III JORNADAS DE ENFERMERÍA INTEGRATIVA
del Colegio Oficial de Enfermería de Cantabria

MICROBIOTA INTESTINAL Y SALUD

Cuidando nuestras Bacterias

6 de abril de 2018

Paraninfo del Palacio de la Magdalena
Santander

www.microbiotaenfermeriacantabria.com

COLEGIO DE ENFERMERÍA DE CANTABRIA

ENFERMERÍA INTEGRATIVA
COLEGIO DE ENFERMERÍA DE CANTABRIA

ORGANIZADORES

COLEGIO DE ENFERMERÍA DE CANTABRIA

ENFERMERÍA INTEGRATIVA
COLEGIO DE ENFERMERÍA
DE CANTABRIA

PATROCINADORES

AYUNTAMIENTO DE SANTANDER

COLABORADORES

FAES FARMA

SOLARAY®

DIETÉTICOS INTERSA

Esential'arôms
www.esentialaroms.com

Sura Vitasan
CALIDAD CIENCIA NATURALEZA

Laboratorio Cobas S.L.
innovaciones terapéuticas

SoriaNatural®

BIODAVIDA

Dorotea & Teodoro
Un momento para ti

ECOLÓGICA GRANJA LA SIERRA

La huerta de Teresa
Eco-lógica

el Colmado

Herbolario Laurel

ESTUDIO

-Heel
Healthcare designed by nature

La Ecotienda
Santander

III Jornadas de Enfermería Integrativa
del Colegio Oficial de Enfermería de Cantabria

MICROBIOTA INTESTINAL Y SALUD *Cuidando nuestras Bacterias*

COMITÉS	4
EDITORIAL	5
PONENTES	8
PROGRAMA	13
PONENCIAS	16

ISBN 978-84-09-00685-4

Comités Organizador y Científico:

Presidenta:
Dña. Rocío Cardeñoso
Presidenta del Colegio Oficial de Enfermería de Cantabria.

Comités Organizador y Científico:
D. Luis Carrera Romero
Dña. Mª Paz Castillo Pruneda
Dña. Natalia Constanzo Usán
Dña. Ana Esther Domínguez Santamaría
Dña. Belén Fernández Saiz
Dña. Paula Gómez Martínez
Dña. Raquel Menezo Viadero
Dña. Chuz Pérez Lavin

EDITORIAL

Microbiota Intestinal y Salud
"Cuidando nuestras Bacterias"

Los Comités Organizativo y Científico de las III Jornadas de Enfermería integrativa del Colegió Oficial de Enfermería de Cantabria, tenemos el placer y honor de daros la bienvenida a nuestra ciudad.

Hemos formado un equipo de trabajo que, con gran ilusión y tesón, estamos elaborando un completo programa científico con el cual esperamos cubrir vuestras expectativas y estar a la altura que os merecéis.

Bajo el lema "Microbiota Intestinal y Salud. Cuidando nuestras Bacterias" queremos que estas jornadas marquen un punto de inflexión en el conocimiento de la Microbiota Intestinal.

Deseamos que esta Jornada sea un foro de debate y actualización sobre las últimas novedades y buenas prácticas sobre este tema.

Nos gustaría contar con vuestra asistencia y participación, será un espacio de formación novedoso y relevante para todos los profesionales de la salud.
Todas las novedades que surjan las iremos poniendo a vuestra disposición en la página web de esta Jornada.

Agradeciendo de antemano vuestra participación y colaboración, estaremos encantados de recibiros en nuestra ciudad de Santander, donde esperamos haceros pasar una Jornada inolvidable.

¡Os esperamos!

Rocío Cardeñoso Herrero
Presidenta

PONENTES

Natalia Costanzo Usan
Está colegiada en Enfermería por la Universidad de Enfermería de Cantabria, es experta en Terapias Naturales por la Universidad de Barcelona. Docente del Colegio Oficial de Enfermería de Cantabria y de la Fundación de Enfermería de Cantabria, así como miembro del Comité de Enfermería Integrativa de Cantabria.

Actualmente trabaja en el Quirófano de Cirugía Cardiovascular del Hospital Marqués de Valdecilla.

Francisco Guarner
Es licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Barcelona, especialista en Enfermedades del Aparato Digestivo, Doctor en Medicina por la Universidad de Navarra. Además, ha estudiado en el Reino Unido como Research Fellow en la Liver Unit del King's College Hospital de Londres y Research Fellow en el Prostaglandin Research Dept. de Wellcome Research Laboratories.

Profesionalmente ha desarrollado su carrera como Director del Laboratorio de Investigación Experimental de Aparato Digestivo del Vall d'Hebron Institut de Recerca en Barcelona. También, es miembro del CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, del Guidelines@Publications Committe de WGO_OMGE y miembro del Steering Committe del International Human Microbiome Consortium.

Por otra parte, ha sido Co-autor de 303 publicaciones científicas en el área de enfermedad inflamatoria intestinal, inmunidad intestinal y Microbiota.

Raquel Menezo Viadero
Es Diplomada en Enfermería por la Escuela Universitaria de Enfermería Casa de Salud Valdecilla de la Universidad de Cantabria en 1994.

Tiene un Postgrado en Nutrición y Dietoterapia por la UNED, es experta en Terapias Naturales por la Universidad de Barcelona.

Ha desarrollado su experiencia laboral en el ámbito hospitalario en servicios de respiratorio y nefrología durante 18 años. Actualmente, y desde hace 5 años, en atención primaria en el centro de Salud de Cazoña, como enfermera de equipo de adultos. Asimismo, es Docente del C.O.E. de Cantabria en el ámbito de Alimentación y Nutrición saludable con visión integrativa y es miembro del Comité de Enfermería Integrativa del C.O.E de Cantabria.

Sonia Navarro del cobo
Graduada en Enfermería en 2016 por la Universidad de Cantabria.

Actualemente está cursando el primer año de la Especialidad de Enfermería Familiar y Comunitaria, en la Unidad Docente de Álava, Vitoria.

Teresa Requena

Está Licenciada y Doctorada en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid. Ha dirigido 5 tesis doctorales en los últimos 10 años.

Ha participado en numerosos comités y representaciones internacionales. Además, ha sido miembro del Comité Científico del Workshop de Probiotícos y Salud, del II International Conference on Food Digestion, el 35th International Congress of the Society for Microbial Ecology and Disease.

Actualmente, trabaja en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en el Intituto de Investigación de Ciencias de la Alimentación como Investigadora Científica.

Juan Miguel Rodríguez Gómez

Es Catedrático del Departamento de Nutrición y Ciencia de los Alimentos en la Universidad Complutense de Madrid. Es también director del grupo de investigación consolidado UCM920080 “Microbiota Perinatal”.

IP de numerosos proyectos nacionales, europeos y contratos con empresas.

Es también Co-inventor de 8 patentes PCT transferidas al sector industrial. Co-autor de aproximadamente 200 artículos de investigación y numerosos capítulos de libros. Autor y/o editor de cinco libros. Es también miembro de la Junta Directiva de la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos. Por otra parte, es colaborador de la Agencia Española de Investigación.

Juan Evaristo Suárez

Es Catedrático de Microbiología en la Facultad de Medicina de la Universidad de Oviedo.

Ha obtenido el Premio extraordinario de Licenciatura y de Doctorado en 1974 y 1978 respectivamente.

Tiene una larga experiencia investigadora con 92 artículos de investigación publicados internacionalmente, 11 en revistas nacionales, 12 revisiones, 16 capítulos de libros, 2 patentes, más de 80 conferencias invitadas en Simposios, 19 Tesis Doctorales dirigidas, 26 proyectos como investigador principal, 3 proyectos financiados por empresas y 6 sexenios de investigación.

Ha sido revisor de 16 revistas de investigación, Experto Nacional en la Dirección de Investigaciones de la Comisión Europea, evaluador de proyectos y contratos sometidos a agencias nacionales e internacionales de investigación de oposiciones de Universidad y CSIC. Es miembro de varios grupos de trabajo de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA). Es también miembro de la Real Academia de Medicina del Principado de Asturias.

PROGRAMA

PROGRAMA

Microbiota Intestinal y Salud
"Cuidando nuestras Bacterias"

09:00 - 09:15 h	Entrega documentación
09:15 – 09:30h	**INAUGURACIÓN DE LA JORNADA** Dña. Rocío Cardeñoso Herrero. *Presidenta del Colegio Oficial de Enfermería de Cantabria.*
09:30 – 10:20 h	**LA MICROBIOTA AUTÓCTONA** Juan Evaristo Suárez *Catedrático de Microbiología Universidad de Oviedo.*
10:20 – 11:10 h	**MICROBIOLOGÍA INTESTINAL Y SUS FUNCIONES. EL EJE INTESTINO-CEREBRO** Francisco Guarner *Médico Investigador del Hospital Vall D'Hebron, Barcelona. Miembro del Comité Internacional del Microbioma Humano.*
11:10 – 11:30 h	**MESA REDONDA** Juan Evaristo Suárez y Francisco Guarner Moderadoras: Natalia Costanzo Usan y María Jesús Pérez Lavín
11:30 – 12:00 h	Pausa / Café
12:00 – 12:40 h	**VISIÓN INTEGRAL DE LA DISBIOSIS** Raquel Menezo *Enfermera. Experta en Terapias Naturales por la Universidad de Barcelona.*
12:40 – 13:30 h	**TRANSMISIÓN DE MICROORGANISMOS MADRE-HIJO. IMPLICACIONES PARA LA SALUD INFANTIL** Juan Miguel Rodríguez Gómez *Catedrático Dpto. Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.*
13:30 – 13:45 h	**LA MICROBIOTA INTESTINAL. TRABAJO FIN DE GRADO DE ENFERMERÍA** Sonia Navarro del Cabo *Enfermera.*
13:45 – 14:30 h	**MESA REDONDA** Raquel Menezo - Juan Miguel Rodríguez Moderadores: Raúl Fernández Carreras y Mª Paz Castillo Prunedaín
14:30 – 16:30 h	Comida
16:30 – 17:20 h	**PROBIÓTICOS: DEL LABORATORIO AL CONSUMIDOR** Juan Miguel Rodríguez Gómez *Catedrático Dpto. Nutrición y Ciencia de los Alimentos. Universidad Complutense de Madrid.*
17:20 – 18:10 h	**PREBIÓTICOS: ASPECTOS GENERALES Y APLICACIONES** Teresa Requena *Investigadora Científica del CSIC en el Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación.*
18:10 – 18:40h	Pausa / Café
18:40 – 19:20 h	**ALIMENTOS PREBIÓTICOS Y PROBIÓTICOS. UNA VISIÓN INTEGRATIVA** Natalia Costanzo Usan *Enfermera. Experta en terapias Naturales por la Universidad de Barcelona.*
19:20 – 20:00 h	**APLICACIONES TERAPÉUTICAS PRESENTES Y FUTURAS PARA OPTIMIZAR LAS FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL** Francisco Guarner *Médico Investigador del Hospital Vall D'Hebron, Barcelona. Miembro del Comité Internacional del Microbioma Humano.*
20:00 – 20:30 h	**MESA DEBATE** Juan Miguel Rodríguez - Teresa Requena - Natalia Costanzo – Francisco Guarner Moderadoras: Rocío Cardeñoso Herrero y Ana Esther Domínguez Santamaría
20:30 – 20:45 h	Clausura Jornada

