P. (2012). Alterations in microbiota and fermentation products in equine large intestine in response to dietary variation and intestinal disease. *The British Journal of Nutrition*, *107*(7), 989–995.
23. Deng, P., & Swanson, K. S. (2015). *Gut microbiota of humans , dogs and cats : current knowledge and future opportunities and challenges q British Journal of Nutrition British Journal of Nutrition*.
24. Dicks, L. M. T., Botha, M., Dicks, E., & Botes, M. (2014). The equine gastro-intestinal tract : An overview of the microbiota , disease and treatment. *Livestock Science*, *160*, 69–81.
25. Dougal, K., Harris, P. A., Edwards, A., Pachebat, J. A., Blackmore, T. M., Worgan, H. J., & Newbold, C. J. (2012). A comparison of the microbiome and the metabolome of different regions of the equine hindgut. *FEMS Microbiology Ecology*, *82*(3), 642–652.
26. Eckburg, P. B., Bik, E. M., Bernstein, C. N., Purdom, E., Dethlefsen, L., Sargent, M., ... Relman, D. A. (2005). Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science (New York, N.Y.)*, *308*(5728), 1635–1638.
27. Faubladièr, C., Veiga, L., & Julliand, V. (2018). *Effect of transportation on fecal bacterial communities and fermentative activities in horses : Impact of Saccharomyces cerevisiae CNCM I-1077 supplementation 1*. (August), 1736–1744.
28. Flint, H. J., & Bayer, E. A. (2008). Plant cell wall breakdown by anaerobic microorganisms from the Mammalian digestive tract. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1125*, 280–288.
29. Frape, D. (2007). Equine Nutrition and Feeding: Third Edition. In *Equine Nutrition and Feeding: Third Edition*.
30. Frederick, J., Giguère, S., & Sanchez, L. C. (2009). Infectious Agents Detected in the Feces of Diarrheic Foals: A Retrospective Study of 233 Cases (2003–2008). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *23*(6), 1254–1260. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0383.x>
31. Galland, L. (2014). The gut microbiome and the brain. *Journal of Medicinal Food*, *17*(12), 1261–1272.
32. Garber, A., Hastie, P., & Murray, J. A. (2020). Factors Influencing Equine Gut Microbiota: Current Knowledge. *Journal of Equine Veterinary Science*, *88*, 102943.
33. Gaulke, C. A., & Sharpton, T. J. (2018). The influence of ethnicity and geography on human gut microbiome composition. *Nature Medicine*, *24*(10), 1495–1496.
34. Gensollen, T., & Blumberg, R. S. (2017). Correlation between early-life regulation of the immune system by microbiota and allergy development. *The Journal of Allergy and*

- Clinical Immunology*, 139(4), 1084–1091.
35. Gérard, P. (2016). Gut microbiota and obesity. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 73(1), 147–162.
 36. Gibson, G. R., Hutkins, R. W., & Prescott, S. L. (2017). *The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) Consensus Statement on the Definition and Scope of Prebiotics*.
 37. Goulet, O. (2015). Potential role of the intestinal microbiota in programming health and disease. *Nutrition Reviews*, 73, 32–40. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv039>
 38. Greenbaum, S., Greenbaum, G., Mph, J. M., & Weintraub, A. Y. (2018). Expert Review Ecological dynamics of the vaginal microbiome in relation to health and disease. *The American Journal of Obstetrics & Gynecology*.
 39. Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F., & Dinan, T. G. (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Frontiers in Physiology*, 2, 94.
 40. Gutzeit, C., Magri, G., & Cerutti, A. (2014). Intestinal IgA production and its role in host-microbe interaction. *Immunological Reviews*, 260(1), 76–85.
 41. Hamza, E., Mirkovitch, J., Steinbach, F., & Marti, E. (2015). Regulatory T cells in early life: comparative study of CD4+CD25high T cells from foals and adult horses.
 42. Harlow, B E, Donley, T. M., Lawrence, L. M., & Flythe, M. D. (2015). Effect of starch source (corn, oats or wheat) and concentration on fermentation by equine faecal microbiota in vitro. *Journal of Applied Microbiology*, 119(5), 1234–1244.
 43. Harlow, Brittany E., Lawrence, L. M., & Flythe, M. D. (2013). Diarrhea-associated pathogens, lactobacilli and cellulolytic bacteria in equine feces: Responses to antibiotic challenge. *Veterinary Microbiology*, 166(1–2), 225–232.