PONENCIAS

ALIMENTOS PROBIOTICOS Y PREBIÓTICOS. UNA VISIÓN INTEGRATIVA

Natalia Costanzo Usan
Experta en Terapias Naturales por la Universidad de Barcelona

INTRODUCCIÓN

No se podría entender la evolución del ser humano sin entender el proceso de la fermentación. Según la bióloga Lynn Margulis "en los primeros dos mil millones de años de vida en la Tierra, las bacterias (que eran sus únicos habitantes) transformaron continuamente la superficie y la atmosfera del planeta e inventaron todos los sistemas químicos esenciales, miniaturizados, de la vida" [1].

Estas investigaciones hechas por muchos biólogos han concluido que las relaciones simbióticas entre bacterias fermentadoras y otras formas de vida unicelulares antiguas estuvieron presentes en las primeras plantas, animales y hongos del planeta. Los seres humanos por tanto no inventaron la fermentación, si no que más bien fue ella la que nos creó a nosotros.

El término fermentación es usado para describir el metabolismo anaeróbico y la producción de energía a partir de nutrientes o, dicho de otro modo, fermentar es transformar los alimentos a través de diversas bacterias, hongos y enzimas que estos mismos producen.

Los seres humanos hemos aprovechado este poder transformador para conservar los alimentos, volverlos más digeribles, menos tóxicos, más sabrosos y para elaborar bebidas alcohólicas que están presentes en nuestra cultura desde hace miles de años.

Así mismo, en nuestro interior, albergamos en nuestro intestino millones de bacterias beneficiosas que fermentan y producen sustancias sin las cuales no podríamos vivir: vitaminas, minerales, ácidos grasos de cadena corta, aminoácidos y enzimas entre otras. Podríamos decir, que nosotros mismos somos el resultado en cierta manera del poder que tiene la fermentación.

FERMENTACIÓN Y CULTURA

Una de las primeras imágenes reales que prueba que la fermentación pudo modificar los alimentos que consumía el ser humano hace más de 12.000 años, se encuentra en la Cueva de la Araña en Bicorp, Valencia. Una delicada pintura muestra, como una mujer rodeada de abejas que vuelan a su alrededor, trepa por un árbol en busca de la miel que se aloja en un panal. Esa miel pudo de alguna manera entrar en contacto con agua de lluvia, y esto propició su fermentación y su transformación en lo que llamaron "el agua de los dioses". (Fig. 1)

Fig. 1. La recolectora de miel.

Si la miel es pura, su calidad actúa como conservante e inhibe la vida microscópica; pero si se diluye con agua acaba por convertirse en un estimulante medio en el que aterrizan las levaduras voladoras, que se dan un gran banquete y se comienzan a reproducir de forma exponencial. El resultado es una bebida burbujeante, en donde los azucares del aguamiel se convierten en alcohol y dióxido de carbono por la acción de los diversos microrganismos allí existentes.[2]

El ***aguamiel***, "hijo de la miel", bebida de los dioses ha sido una bebida universal. De hecho, puede ser considerada el antecesor de todas las bebidas fermentadas ya que para elaborar este producto no hacía falta fuego. Nos podemos imaginar la cara de sorpresa de nuestros antepasados al probar por primera vez esta bebida que encontraron en algún hueco de un árbol, seguramente continuaron bebiéndola hasta que sintieron los efectos de su alcohol y como consecuencia debieron atribuir probablemente estos efectos de la bebida a algún espíritu divino o mágico.

El antropólogo Claude Levi-Strauss explica que la producción de aguamiel pasó a formar parte de su cultura en el momento en que dejó de ser encontrada de forma fortuita y pasó a ser fabricada por estos mismos antepasados, que de forma artificial pusieron a fermentar miel en los huecos de los troncos de los árboles de forma controlada.[3]

Aprender las técnicas para fermentar y obtener alcohol, y por tanto, como consecuencia, estados de conciencia alterados debido a su consumo, es una característica determinante en la cultura humana.

Cada diferente cultura atribuyó en un principio estos procesos fermentativos a la intervención divina de los dioses, y su uso ha estado estrechamente vinculado a nuestro desarrollo como especie.

Los aguamieles, cervezas y vinos han sido considerados sagrados durante muchos miles de años en muchas culturas diferentes.

Una de las vasijas para fermentar ***cerveza*** ha sido encontrada en tan buen estado que ha sido posible extraer información sobre lo de contenía en su interior. La más antigua encontrada es de China y data de hace más de 9000 años. En este yacimiento arqueológico se encontraron unos jarrones que se usaban para contener líquidos y pudieron identificar químicamente una bebida que mezclaba miel, arroz, uvas silvestres y frutos de espino chino.

Esta cerveza ha sido recreada hoy en día, usando la misma formulación y ganó una medalla de oro en la feria de degustación de cerveza más grande del mundo, en Denver, en donde ninguno de los jueces sabía que es lo que estaba tomando.[4]

Una vez nuestros antepasados encontraron la forma de cultivar, o simplemente recolectar aquellas semillas y frutos que les rodeaban, comenzaron a mezclar ingredientes que fermentaban en tinajas de barro y a confeccionar recetas que hoy en día seguro que harían palidecer a las ya existentes.

Fig. 2. Tablilla de escritura arcaica.

Otra prueba de ello es una tablilla de escritura arcaica de Mesopotamia (3000 A.C) que contiene recetas de cerveza y sus cálculos requeridos para las diferentes elaboraciones artesanales. Fig 2.

Los egipcios, por su parte, enterraban en las pirámides grandes barriles de cerámica llenos de cerveza y vino junto a los momificados miembros de la realeza.[5]
Durante el proceso de evolución de las culturas humanas han surgido también otras formas de fermentación en paralelo a la domesticación de animales y el cultivo de las plantas. El término *cultura* deriva de la palabra latina colere, que significa cultivar, por tanto, ***cultura y cultivo*** han ido de la mano, e inevitablemente la fermentación ha sido un proceso que ha evolucionado junto a ambos.
Hoy en día, existen culturas que todavía mantienen elaboraciones tradicionales de fermentados que son la base de su forma de alimentación.
La ***chicha de yuca*** es un claro ejemplo. La yuca o mandioca es un tubérculo tropical que es usado hoy en día como alimento básico de muchas regiones ecuatoriales del mundo. Según la revista científica *International Journal of Food Science and Technology* "la fermentación es un medio importante para el procesado de la yuca ya que mejora su comestibilidad, su textura, su valor nutritivo y lo que es muy importante reduce sus glucósidos cianogénicos que son tóxicos para el ser humano".[6]
El primer paso para que esta yuca toxica se vuelva comestible es pelarla y sumergirla en agua en donde fermentará durante 3 a 5 días. Existen muchas formas diferentes de comer y fabricar la yuca dependiendo de en qué país de origen nos encontremos, muchas de ellas se han "occidentalizado" pero en algunos países su elaboración es artesanal e incluye como ingrediente principal la amilasa de las salivas de las mujeres que elaboran esta bebida, masticando este tubérculo hasta volverlo una masa pegajosa y densa.
Otro de los alimentos más curiosos que hoy en día se consume en Groenlandia es el ***Kiviac***. Es una especialidad a base de gaviotas enteras (con sus plumas, picos y patas) que se introducen dentro de la cavidad abdominal de una foca destripada, a la que se le cosen los extremos (boca y ano). Estas focas se usan de recipientes y se entierran durante meses en los cuales fermentan las aves y luego son usadas en periodos en los que escasea la comida. Huelen tan mal, que han de ser consumidas al aire libre, y por eso generalmente es ofrecido como un manjar exquisito en bodas y banquetes.
Son infinitas las culturas que usan la fermentación como medio de transformar o almacenar sus alimentos, y que aportan bacterias vivas o microrganismos a nuestro ecosistema humano. Los alemanes preparan *chucrut,* los japoneses tienen el *miso*, la *salsa de soja*, el *vino de arroz* y las *verduras* en conserva, los griegos preparan *aceitunas* y *yogurt,* los italianos *carnes curadas*, *aceitunas y vino*, los indios *chutney* y los escandinavos fermentan *pescado*, No todos estos alimentos tienen que ser necesariamente interesantes para nosotros, pero si debemos de comprender que, si la fermentación ha ido inevitablemente unida a nuestra evolución como seres humanos, quizás debamos de prestar mucha más atención a este proceso ya que puede ayudarnos a encontrar el equilibrio intestinal perdido debido a la "modernización" que inevitablemente ha sufrido nuestra cultura.

LA HOMOGENEIZACIÓN DE LA CULTURA

La fermentación natural es lo contrario a la homogeneización y la uniformidad. Durante siglos, alimentos fermentados y el ser humano han convivido de forma paralela y no ha sido hasta hace relativamente muy poco, que este rumbo cambio definitivamente debido a tres hombres y tres de sus grandes inventos.
Evidentemente todos ellos han aportado unos beneficios innegables a la humanidad y no vamos a entrar a explicar lo que es obvio, pero quizás si podemos analizar porqué es importante a veces mirar las cosas desde otra perspectiva.

Louis Pasteur (1822-1895)

Louis Pasteur fue un químico francés que estudió en profundidad los procesos de fermentación. Su primer tratado se llamó *Memoire sur la fermentación appelée lactique*, y se publicó en 1857. Sus primeros experimentos se basaron en la pasteurización del alcohol obtenido de la remolacha.7 Esto supuso una gran revolución, y hoy en día su descubrimiento perdura en las estanterías de nuestros supermercados ya que pasteurizando los alimentos estos pierden toda carga bacteriológica viva y por ello duran mucho más.
Pasteurizar implica someter un alimento a una temperatura aproximada de 80 º C durante un periodo corto de tiempo enfriándolo después rápidamente, con el fin de destruir los microorganismos sin alterar la composición y cualidades de los mismos.
Sin entrar en sus beneficios que son del todo conocidos, la otra cara de la moneda es que es muy difícil encontrar en estas mismas estanterías alimentos que no hayan sido sometidos a este proceso de pasteurización, y que por lo tanto contengan bacterias todavía vivas y beneficiosas para nuestra microbiota intestinal. Son muchos los alimentos que hace un siglo las contenían: salamis, aceitunas y encurtidos, chucrut, leche, quesos, embutidos, y que hoy en día pasteurizados se han convertido de alguna manera en alimentos muy seguros pero inertes y carentes de bacterias vivas interesantes desde el punto de vista microbiológico para el ser humano.

Carl Von Linde (1842- 1934)

Carl Von Linde fue un empresario alemán que destaco por haber inventado un aparato termointercambiador, que definitivamente transformó la forma de alimentarnos [8]. Podemos afirmar que la primera nevera salió a la venta en 1867; fue una especie de caja que gracias al licuado del aire por compresión obtenía oxígeno líquido y nitrógeno gaseoso prácticamente puro y mantenía en su interior los alimentos fríos. Esto supuso un gran cambio en el concepto de lo que hasta entonces había sido la conservación de los alimentos.
Durante miles de años, el hombre se las había ingeniado para conservar alimentos de múltiples formas: usando sal, azúcar, aceite o fermentando aquellos excedentes que obtenía dependiendo de la estación del año en la que vivía. Además, debido a que los alimentos se estropeaban fácilmente no existía prácticamente comida prefabricada o procesada al alcance de la mano. A partir de este momento, la creación de la nevera, podemos afirmar que comenzamos a delegar en la gran "industria alimentaria" que viendo la posibilidad de preservar y transportar a distancia los alimentos fabricados se animó a crear cientos de productos llenos de propiedades potencialmente saludables.
Hoy en día la superficie dedicada a los productos refrigerados en un supermercado es cada vez mayor.
Son innegables los múltiples beneficios que aporta este electrodoméstico en un hogar, pero a cambio, como reflexión, cabe decir que hemos dejado de utilizar técnicas de conservación en el propio hogar, como el fermentado y que llenamos nuestras neveras muchas veces de productos refrigerados y pasteurizados, fabricados por industrias cuya prioridad no parece que sea en absoluto velar por nuestra salud.

Alexander Fleming (1881-1955)

El principio de la *antibiosis* fue descrito en 1877 por Louis Pasteur Y Robert Koch, que observaron que un bacilo en el aire podía inhibir el crecimiento de la bacteria Bacillus Anthracis. Años más tarde fue Alexander Fleming, un médico británico, el que descubrió la penicilina, al cultivar una bacteria (staphilococcus aureus) en un medio de cultivo de agar -agar, contaminado accidentalmente por hongos.
Los ***antibióticos*** han sido una herramienta muy eficaz para combatir las infecciones y han salvado millones de vidas, pero estamos comenzando a comprender que, al no ser selectivos, afectan a otras bacterias beneficiosas no involucradas en el proceso infeccioso, y, por tanto, influyen directamente en la perdida de diversidad de la microbiota intestinal humana.
Esto a largo plazo supone disminución de bacterias beneficiosas, riesgo mayor de bacterias dañinas que pueden sobrecrecer, o disbiosis , así como una relación directa con enfermedades diversas como son : alergias, asma, enfermedades autoinmunes, enfermedades metabólicas como la obesidad y la diabetes tipo 2 consideradas las nuevas plagas del mundo moderno.
Estas bacterias perdidas, según Martin Blazer pueden marcar la diferencia en cuanto a criterios y marcadores de salud, y como reflexión, el uso de antibióticos pudiera estar pasando factura a nuestras sociedades modernas, al verse incrementadas muchas enfermedades crónicas, autoinmunes o metabólicas que tienen relación con pérdida de biodiversidad microbiológica reflejada en nuestra microbiota intestinal humana.[9]

ALIMENTOS PROBIÓTICOS

Los ***probióticos*** son microbios vivos que pueden agregarse a la fórmula de muchos diferentes productos, incluyendo alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos.

En términos estrictos y según el último Consenso de la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (2009), estas bacterias deben de ser administradas en cantidades adecuadas, conferir un beneficio a la salud del hospedador y estos supuestos beneficios deben de haber sido demostrados en humanos con metodología científica adecuada. [10]

En los últimos años han proliferado numerosos complementos dietéticos que contienen bacterias vivas con estos supuestos beneficios que se regulan bajo la categoría de "alimentos funcionales" lo cual da cabida a que muchos de estos productos no estén bien etiquetados o bien definidos; esto sugiere que inevitablemente habrá en un futuro que regular más su comercialización.

Existe sin embargo otra forma de consumir bacterias vivas y es mediante el consumo de alimentos transformados mediante el proceso de fermentación y que no hayan sido después pasteurizados. La ***fermentación*** de los diferentes alimentos ofrece perfiles de sabor característicos y reduce su PH lo que les impide ser contaminados por patógenos, y se obtienen sustancias beneficiosas como resultados de este metabolismo bacteriano.

La fermentación se usa en todo el mundo como método de conservación en diversos productos agrícolas sin procesar como son cereales, legumbres, raíces, tubérculos, frutas, verduras, leche, carne, pescado etc…[11]

Numerosos estudios avalan los potenciales beneficios que los alimentos fermentados pueden aportar a nuestra salud, y muestra de ello es la revisión sistemática que ha publicado Jyoti P.Tamang y colaboradores aportando información sobre algunas propiedades funcionales de los microorganismos asociados con alimentos y bebidas fermentadas, y sus beneficios de promoción de la salud para los consumidores.[12]

La introducción de este tipo de alimentos en nuestra dieta moderna pudiera ser de gran utilidad para incorporar a nuestros organismos más diversidad y riqueza bacteriana la cual hemos perdido por causas multifactoriales. Algunas de estas causas, como se ha mencionado al principio del capítulo, pudieran ser una excesiva limpieza (hipótesis de la higiene), la pasteurización, además del abuso de alimentos procesados, el uso de edulcorantes artificiales o la falta de alimentos ricos en fibra soluble o en omega 3 entre otros. Por supuesto otras causas relevantes serian el uso de antibióticos tanto en animales como en humanos, el aumento del número de cesáreas, la disminución de bebes alimentados con lactancia materna, etc….

Aumentar el consumo de alimentos fermentados es algo fácil de incorporar a nuestros hábitos de vida saludables, siempre y cuando sepamos cómo elaborarles en casa de forma correcta o como elegirles bien si decidimos comprarlos ya fermentados.

En la actualidad los científicos estudian el papel de "matriz alimentaria", es decir, el medio en que es ingerido un alimento que contiene bacterias vivas. Esta matriz es la que afecta a la viabilidad y a la supervivencia del organismo; ya que ciertos alimentos son más "hospitalarios" que otros, por lo que en un futuro se prevé que este tipo de alimentos crecerá en cuanto a fabricación y ventas.

Algunos alimentos fermentados, que contienen bacterias vivas, siempre y cuando no hayan sido pasteurizados después de fermentar serían los siguientes, puntualizando que no todos serían estrictamente "probióticos" según la definición consensuada por la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (SEPYP) [10].

YOGURT

Quizás en nuestra cultura el yogurt sea el alimento fermentado que más se conozca y más se consuma, aunque la cantidad de diferentes clases, sabores, marcas y tipos haga que elegir uno de calidad no sea tan fácil para cualquier consumidor.

Se define al yogurt como el producto de leche coagulada obtenido por fermentación láctica mediante la acción de ***Lactobacillus delbruecki subsp. Bulgaricus y Streptococcus thermophilus*** a partir de leche que previamente haya sufrido algún tratamiento térmico equivalente a la pasteurización.

El conjunto de los microorganismos productores de la fermentación láctica debe de ser viables y estar presentes en la parte láctea del producto terminado en cantidad mínima de 1 por 10 7 unidades formadoras de colonias por gramo o mililitro. [13]

Dentro de la clasificación de yogures existen muchas variedades, muchas de estas contienen azúcar añadida, colorantes, aditivos y edulcorantes sintéticos nada interesantes desde un punto de vista nutricional.

Es importante recalcar que a pesar de que el yogurt tiene innegables beneficios para la salud [14,15,16.] la Unión Europea ha desestimado muchas solicitudes de propiedades saludables atribuidas al mismo porque los informes científicos aportados no eran concluyentes [17]. Cabe puntualizar que la única propiedad saludable que la EFSA ha admitido sobre el yogurt y las leches fermentadas es esta: "los cultivos vivos del yogurt o de la leche fermentada mejoran la digestión de la lactosa del producto en las personas con problemas para digerir la lactosa, siempre que contengan un minimo de 10 8 UFC de los microorganismos vivos ***Lactobacillus delbruecki subsp. Bulgaricus y Streptococcus thermophilus*** por gramo".