 44. Heil, B. A., Thompson, S. K., Kearns, T. A., Davolli, G. M., King, G., & Sones, J. L. (2018). Journal of Equine Veterinary Science Metagenetic Characterization of the Resident Equine Uterine Microbiome Using Multiple Techniques. *Journal of Equine Veterinary Science*, 66, 111.
 45. Hornef, M. (2015). Pathogens, Commensal Symbionts, and Pathobionts: Discovery and Functional Effects on the Host. *ILAR Journal*, 56(2), 159–162.
 46. Jones, E. (2019). *Characterization of the equine microbiome during late gestation and the early postpartum period, and at various times during the estrous cycle in mares being bred with raw or extended semen*.
 47. Joyner, P. M., Liu, J., Zhang, Z., Merritt, J., Qi, F., & Cichewicz, R. H. (2010). Mutanobactin A from the human oral pathogen *Streptococcus mutans* is a cross-kingdom regulator of the yeast-mycelium transition. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 8(24), 5486–5489.
 48. Julliand, V., & Grimm, P. (2016). Horse species symposium: The microbiome of the horse hindgut: History and current knowledge. *Journal of Animal Science*, 94(6), 2262–2274.
 49. Khoruts, A., Dicksved, J., Jansson, J. K., & Sadowsky, M. J. (2010). Changes in the composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 44(5), 354–360.
 50. Kostic, A. D., Gevers, D., Pedamallu, C. S., Michaud, M., Duke, F., Earl, A. M., ... Meyerson, M. (2012). Genomic analysis identifies association of *Fusobacterium* with colorectal carcinoma. *Genome Research*, 22(2), 292–298.
 51. Kugadas, A., & Gadjeva, M. (2016). Impact of Microbiome on Ocular Health. *The Ocular Surface*, 14(3), 342–349. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2016.04.004>
 52. Lange, K., Buerger, M., Stallmach, A., & Bruns, T. (2016). Effects of Antibiotics on Gut Microbiota. *Digestive Diseases*, 34(3), 260–268.
 53. LeBlanc, J. G., Milani, C., de Giori, G. S., Sesma, F., van Sinderen, D., & Ventura, M. (2013). Bacteria as vitamin suppliers to their host: a gut microbiota perspective.

- Current Opinion in Biotechnology*, 24(2), 160–168.
54. Leclere, M., & Costa, M. C. (2020). Fecal microbiota in horses with asthma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(2), 996–1006.
 55. Lederberg, J. (2000). Infectious history. *Science (New York, N.Y.)*, 288(5464), 287–293.
 56. Li, J., Jia, H., Cai, X., Zhong, H., Feng, Q., Sunagawa, S., ... Wang, J. (2014). An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. *Nature Biotechnology*, 32(8), 834–841.
 57. Lindenberg, F., Krych, L., Kot, W., Fielden, J., Frøkiær, H., van Galen, G., ... Hansen, A. K. (2019). Development of the equine gut microbiota. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9.
 58. Lynch, S. V. (2016). The Lung Microbiome and Airway Disease. *Annals of the American Thoracic Society*, 13 Suppl 2(Suppl 5), S462–S465.
 59. Manzano, M., Abadía-Molina, A. C., García-Olivares, E., Gil, A., & Rueda, R. (2002). Absolute counts and distribution of lymphocyte subsets in small intestine of BALB/c mice change during weaning. *The Journal of Nutrition*, 132(9), 2757–2762. <https://doi.org/10.1093/jn/132.9.2757>
 60. Marchesi, J. R., & Ravel, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: a proposal. *Microbiome*, 3, 31.
 61. Markowiak, P., & Śliżewska, K. (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathogens*, 10, 21.
 62. Martín, R., Jiménez, E., Heilig, H., Fernández, L., Marín, M. L., Zoetendal, E. G., & Rodríguez, J. M. (2009). Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(4), 965–969.
 63. McKay, D. M. (2009). The therapeutic helminth? *Trends in Parasitology*, 25(3), 109–114.
 64. McKinney, C. A., Oliveira, B. C. M., Bedenice, D., Paradis, M.-R., Mazan, M., Sage, S., ... Widmer, G. (2020). The fecal microbiota of healthy donor horses and geriatric recipients undergoing fecal microbial transplantation for the treatment of diarrhea. *PLoS One*, 15(3), e0230148.