Es sencillo elegir bien si optamos por un yogurt elaborado con leche de vaca, cabra u oveja ecológica, que sea natural y sin azúcar añadido y que podemos personalizar al gusto en casa añadiendo alguna fruta fresca, frutos secos, pequeñas semillas como chía, o trocitos de fruta deshidratada como dátiles,higos o pasas.

LECHES FERMENTADAS

Así como el yogur es una leche fermentada, no todas las leches fermentadas pueden ser consideradas yogurt. Legalmente, las leches fermentadas, incluyen para su elaboración microorganismos diferentes a los dos del yogurt, e incorporan otras bacterias probióticas, fundamentalmente de los géneros ***Lactobacillus y Bifidobacterium***. Hay que tener en cuenta que está permitido renombrar a estas bacterias con nombres inventados por la propia industria alimentaria. Un ejemplo sería lo que ocurre con la bacteria ***Bifidobacterium animalis DN173010*** que depende del país en que nos encontremos se puede llamar bifidus digestium, *bifidus regularis, bifidobacterium lactis o bifidus actiregularis*. Estos nombres inventados están registrados por la casa comercial, lo que genera confusión entre los consumidores.

Hay que destacar que han surgido en el mercado gran variedad de leches fermentadas con supuestos beneficios para la salud, sin que exista por el momento suficiente evidencia científica al respecto.[18]

En todo caso, en cuanto a estudios publicados hay que tener en cuenta que los resultados obtenidos son cepa y dosis dependientes y no aplicables a muchos de estos productos a la venta cuya viabilidad y cantidad pudiera estar cuestionada.

Al igual que ocurre con los yogures, es interesante optar por elegir una leche fermentada procedente de una ganadería ecológica y sin azúcar o edulcorantes añadidos.

KEFIR O KEPHIR

El kéfir más conocido por todos es el obtenido a partir de leche fermentada a través de un conjunto de bacterias y hongos, que transforman la lactosa, el azúcar de la leche, en ácido láctico, dióxido de carbono y alcohol (1% al 3 %) mediante una reacción lacto-alcohólica. La composición nutricional del kéfir varía de acuerdo con la composición de la leche, la composición microbiológica de los granos utilizados, el tiempo / temperatura de la fermentación y las condiciones de almacenamiento.

Los principales microorganismos que contribuyen a esta transformación son lac***tobacillus helveticus, lactobacillus casei subesp plantarum, streptococcus termophilus*** y levaduras como sacharomyces ***cervicae o sacharomyces kephir*** entre otras. Estudios recientes han demostrado que el kephir tiene una fuerte actividad antibacteriana debido probablemente a la compleja asociación de cepas probióticas que producen sustancias antimicrobianas, pudiera ejercer acción antitumoral e influye en el control de las tasas de colesterol [19,20,21.]

Existe una variedad de kéfir cuya base es agua a la que se le añade limón, un sustrato dulce (azúcar) y dátiles o higos[22]. Los microorganismos que participan en la fermentación con agua del kéfir comprenden levadura, bacterias del ácido láctico, bifidobacterias y bacterias del ácido acético. En particular, el consumo de sustrato y la producción de metabolitos en el kéfir acuático no se han estudiado hasta ahora por lo que se requieren de futuras investigaciones, aunque pudiera ser una opción para aquellas personas que no quieran consumir kéfir con base láctea.

MISO

El ***Miso*** es una especie de condimento o pasta densa que proviene de la fermentación de la soja. La soja al ser una legumbre se caracteriza por ser difícil de digerir, pero es una excelente fuente de proteínas. La fermentación predigiere las habas de la soja en presencia de sal, descomponiendo las proteínas complejas en aminoácidos que el cuerpo humano puede absorber con mayor facilidad. Además, cuando las habas de soja se fermentan con cereales, como se hace habitualmente, el producto resultante es una proteína completa que contiene todos los aminoácidos esenciales para la nutrición humana.

Los primeros fermentos de estas habas de soja surgieron hace más de 1000 años en China, cuando los monjes budistas buscaban alternativas a la dieta basada en la carne. Así, el budismo y sus productos de soja se extendieron a otras partes de Asia, incluido Japón. Ya en el año 901 el término miso, que significa fuente de sabor quedo registrado en varios documentos de la época. En la sabiduría popular japonesa, el miso siempre se ha asociado a la buena salud y a la longevidad.

Ahora estamos entendiendo porqué es un alimento extraordinario que radica básicamente en ser un alimento vivo, lleno de microorganismos beneficiosos que nutren nuestra microbiota intestinal.

Un beneficio específico para la salud que ofrece el miso es protección contra la radiación y los metales pesados. La investigación que verificó este hecho fue llevada a cabo en Japón, después de los bombardeos de Hiroshima y Nagasaki, por el DR. Shinichoro Akizuki. Se observó que las personas que consumieron sopa de miso todos los días no experimentaron efectos de la radiación, a pesar de encontrarse próximos al sitio donde había caído la bomba. Muchos estudios hechos han aportado información al respecto en los últimos años, reforzando la idea de que el miso puede ser una interesante herramienta terapéutica en caso de tener que ser sometidos a cualquier tipo de radiación tanto si ha sido de forma accidental como programada [24,25,26,27].

Otras investigaciones han demostrado que el consumo de *miso* puede reducir el riesgo de tumores en el hígado en estudios con animales y posiblemente revertir los tumores de hígado en los hombres28, e inhibir el crecimiento de los tumores de colon, pulmón, mama e hígado entre otros múltiples beneficios [29].

La elaboración del miso es un proceso lento y requiere paciencia, ya que la mayoría de las variedades fermentan durante al menos un año completo. El microorganismo que dispara la fermentación es un moho, que se llama ***Aspergillus Oryzae*** y contiene otros como son Zygosaccharomyces y ***Pediococcus Sp***.

Hay que tener en cuenta que el miso tiene sabor salado, por lo que no hará falta añadir sal al alimento que lo acompañe. Como curiosidad, a pesar de ser salado, es un excelente condimento que según estudios recientes ejerce un efecto antihipertensivo en las personas que lo consumen todos los días[30].

Dependiendo del tiempo de fermentación y del tipo de cereal que acompañe a la soja, se obtendrán varios tipos diferentes de miso con distintas propiedades y usos. Con cualquiera de ellos, es muy importante **no hervir nunca el miso**, ya que, con el exceso de temperatura, las bacterias morirían y perderíamos gran parte de sus beneficios. Una vez abierto se mantiene en nevera y tiene mucha durabilidad.

El método de usar el miso de forma correcta seria este: una vez tengamos cocinada y apartada del fuego, una sopa, unas legumbres o una crema de verduras, disolveremos en cada ración una cucharadita de las de postre en un poco de líquido del guiso y lo agregaremos al resto de la ración individual.

Otro factor indispensable a tener en cuenta, es como elegir **un buen miso.** Como otros alimentos, el miso ha caído en las redes de la industrialización, y muchos misos comerciales están pasteurizados (con lo que no existe efecto probiótico alguno), llevan aditivos como el glutamato monosódico, colorantes como el E 150 (caramelo) y azúcar para potenciar su sabor.

Por esto es importante elegir un miso de calidad, que haya sido elaborado mediante el método tradicional, preservando así todos los beneficios terapéuticos, y por supuesto que no esté pasteurizado. Algunos vienen envasados al vacío en frasco de vidrio, y otros deben de permanecer refrigerados en nevera.

Existen diferentes tipos de miso y a continuación de describen algunos de ellos:

Hatcho Miso: Este es el Miso más puro, elaborado a partir de la soja, siendo por un lado el más proteico de todos, pero a su vez el que alberga un sabor más intenso y salado. Su color es de marrón muy oscuro debido a su largo proceso de fermentación y su textura es bastante dura y difícil de diluir. Esta variedad es apta para los intolerantes al gluten.

Mugi Miso: Esta variedad tiene un color algo más claro que el anterior y un sabor más suave. Su sabor moderado y su textura más blanda lo hace apto para muchas preparaciones. Suele estar compuesto por soja y cebada, además del resto de los ingredientes básicos que son sal y el moho Aspergillus Oryzae.

Genmai Miso: Este miso conlleva una fermentación más corta que los anteriores y es bastante más claro. Se prepara a partir de la soja y arroz integral. Su sabor es delicado y su textura muy cremosa. es apta para celiacos.

Shiro Miso o Miso blanco: De tonalidad muy clara, está elaborado a base de soja y de arroz blanco. Su sabor es muy suave y casi dulce. Es el que menos propiedades terapéuticas tiene, pero es el que se usa en postres, aderezos, cremas, etc…

Como conclusión, el miso a pesar ser un condimento que no pertenece a la cultura occidental, es interesante que podamos incorporarlo e integrarlo dentro de nuestra habitual forma de comer dados sus potenciales beneficios, su versatilidad y moderado precio siempre y cuando optemos por consumir uno de calidad, fácil de encontrar en tiendas especializadas.

CHUCRUT O COL FERMENTADA

Se piensa que el chucrut llegó a Europa a través de los nómadas tártaros que lo descubrieron en China, país que cuenta con una amplia tradición en vegetales fermentados. Chucrut es el nombre español, pero su nombre original en Alemania que es donde más se consume en Europa es sauerkraut.