 65. Metcalf, J. L., Song, S. J., Morton, J. T., Weiss, S., Seguin-Orlando, A., Joly, F., ... Orlando, L. (2017). Evaluating the impact of domestication and captivity on the horse gut microbiome. *Scientific Reports*, 7(1), 15497.
 66. Milinovich, G. J., Klieve, A. V., Pollitt, C. C., & Trott, D. J. (2010). Microbial Events in the Hindgut During Carbohydrate-induced Equine Laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 26(1), 79–94.
 67. Moon, C. D., Young, W., Maclean, P. H., Cookson, A. L., & Bermingham, E. N. (2018). Metagenomic insights into the roles of Proteobacteria in the gastrointestinal microbiomes of healthy dogs and cats. *MicrobiologyOpen*, 7(5), e00677.
 68. Morvan, B., F. Rieu-Lesme, G. Fonty, and P. G. (1996). In vitro interactions between rumen H₂-producing cellulolytic microorganisms and H₂-utilizing acetogenic and sulfate-reducing bacteria. *Anaerobe* 2, 175–180.
 69. O'Hara, A. M., & Shanahan, F. (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Reports*, 7(7), 688–693.
 70. Perry, E., Cross, T.-W. L., Francis, J. M., Holscher, H. D., Clark, S. D., & Swanson, K. S. (2018). Effect of Road Transport on the Equine Cecal Microbiota. *Journal of Equine Veterinary Science*, 68, 12–20.
 71. Pessione, E. (2012). Lactic acid bacteria contribution to gut microbiota complexity: lights and shadows. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 86.
 72. Proudman, C. J., Hunter, J. O., Darby, A. C., Escalona, E. E., Batty, C., & Turner, C. (2015). Characterisation of the faecal metabolome and microbiome of Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal*, 47(5), 580–586.
 73. Quercia, S., Freccero, F., Castagnetti, C., Soverini, M., Turrone, S., Biagi, E., ... Candela,

- M. (2019). Early colonisation and temporal dynamics of the gut microbial ecosystem in Standardbred foals. *Equine Veterinary Journal*, 51(2), 231–237.
74. Rajagopala, S. V., Vashee, S., Oldfield, L. M., Suzuki, Y., Venter, J. C., Telenti, A., & Nelson, K. E. (2017). The human microbiome and cancer. *Cancer Prevention Research*, 10(4), 226–234.
 75. Respondek, F., Goachet, A. G., & Julliand, V. (2008). Effects of dietary short-chain fructooligosaccharides on the intestinal microflora of horses subjected to a sudden change in diet. *Journal of Animal Science*, 86(2), 316–323.
 76. Rhee, S. H., Pothoulakis, C., & Mayer, E. A. (2009). Principles and clinical implications of the brain-gut-enteric microbiota axis. *Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology*, 6(5), 306–314. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2009.35>
 77. Robles-Alonso, V., & Guarner, F. (2013). [Progress in the knowledge of the intestinal human microbiota]. *Nutricion hospitalaria*, 28(3), 553–557.
 78. Salcedo, J., Frese, S. A., Mills, D. A., & Barile, D. (2016). Characterization of porcine milk oligosaccharides during early lactation and their relation to the fecal microbiome. *Journal of Dairy Science*, 99(10), 7733–7743.
 79. Salem, S. E., Hough, R., Probert, C., Maddox, T. W., Antczak, P., Ketley, J. M., ... Archer, D. C. (2019). A longitudinal study of the faecal microbiome and metabolome of periparturient mares. *PeerJ*, 7, e6687.
 80. Salem, S. E., Maddox, T. W., Berg, A., Antczak, P., Ketley, J. M., Williams, N. J., & Archer, D. C. (2018). Variation in faecal microbiota in a group of horses managed at pasture over a 12-month period. *Scientific Reports*, 1–10.
 81. Sarangi, A. N., Goel, A., & Aggarwal, R. (2019). Methods for Studying Gut Microbiota: A Primer for Physicians. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 9(1), 62–73.
 82. Schoster, A., Mosing, M., Jalali, M., Staempfli, H. R., & Weese, J. S. (2016). Effects of transport, fasting and anaesthesia on the faecal microbiota of healthy adult horses. *Equine Veterinary Journal*, 48(5), 595–602.
 83. Schoster, Angelika. (2018). Probiotic Use in Equine Gastrointestinal Disease a case. *Veterinary Clinics of NA: Equine Practice*, 34(1), 13–24.