La fermentación del repollo, hasta que se convierte en chucrut, no es obra de un solo microorganismo, si no que requiere de una sucesión de especies de microbios distintos. Una bacteria llamada ***coliforme*** inicia la fermentación y mientras se encarga de producir ácido, el entorno se vuelve más favorable para las bacterias ***leuconostoc*** y las coliformes descienden en número para que aumente el siguiente género, los ***lactobacillus*** y el medio todavía se vuelve más ácido y su PH disminuye. Al final están presentes en el chucrut que ingerimos ya fermentado ***L.Plantarum*** y ***L.Mesenteroides*** entre otras que además muestran actividad antibacteriana contra bacterias como shigella, e.coli, cándida o salmonella, [31,32]

Durante el proceso de la fermentación, los nutrientes conocidos como glucosinolatos encontrados en la col se transforman en isotiocinatos que pueden suprimir el crecimiento tumoral y la producción excesiva de hormonas, y demostrar una protección contra el cáncer[33].

Lo mismo que ocurre con el miso, debido a los procesos de fabricación masificados y poco artesanales, el chucrut se ha convertido en un alimento carente de interés, ya que hoy en día se vende la mayoría de las veces pasteurizado, y por tanto deja de ser nutricionalmente interesante, ya que no contiene bacterias vivas.

Es muy fácil hacer en casa chucrut casero 34; tan solo nos hace falta col, un tarro de cristal bien limpio, sal y tiempo (como mínimo 3 semanas) para que la reacción acido-láctica ocurra. Este mismo proceso se puede usar con todo tipo de vegetales, que sumergidos en salmuera (agua y sal al 2-3%), durante un tiempo, se transforman en los denominados ***pickles***, que nada se parecen a los encurtidos que comemos hoy en día pasteurizados e inmersos en vinagre de baja calidad.
Como conclusión, comer vegetales en general, es beneficioso para nuestra microbiota intestinal ya que contienen fibras solubles muy fermentables por estas bacterias beneficiosas; pero consumir estos mismos vegetales ya fermentados nos aporta un beneficio extra muy interesante, son fáciles de hacer en casa, baratos y a la vez son muy versátiles como acompañamiento a cualquier plato principal o aperitivo.

CACAO

Pocas personas somos conscientes de que bacterias fermentadoras intervienen en el proceso de transformación de las semillas del cacao. Una vez recolectadas estas semillas se dejan fermentar en montones o en cubas a lo largo de aproximadamente 10 días, en donde actúan levaduras y bacterias produciendo ácido láctico y ácido acético. Una vez las semillas del cacao fermentan, se secan y están listas para ser utilizadas como materia prima para elaborar diferentes productos.
Evidentemente, cuanta menos manipulación posterior sufre este cacao puro, mejor perfil nutricional tendrá y si, además no se le somete a altas temperaturas o se tuesta, estos microorganismos fermentadores estarán de alguna forma presentes. En el momento que se calienta a altas temperaturas o su pureza disminuye mezclándolo con otros componentes como leche o azúcar, perdemos gran cantidad de sustancias que se sabe son muy saludables.
El cacao, además, es un gran ***prebiótico*** ya que predominan el almidón, los mucilagos y la celulosa como principales carbohidratos. Además de estos macronutrientes contiene una gran cantidad de minerales (potasio, calcio, fosforo, hierro, magnesio, cinc, selenio) y vitaminas (vit A ,grupo B, vit E y ácido fólico).
Es muy rico en polifenoles (leucoantocianos y catecoles) y lo que algunos autores han comprobado es que mejora la resistencia a la insulina, disminuye la lispipemia, incrementa la capacidad antioxidante y podría tener un efecto nefroprotector [35,36].
Existen en el mercado varias marcas que ofrecen cacao crudo, puro de calidad, algunas provienen de cultivos ecológicos y del Comercio Justo, y también hoy en día es fácil encontrar chocolate con un mínimo de pureza del 70 %, lo ideal es un 85%, siendo además una alternativa ideal como postre o tentempié muy saludable.
El efecto del cacao sobre el ecosistema microbiano intestinal imita el efecto de los prebióticos y los probióticos en este sistema. Se ha demostrado que el chocolate desempeña un papel en diferentes enfermedades y trastornos humanos y su función podría ser efectiva a través de modulaciones de las especies microbianas intestinales, como se demostró en estudios publicados recientemente [37,38].

VINAGRE

El término vinagre deriva de la palabra francesa *vianigre*, en la que *vin* significa vino y *aigre*, agrio. Es decir, proviene del vino que en contacto con el aire fermenta mediante bacterias del genero ***Acetobacter*** y levaduras ***Mycoderma Aceti,*** que consumen el alcohol y lo transforman en ácido acético. Existen diferentes tipos de vinagres dependiendo del tipo alcohol con el que estén elaborados: el vinagre de vino se hace con vino, el *vinagre de manzana* se hace con sidra, el *vinagre de arroz* se elabora a partir del vino de arroz y el *vinagre de malta* nace de la cerveza.
La acidez del vinagre final está directamente relacionada con el contenido en alcohol del vino a partir del cual fue preparado. Es fácil preparar vinagre casero, simplemente debemos dejar que el vino abierto fermente y el tiempo dependerá de la temperatura a la que nos encontremos (en verano tardará menos y en invierno más).
En la superficie de este vinagre "casero" se formará una especie de película o disco que se llama ***madre***. Esta es la masa de microorganismos productores de vinagre que se puede transferir a la siguiente tanda, como fermento base si se quiere producir más.
Si optamos por comprar un vinagre ya embotellado deberemos de leer su etiquetado para analizar cómo ha sido fabricado, si ha sido pasteurizado, o si le han añadido algún tipo de colorante o aditivo no interesante. En definitiva, un buen vinagre será aquel que proviene de un buen vino, no ha sido pasteurizado y no se ha filtrado, por lo que contiene aun la madre que lo ha fermentado y esta es visible al ojo humano.
Como dato interesante, muchas culturas incorporan vinagre a sus recetas tradicionales. Por ejemplo, el arroz con el que se elabora el sushi japonés lleva como ingrediente principal vinagre de arroz. Este arroz, que se consume frío, se convierte en almidón resistente a la digestión y es muy fermentable por las bacterias intestinales. Según estudios recientes, el vinagre añadido a hidratos de carbono fríos hace que su índice glucémico sea menor, por lo que es una opción interesante para personas diabéticas tipo 2 o personas que quieran controlar su peso [39,40].

QUESOS

Los quesos son formas lácteas sólidas, condensadas y para su elaboración es preciso eliminar gran parte del contenido liquido de la leche llamado suero. Dependiendo de la cantidad de suero retirada se obtendrán quesos más blandos y húmedos, o quesos más secos y duros. En general, cuanto más suero se retire, más tiempo podrá fermentar el queso (más despacio) y conservarse.
Se emplean diferentes ***cultivos microbianos***, agentes coagulantes, temperaturas de tratamiento distintas, variedad de tipos de leche, y se elaboran en diferentes épocas del año y fermentan en diversos entornos disponibles para su envejecimiento. Todos estos factores y más, contribuyen a los diferentes matices, cualidades y propiedades que ofrece cada queso.
El queso es uno de los alimentos que refleja el ingenio del ser humano, al convertir la leche perecedera en un producto que se puede conservar, consumir y vender en épocas de escasez.
La elaboración del queso, por su complejidad, tiende a conducir a la especialización y la mayoría de queseros tradicionales procuran dominar solo unas pocas variedades.
El contexto microbiano de partida para la elaboración de queso son las bacterias que se encuentran en la leche cruda; esto hace que sean superiores a los quesos elaborados con leches pasteurizadas y cultivos o inóculos estandarizados y aislados.
En este punto, cabe puntualizar que la legislación permite poco margen al uso de leches crudas y la leche previamente pasteurizada es más habitual y de uso más seguro, utilizada en la elaboración de quesos incluso artesanales. Si la leche que se usa es cruda, se debe realiza un control para corroborar que el contenido en gérmenes a 30º C es inferior a 300.000 colonias por mililitro, previamente a cualquier procesado (Real Decreto 640/2006).
Como reflexión, el verdadero peligro de la leche y el queso, no estriba tanto en sus bacterias naturales, como en las condiciones a las que se somete a la ganadería industrial, que produce animales poco sanos, pero ese es otro tema a debatir no pertinente en este artículo.
Desde el punto de vista microbiológico, a medida que la elaboración del queso se ha vuelto más centralizada, con el empleo de cultivos comerciales de bacterias y hongos, más peligra la biodiversidad de las poblaciones microbianas autóctonas que se desarrollaron de acorde al queso de cada región o país.

Los microorganismos más populares en la producción de quesos son: ***Lactobacillus casei, Lactobacillus subsp. paracasei, Lactococcus subsp. lactis y Lactococcus lactis cremoris*** y son los responsables del olor y del sabor característico de cada queso. Otros microorganismos frecuentes son el ***Penicillum roqueforti***, presente en los quesos azules o ***Penicillium camemberti*** en las variedades Camembert.

Para elegir un buen queso será necesario interesarnos por sus ingredientes principales, origen de la leche y procedencia (preferentemente ecológica), clase de leche utilizada (cruda o pasteurizada), si es de vaca, cabra u oveja o mezcla de varias, tiempo y en qué lugar se ha producido su maduración, que su corteza pueda ser comestible (que no lleve incorporadas ceras sintéticas), y que no contenga sustancias añadidas, colorantes o aditivos químicos no necesarios[41].

CERVEZA

La cerveza puede definirse como una bebida alcohólica fermentada en la que el alcohol procede principalmente de los hidratos de carbono complejos de cereales (o de tubérculos). Si bien la miel, el azúcar y los jugos frutas fermentan espontáneamente, como hemos explicado antes, en los cereales, los hidratos de carbono complejos deben de convertirse en sencillos a través de reacciones enzimáticas, como paso previo para que pueda producirse una cantidad significativa de alcohol por fermentación.

Las enzimas que tienen este efecto en la tradición cervecera occidental proceden del ***malteado*** de los cereales, también llamado *germinación o germinado*. Existen otras tradiciones asiáticas de elaboración del alcohol a partir de cereales como el arroz o el mijo, en las que colaboran enzimas procedentes de los ***mohos*** y en algunas regiones de América del sur y África, existe otra tercera forma de reacción enzimática para elaborar alcohol al disgregar los cereales (y tubérculos) como la mandioca o yuca, y es usando la ***saliva humana*** que dispara la fermentación.

La cantidad de pasos para elaborar cerveza a partir de cereal crudo es compleja; esto hace que muchas empresas cerveceras trabajen con maltas ya preparadas. Es importante comprender que la cerveza, así como el vino y la sidra, siempre están pobladas de levaduras fermentadoras, a condición de que sus ingredientes estén crudos y no se hayan cocido ni hayan sufrido un procesamiento al calor. La cerveza, casi siempre se cuece antes de fermentar; por ello los granos de la malta remojada no son una buena fuente fiable de microorganismos fermentadores [42].

Parece que está de moda volver a fabricar cervezas de forma artesana[43], en donde se presta atención a cada mínimo detalle. Son cervezas con sabor un amargo-agrio inesperado, con cuerpo, sabores diferentes en donde los microorganismos que fermentan la cerveza no son uno ni dos, sino docenas de cepas distintas que aportan características diferentes. En la cerveza tipo ***Lambic***, por ejemplo, no se añaden levaduras externas, si no que actúan levaduras salvajes presentes en el propio ambiente en donde se elabora la cerveza y su proceso de fermentación puede durar años.

Con todo, al igual que los alimentos anteriormente mencionados, la industrialización ha provocado que las cervezas que actualmente se consumen, se pasteuricen y filtren después de fermentar, por lo que mantendrían su potencial efecto prebiótico pero ninguna bacteria viva en su interior.

Consumir cerveza, vino o sidra elaborados de forma artesana, conociendo que ingredientes contienen, sabiendo la procedencia y forma en la que han sido elaborados, saboreando los diferentes matices que nos pueden aportar distintos microorganismos fermentadores, son experiencias que nos podemos permitir de vez en cuando teniendo en cuenta que deben de ser consumidos con mucha moderación y siendo conscientes del alcohol que contiene cada una de ellas.

OTROS ALIMENTOS FERMENTADOS DEL MUNDO

La fermentación ha desaparecido de nuestros hogares y los productos que consumimos en occidente están pasteurizados casi en su totalidad. Conocer el amplio repertorio de alimentos que contienen bacterias vivas en otros países y continentes, nos debe de hacer reflexionar si no tendríamos que plantearnos dejar de sentir miedo a ingerir microorganismos vivos y pasar a considerarlas como verdaderos amigos generadores de salud. Solo siendo conscientes de esto podremos reconducir nuestra salud intestinal y enriquecerla con estas bacterias que generación tras generación hemos ido perdiendo, ya que la occidentalización ha afectado muy significativamente la diversidad del microbioma humano.

Aquí una breve lista de alimentos fermentados procedentes de otras culturas distintas a la nuestra [44]:

- **Verduras fermentadas**: *kimchi* de Corea, *gundruk y sinki* del Himalaya, *kawal* en Sudan, *kaanji* de la India, *tsukemono* en Japón, *laphet* en Birmania…
- **Fermentación de bebidas tónicas agrias**: *kvass* en Rumania, *tepache y pulque* en Méjico, *mabi* en Islas del Caribe, *pru* en Cuba, *fly de boniato* en América del Sur, *noni* en Hawai, la *kombutcha* en Asia, el *shrub* Ingles, el *jun* del Tíbet….
- **Fermentación de cereales y tubérculos**: los *grits* y el *rejuvelac* de EEUU, *gachas de avena* fermentadas de Irlanda, *congee* de arroz, *poi* de Hawái, *yuca y ogi* en América del Sur y Africa, los *hoppers* de Sri Lanka….
- **Cultivos a base de Mohos**: *temphe, koji, y amazake* japonés…….
- **Fermentación de Legumbres, semillas y frutos secos**: fermentación del *cacao, café y vainilla* en países productores, *acarayé* de judías afrobrasileño, *natto* japonés, *dawadawa* africano, *iddi y dosai* de arroz y lentejas de la India….
- **Fermentación de carne, huevos y pescado**: *salamis y embutidos* en Italia, *burong isda y balao-balao* en Filipinas, *huevos* fermentados en cerveza de arroz en China, *tepa* en EEUU, *surstrommoing* en Suecia, salsas de pescado en países asiáticos….

Seria por tanto interesante, poder optar a mas alimentos fermentados 45 (vivos), pudiendo controlar de alguna forma que estos fueran seguros desde el punto de vista microbiológico para su consumo. Quizás, a partir de ahora sea posible otra forma de entender la manera de alimentarnos, que tanto ha cambiado en los últimos 100 años en los países desarrollados, y podamos volver a formas ancestrales de elaboración y conservación, que han convido con el ser humano desde su aparición en la Tierra.

ALIMENTOS PREBIÓTICOS

Según Roberfroid y col 46, los ***prebióticos*** "son ingredientes que producen una estimulación selectiva del crecimiento y/o actividades de uno o de un limitado de genero/especies de microorganismos en la microbiota intestinal, confiriendo beneficios para la salud del hospedador". Concretando un poco más sobre que sustancias presentes en los alimentos son interesantes ,complementa a la anterior definición, esta otra dada por la World Gastroentererology Organisation (WGO) 47, que añade que los prebióticos "son sustancias de la dieta (fundamentalmente ***polisacáridos no amiláceos y oligosacáridos*** no digeribles por enzimas humanas) , que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas sobre las nocivas" [48].

Parece que detrás de estas dos definiciones se encuentra una reflexión obvia: para que un alimento prebiótico surta efecto, tendrá que haber bacterias beneficiosas en algún sitio del intestino que se beneficie de ella, o, dicho de otro modo, diferentes tipos de sustratos (comida) alimentan distintos tipos de bacterias intestinales.

Uno de los más recientes estudios publicado por O´Keefe B y col 48, en el año 2015, demuestra como un cambio radical en la dieta de tan solo dos semanas puede tener un impacto inmediato en la composición y actividad metabólica de la microbiota intestinal, así como en marcadores histológicos de la mucosa del colon. Si estos cambios son visibles en tan solo dos semanas, la reflexión siguiente seria plantearnos que se podría conseguir con cambios permanentes en nuestra forma de comer a largo plazo, y los beneficios que esto supondría tanto a nivel preventivo, como si se padece cualquier enfermedad crónica ya instaurada.

La mayoría de las fibras prebióticas, interesantes para que una microbiota intestinal este sana, están presentes en los alimentos, en diferentes cantidades, como parte de sus componentes y las más importantes son:

- **Oligo- frcutosacáridos**: fibra soluble presente en c*ebollas, puerros, ajo, plátanos, achicoria, alcachofas, nabos, espárragos….*

- **Inulina**: forma parte de los FOS antes mencionados, se encuentra en *la raíz de la alcachofa, ajo, cebolla, esparrago, puerro, trigo, piña, agave….*

- **Pectina**: otra fibra que en presencia de agua forma geles y está presente en *zanahorias, frijoles, manzanas, uvas, plátanos, ciruelas, moras, albaricoques, arándanos….*

- **Mucinas o mucílagos**: fibras que se hinchan y aportan una consistencia gelatinosa, y abundan en *semillas de lino, semillas de chía, algarroba, algas, etc…*

- **Galacto-oligosacáridos**: también conocidos como GOS, se encuentran de forma natural en la *leche materna*. Una vez en el colon, son fermentados por lactobacilos y bífido-bacterias produciendo los muy beneficiosos SCFA (Ácidos Grasos de Cadena Corta).

- **Betaglucanos**: son un tipo de hidrato de carbono complejo, considerados estimuladores naturales del sistema inmunitario, moduladores de la glucosa en sangre y del colesterol y que están contenidos en muy diferentes tipos de grupos de alimentos como son: l*evadura de cerveza y cebada, setas (shitake ,maitake o reshi) o avena* entre otros.

- **Almidón resistente**: este tipo particular de almidón, no se absorbe en el intestino delgado, sino que llega al intestino grueso y allí sirve de sustrato o alimento a las bacterias intestinales beneficiosas. Se encuentra de forma natural en muchos alimentos, como los *plátanos verdes* o la avena, pero el tipo 3, es el que está contenido en los alimentos ricos en carbohidratos cuando estos se cocinan y luego se dejan enfriar durante 6 o 7 horas. Estos alimentos, consumidos de esta manera, reducen además su índice glucémico, regulando los niveles de insulina postprandiales en diabéticos del tipo 2 49,50. Estarían incluidos en este grupo *la pasta, el arroz o la patata enfriados*, y comidas que los contengan como *la periñaca, la ensalada de pasta, la ensalada alemana, el sushi, etc…*Además, con el recalentado, estos alimentos, no perderían estas propiedades como explica Lu Lw y col. en este estudio [51].

Es importante que también incluyamos al **pan** en este listado de alimentos prebioticos, ya es la base de la alimentación en nuestro país, y debemos hacer un breve análisis de cómo ha pasado a convertirse en un alimento de muy baja calidad y muy pobre nutricionalmente hablando, debido sobre todo al interés de la grande industria alimentaria por hacer dinero rápido. No hace tantos años, el pan se elaboraba con harinas completas y con levadura madre, que provocaba que las bacterias fermentadoras y el tiempo lo convirtieran en un alimento interesante y muy digestivo. Hoy en día, el pan no se fermenta y se elabora con harinas refinadas de muy baja calidad, o se les añade simplemente levaduras químicas y salvado para hacernos creer que son panes completos.

Es difícil encontrar buen pan, pero no imposible, y cada vez hay más artesanos que dedican su tiempo, ilusión y ganas a confeccionar panes de calidad, elaborados mediante fermentaciones lentas, con harinas ecológicas de espelta, centeno, maíz, avena, trigo sarraceno o arroz, y horneados incluso en hornos de leña. Es tiempo de exigir, buscar calidad y nuestra microbiota intestinal nos lo devolverá compensado.