 84. Scott, E. M., Arnold, C., Dowell, S., & Suchodolski, J. S. (2019). Evaluation of the bacterial ocular surface microbiome in clinically normal horses before and after treatment with topical neomycin-polymyxin-bacitracin. *PloS One*, 14(4), e0214877.
 85. Sebastián, J. J., & Sánchez, C. (2018). *De la flora intestinal al microbioma*. 110(1), 51–56.
 86. Sender, R., Fuchs, S., & Milo, R. (2016). Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biology*, 14(8), e1002533.
 87. Simmons, T. R., Gaughan, E. M., Ducharme, N. G., Dill, S. G., King, J. M., & Anderson, W. I. (1990). Treatment of right dorsal ulcerative colitis in a horse. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 196(3), 455–458.
 88. Sponseller, B. A., de Macedo, M. M. A., Clark, S. K., Gallup, J. M., & Jones, D. E. (2009). Activation of peripheral blood monocytes results in more robust production of IL-10 in neonatal foals compared to adult horses. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127(1–2), 167–173.
 89. Stern, J., Miller, G., Li, X., & Saxena, D. (2019). Virome and bacteriome: two sides of the same coin. *Current Opinion in Virology*, 37, 37–43.
 90. Stewart, A. S., Pratt-Phillips, S., & Gonzalez, L. M. (2017). Alterations in Intestinal Permeability: The Role of the “Leaky Gut” in Health and Disease. *Journal of Equine Veterinary Science*, 52, 10–22.
 91. Suchodolski, J. S., Dowd, S. E., Wilke, V., Steiner, J. M., & Jergens, A. E. (2012). 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PloS One*, 7(6), e39333.
 92. Sudo, N., Chida, Y., Aiba, Y., Sonoda, J., Oyama, N., Yu, X.-N., ... Koga, Y. (2004).

- Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *The Journal of Physiology*, 558(Pt 1), 263–275.
93. Swiatkiewicz, S., Swiatkiewicz, M., Arczewska-Wlosek, A., & Jozefiak, D. (2016). Efficacy of feed enzymes in pig and poultry diets containing distillers dried grains with solubles: a review. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 100(1), 15–26.
 94. The Integrative Human Microbiome Project. (2019). *Nature*, 569(7758), 641–648.
 95. Torre, U. D. La, Henderson, J. D., Furtado, K. L., Pedroja, M., Elenamarie, O. M., Mora, A., ... Maga, E. A. (2019). *Utilizing the fecal microbiota to understand foal gut transitions from birth to weaning*. 1–18.
 96. Walk, C. L., Pirgozliev, V., Juntunen, K., Paloheimo, M., & Ledoux, D. R. (2018). Evaluation of novel protease enzymes on growth performance and apparent ileal digestibility of amino acids in poultry: enzyme screening. *Poultry Science*, 97(6), 2123–2138.
 97. Walshe, N., Duggan, V., Cabrera-Rubio, R., Crispie, F., Cotter, P., Feehan, O., & Mulcahy, G. (2019). Removal of adult cyathostomins alters faecal microbiota and promotes an inflammatory phenotype in horses. *International Journal for Parasitology*, 49(6), 489–500.
 98. Warzecha, C. M., Coverdale, J. A., Janecka, J. E., Leatherwood, J. L., Pinchak, W. E., Wickersham, T. A., & McCann, J. C. (2017). Influence of short-term dietary starch inclusion on the equine cecal microbiome. *Journal of Animal Science*, 95(11), 5077–5090.
 99. Weese, J. S., Holcombe, S. J., Embertson, R. M., Kurtz, K. A., Roessner, H. A., Jalali, M., & Wismer, S. E. (2015). Changes in the faecal microbiota of mares precede the development of post partum colic. *Equine Veterinary Journal*, 47(6), 641–649.
 100. Whitfield-cargile, C. M., Chamoun-emanuelli, A. M., Cohen, N. D., Richardson, M., Ajami, N. J., & Dockery, H. J. (2018). *Differential effects of selective and non-selective cyclooxygenase inhibitors on fecal microbiota in adult horses*. 1–20.
 101. Wu, G. D., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S. A., ... Lewis, J. D. (2011). Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science (New York, N.Y.)*, 334(6052), 105–108.
 102. Yeoman, C. J., & White, B. A. (2014). Gastrointestinal tract microbiota and probiotics in production animals. *Annual Review of Animal Biosciences*, 2, 469–486.