CONCLUSIONES

La realidad es, que cuanto más se ha desarrollado un país, menos fibra soluble consumen sus habitantes, y esto repercute directamente en la salud de sus bacterias intestinales.

No debemos olvidar que la tribu Yanomami, posee el microbioma humano más amplio y diverso, conocido en la tierra 52, basa su alimentación en raíces, tubérculos como la yuca, plátanos, caza y pesca, y no tiene a su alcance ninguno de los alimentos de los que nosotros disponemos en nuestras neveras o despensas.

El primer paso que se necesita dar, en búsqueda del equilibrio bacteriano intestinal perdido es dejar de consumir ciertos productos como son: *alimentos procesados fabricados con ingredientes no interesantes, todo tipo de bebidas carbonatadas y zumos envasados, edulcorantes artificiales y los alimentos y bebidas que los contienen, carnes y embutidos procesados, snacks, galletas, bollería industrial, alcohol, etc……*

Una vez logrado esto, el segundo objetivo que nos debemos marcar es volver a cocinar o transformar nosotros mismos nuestros alimentos, que sí son indispensables y favorecedores de estados de salud como son: ***vegetales en una gran proporción, frutas en un poco de menos cantidad, legumbres, frutos secos y pequeñas semillas, cereales en su versión completa, grasas saludables interesantes como el aceite de oliva virgen extra o el aguacate y una proteína de calidad (huevos, lácteos, carne , pescado o legumbres anteriormente mencionadas)*** [53]. También es necesario volver a aumentar el consumo de muchos de estos alimentos, pero ***fermentados***, para aportar así microorganismos interesantes, que han convivido con nosotros evolutivamente hasta hace bien poco y que hemos desgraciadamente perdido.

Hace muchos años, en 1864 un joven investigador llamado Louis Pasteur, demostraría que los procesos de fermentación que han acompañado al ser humano en su evolución, se debían a la acción de microorganismos y no como se creía entonces a la generación espontánea. En una de sus célebres frases se esconde una gran verdad ***"son los microbios los que tendrán la última palabra"*** ……Y en esto estamos hoy en día, intentando recomponer un puzle de piezas complejo, en donde muchas enfermedades de origen diferente (metabólicas, que afectan al comportamiento o al sistema inmune) están relacionadas directamente con este conjunto inmenso de microorganismos que habitan en nuestro intestino: en pleno siglo XXI ha nacido un ***nuevo órgano*** indispensable para nuestra salud y vida.

REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

1. "Power to the Protocist". Lynn Margulis y Sagan.2007, 30-31.
2. "Pura Fermentación". Sandor Ellix . 2012, 39-40. Ed. Gaia.
3. "Les Alimentes Fermentés Tradicionnels" Claude Aubert. 1990. Ed Terre Vivante.
4. "Fermented Beverages of Preand Proto -Historic China". Patrick E McGovern. National Academy of Sciences. 101(51):10426 (2008).
5. "The Egiptian Book of the Dead". E.A Walls Budge. 1967,23.
6. "Traditional and Novel Fermented Foods and Beverages from Tropical Root and Tuber Crops" International Journal of Food Science and Technology. Ramesh et al.(2009).
7. "Loius Pasteur. Una vida singular, una obra excepcional, una biografía apasionante". Emilio Picazo de la garza y colaboradores. Ed. Kos.2010.
8. Carl Von Linde a Pioneer of "Deep" Refrigeration. J.H. Awbery. Nature. 2o18
9. Missing Microbes .how the overuse of antibiotics if fueling our modern plagues. Martin J.Blazer, MD.
10. Declaraciones Consenso SEPYP. "Prebióticos y Salud. Evidencia Clínica" "2009.
11. Guía Practica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y Prebióticos. WGO Practice Guideline. Oct 2011. Pag. 4. Francisco Guarner et Al.
12. "Propiedades funcionales de microorganismos en alimentos fermentados". Frontiers in Microbiology. Jyoti P. Tamang et al. 2016
13. Boletín Oficial del Estado. Num. 102.Sec. I. Pag 33155. 2014.
14."Effects of Dietary Yogurt on the Healthy Human Gastrointestinal Microbiome" Danil J. Lisko et al. Microorganism. 2017
15. "Yogurt: role in healthy and active aging". El-Abbadi NH et Al. J.Clinic Nutr. 2014.
16- "The scale of the evidence base on the health effects of conventional yogurt consumtion: findings of a scoping review". Julie M Glanville et al. Front Pharmac. 2015.
17. REGLAMENTO (UE) 2016/371 DE LA COMISIÓN de 15 de marzo de 2016 por el que se deniega la autorización de determinadas declaraciones de propiedades saludables en los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños.
18 . "Leches Fermentadas Probióticas". Teresa Requena et al. Agro CSIC. Departamento de Ciencia y Tecnología de productos Lácteos.
19. "In vitro assay of the antimicrobial activity of kephir against bacterial and fungal strains." Chifiriuc MC et al. Anaerobe. 2011
20. "Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits" Rosa DD et al. Nutri Res Rev. 2017
21."The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir"

Benjamin C.T. Bourrie, Front Microbiol. 2016
22. "Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation" David Laureys et al. Appl Environ Microbiol.2014.
23. "The Book of Miso Savory.Fermented Soy Seasoning". Shurtleff and Aoyagi. 2018.
24. "El efecto del miso en pequeño daño intestinal en ratones irradiados con rayos X" Watanabe et al. Miso Tech Sci. 1991; (en japonés).
25."Efectos radioprotectores del miso en el tracto digestivo y efecto preventivo del miso en los tumores". Watanabe H e Ito A. Daizu Geppou 1996. (en japonés).
26."Efectos radioprotectores del miso contra la radiación en ratones B6C3F1: aumento de la supervivencia de las criptas intestinales, duración de las criptas y prolongación del tiempo promedio hasta la muerte". Ohara M et al. Hiroshima J Med Sci. 2001.
27."Efectos radioprotectores del miso fermentado a largo plazo contra la irradiación en ratones B6C3F1". - Ohara M et al. Miso Tech Sci. 2002; (en japonés).
28. "Effects of Soy Products in Reducing Risk of Spontaneus And Neutron-Induced Liver Tumor in Mice" A. Ito et al. International Journal of Oncology.1993.
29."Beneficial Biological Effects of Miso with Reference to Radiation Injury, Cancer and Hypertension" Watanabe H.J Toxicol Pathol. 2013.
30."Association of lifestyle parameters with the prevention of hypertension in elderly Japanese men and women: a four-year follow-up of normotensive subjects". Kanda, A, Hoshiyama, Y., Kawaguchi, T. 1999.
31."Survival of Escherichia Coli O157:H7 in Cucumber Fermentation Brines" F.Breidt et al. Journal of food Science.2011.
32."Evaluation of probiotic properties of Lactobacillus Plantarum strains isolated from Chinase sauerkraut". Yu Z Et al. World J Microbiol Biotechnol. 2013
33."Cruciferous vegetables intake and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis of observational studies". Q.J.Wu et al. Ann Oncol. 2013.
34."Pura Fermentation" Sandor Ellix Katz. Ed Gaia.2003.
35."Modulation of metabolic syndrome-related inflammation by cocoa" Gu,Y et al. Molecular Nutrition and food research. 2013
36."Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients". Li D, Zhang Y et al. The Journal of Nutrition. 2015.
37."Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery". Possemiers S et al. Int J Food Microbiol.2010.
38."Chocolate gut microbiota and human health" Nabil Hayek. Front Pharmacol.2013
39."Vinegar improves insulin sensitivity to a high-carbohydrate meal in subjects with insulin resistance or type 2 diabetes". Johonson CS et al . Diabetes Care.2004.
40."Vinager ingestion at bedtime moderates waking glucose concentrations in adults with well-controlled type 2 diabetes". JOHONSTON CS ET AL. DIABETES CARE.2007.NOV.
41. Los mejores Quesos Artesanos del Mundo: Un recorrido por el sabor, la tradición y las regiones queseras. Patricia Michelson. Ed Blume. 2016.
42. Wild Brews: Beer Beyond the Influence of Brewer´s Yeast. Jeff Sparrow. Ed Brewers Publications .2014
43. El Mundo de la Cerveza Artesanal. Sergi Freixes. Ed Larousse. 2014
44. Inclusion of Fermented Foods in Food Guides around the World.S. N.Chilton et al. Nutrients. 2015
45. El Arte de la Fermentación. Sandor Ellix Katz. Ed Gaia 2012.
46."Prebiotics effects: metabolic and health benefits. Roberfroid M et al.Brit J Nutr.2010.
47. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología. World Gastroenterology Organisation. 2011.
48. Consenso Científico Sobre Prebióticos. (2014). SEPYP. Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos.
48."Fat, fibre and cancer risk in African Americans and rural Africans". O´Keefe SJ et al. Nat Commun.2015.
49." Resistant starch intake at breakfast affects postern dial responses in type 2 diabetics and enhances the glucose-dependent insulinotropic polypeptide-insulin relationship following a second meal". Metab. MacNell s et al.2013
50. Insulin-sensitizing effects of dietary resistant starch and effects on skeletal muscle and adipose tissue metabolism. J.Clin Nutr.. Robertson MD et al. 2005
51-Effects of cold storage and reheating of parboiled rice on postprandial glycemic response, satiety, palatability and crewed particle size distribution. Nutrients. Lu Lw et al.2017
52."The microbiome of uncontacted Ameridians" Clemente JC et al. Science Advance. 2015
53. The Healthy Plate. Universidad de Harvard.

MICROBIOTA INTESTINAL Y SUS FUNCIONES. EL EJE INTESTINO-CEREBRO

Francisco Guarner
Hospital Vall D'Hebron, Barcelona

El término microbiota se refiere a la colección de comunidades microbianas que colonizan un nicho ecológico particular, y el microbioma es el genoma colectivo de los simbiontes microbianos en un anfitrión u hospedador.

En todo el reino animal, la microbiota intestinal constituye una parte *funcional* importante del animal anfitrión. Así se demostró en experimentos con animales *germ free*, animales criados en aisladores bajo condiciones de asepsia total. Tienen necesidades nutricionales extraordinarias y son altamente susceptibles a las infecciones. El peso de los órganos (corazón, pulmón e hígado), el gasto cardíaco, el grosor de la pared intestinal, la motilidad gastrointestinal, los niveles séricos de gammaglobulinas, los ganglios linfáticos, entre otras características, están reducidos o atróficos. Los animales libres de gérmenes tienen un comportamiento impulsivo hiperactivo en comparación con sus pares con una microbiota intestinal convencional. La reconstitución con microbiota fecal de los animales libres de gérmenes restaura la mayoría de estas deficiencias, lo que sugiere que los microorganismos intestinales realizan tareas importantes y específicas para la homeostasis del anfitrión. Por otra parte, el trasplante de microbiota fecal (FMT) puede transferir fenotipos de enfermedad como la obesidad, la resistencia a la insulina, la inflamación intestinal, y la ansiedad en modelos de roedores.

En definitiva, la evidencia experimental indica que la colonización microbiana es relevante para la nutrición, el crecimiento, la inducción y la regulación de la inmunidad, la homeostasis endocrina, la maduración del sistema nervioso central, e incluso, el comportamiento. Hay mucho interés en comprender el rol de la microbiota en el eje intestino-cerebro en el individuo humano, pero hasta la fecha toda la evidencia científica se debe a modelos experimentales.

MICROBIOS DEL INTESTINO HUMANO

Como todos los animales del planeta, los seres humanos están asociados con diversas poblaciones microbianas que viven en superficies corporales y cavidades conectadas con el ambiente externo. En el humano, los microorganismos colonizan todas las superficies epiteliales, pero el tracto gastrointestinal alberga la mayor carga microbiana. El tracto gastrointestinal humano alberga alrededor de cuarenta billones de células microbianas, la mayoría de ellas pertenecientes al dominio Bacteria.

El análisis de las comunidades microbianas en muestras biológicas se realiza generalmente mediante un escrutinio "metagenómico", es decir, la detección de todo el material genético recuperado directamente de la muestra, omitiendo la necesidad de aislar y cultivar miembros individuales de la comunidad. El metagenoma es el contenido genético colectivo de los genomas combinados de los constituyentes de una comunidad ecológica. El procedimiento estándar consiste en la extracción del ADN de la muestra, seguido de la amplificación del gen del ARN ribosómico (16S rRNA) con cebadores universales y secuenciación de todas las copias del gen en la muestra. El gen 16S rRNA está presente en todas las células procariotas (Bacteria y Arquea) y permite la identificación taxonómica. Los estudios del gen 16S rRNA proporcionan información sobre la composición microbiana en una muestra dada, es decir, la diversidad y la abundancia relativa de los miembros de la comunidad.

Sólo 7 a 9 de los 55 *phyla* del dominio Bacteria se detectan en muestras fecales o mucosa del intestino humano. Alrededor del 90% de todos los taxones pertenecen a dos *phyla*: Bacteroidetes y Firmicutes. Otros *phyla* que se han encontrado consistentemente en el intestino distal humano son Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, y Verrucomicrobia. Los géneros Bacteroides, Faecalibacterium y Bifidobacterium son los más abundantes en el intestino humano, pero su proporción relativa es muy variable entre individuos. Se han encontrado muy pocas especies de Arquea (principalmente *Methanobrevibacter smithii*).

La composición bacteriana a nivel del lumen presenta una gran variación entre el ciego y el recto, mientras que la comunidad de bacterias asociadas a la mucosa es altamente estable desde el íleon terminal hasta el recto. Factores como la dieta, la ingesta de fármacos, viajes o el tiempo de tránsito colónico, tienen un impacto sobre la composición microbiana de las muestras fecales a través del tiempo en un único anfitrión. Las fluctuaciones intra-individuales en la composición de la microbiota pueden ser notables, pero el ecosistema microbiano tiende a volver a su patrón de composición típico. La mayoría de las cepas son residentes durante décadas en un individuo dado. La diversidad microbiana cambia con la edad, aumentando desde la infancia hasta la edad adulta y disminuyendo durante la vejez, particularmente en los individuos centenarios. Hay diferencias sorprendentes en la composición y diversidad entre las poblaciones occidentalizadas y no occidentalizadas. La microbiota fecal de los adultos es menos diversa en las áreas metropolitanas de América del Norte que en las poblaciones rurales no occidentalizadas de América del Sur.

DISBIOSIS Y RIESGO DE ENFERMEDAD

Patologías como la diarrea por *Clostridium difficile*, la enfermedad inflamatoria intestinal, cáncer colorectal, trastornos funcionales intestinales, obesidad, diabetes tipo 2, esteato-hepatitis no alcohólica, enfermedad hepática crónica avanzada se han asociado con cambios en la composición de la microbiota intestinal. La consistencia entre los estudios sigue siendo escasa para algunos de estos ejemplos, posiblemente debido a variabilidad metodológica. Además, estas asociaciones no indican necesariamente un papel causal de la microbiota en la patogénesis de una enfermedad, ya que podrían ser una consecuencia de la enfermedad. Se necesitan estudios de cohorte de seguimiento y, en particular, estudios de intervención destinados a restablecer la composición normal de la microbiota intestinal.

En modelos experimentales, el trasplante fecal puede transferir fenotipos patológicos como obesidad, resistencia a la insulina, inflamación intestinal, ansiedad, etc., lo que sugiere que algunos de los cambios disbióticos juegan un papel causal en esos procesos. En humanos, la diarrea recurrente por *Clostridium difficile* puede tratarse con éxito mediante el trasplante de microbiota fecal (FMT). Sin embargo, los intentos de tratar o mejorar el curso clínico de la enfermedad inflamatoria intestinal por FMT han sido en gran medida infructuosos, con respuestas de alrededor del 30%. Además, una cuarta parte de los pacientes con EII presentan un empeoramiento clínicamente significativo después de FMT.

La pérdida de riqueza en el ecosistema microbiano intestinal parece ser una característica crítica que refleja una microbiota intestinal no saludable, como se ha descrito en la mayoría, si no todas las condiciones enumeradas anteriormente. La baja diversidad se asocia con un desequilibrio entre especies pro- y antiinflamatorias, que pueden desencadenar inflamación intestinal e interrumpir la función de barrera mucosa. Los recuentos de genes microbianos pueden usarse como un biomarcador preciso de la diversidad o riqueza microbiana. Este marcador puede evaluar la presencia y abundancia de genes de taxones conocidos y desconocidos, incluyendo no sólo bacterias sino también virus y eucariotas. Curiosamente, los individuos con baja riqueza de genes microbianos en las heces (por debajo de 480.000) se caracterizan por tener una mayor adiposidad global, resistencia a la insulina, resistencia a la leptina, dislipidemia y un fenotipo inflamatorio más pronunciado en comparación con individuos con una alta riqueza genética del microbioma fecal. Además, los individuos obesos con bajos recuentos de genes ganan más peso con el tiempo y tiene propensión a comorbilidades metabólicas. La baja diversidad parece ser un factor de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico (diabetes tipo 2, dislipemia, esteatohepatitis).

Desde un punto de vista funcional, la baja diversidad está asociada con una reducción en las bacterias productoras de butirato, un aumento del potencial de degradación del moco, una reducción en la producción de hidrógeno y metano combinada con una mayor formación de sulfuro de hidrógeno. La microbiota pobre en genes, por lo tanto, parece ser menos saludable.

INVESTIGACIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA PRÁCTICA CLÍNICA

Las pruebas de aliento y el cultivo o el examen microscópico de las muestras fecales no proporcionan una visión espectral de las comunidades microbianas que habitan en el intestino humano. Estos estudios son adecuados como herramientas de diagnóstico para usos clínicos bien conocidos como la malabsorción de lactosa/xilosa/fructosa, tiempo de tránsito oro-cecal, el sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado, entero-colitis infecciosas, enfermedades parasitarias, etc., pero no reflejan adecuadamente la estructura y funciones del ecosistema microbiano del intestino humano. Estas herramientas no permiten evaluar los cambios disbióticos que se asocian con la enfermedad crónica no transmisible, como se comenta en este artículo.

En conclusión, al día de hoy no se dispone de herramientas validadas para la evaluación de rutina de la microbiota intestinal humana, en el contexto clínico.

Aunque una microbiota intestinal saludable suele estar ligada a la diversidad filogenética y funcional, se necesitan investigaciones en profundidad para determinar los biomarcadores adecuados para identificar un microbioma intestinal saludable frente a un microbiota intestinal disbiótica. Se necesitarán protocolos de investigación basados en tecnologías moleculares, metabolómicas o ambas, para un mejor conocimiento de las contribuciones de los simbiontes microbianos a la salud del anfitrión y la identificación de las desviaciones que conducen a la enfermedad.

REFERENCIAS

1. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. Lancet 2003; 361:512-9.

2. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep 2006; 7:688-93

3. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 2005; 308: 1635-8.

4. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. Nature. 2012; 489 (7415):220-30.

5. Li J, Jia H, Cai X, Zhong H, Feng Q, Sunagawa S, Arumugam M, Kultima JR, Prifti E, Nielsen T, Juncker AS, Manichanh C, Chen B, Zhang W, Levenez F, Wang J, Xu X, Xiao L, Liang S, Zhang D, Zhang Z, Chen W, Zhao H, Al-Aama JY, Edris S, Yang H, Wang J, Hansen T, Nielsen HB, Brunak S, Kristiansen K, Guarner F, Pedersen O, Doré J, Ehrlich SD, Bork P, Wang J. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome. Nat Biotechnol 2014; 32: 834-41.

6. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, Prifti E, Hildebrand F, Falony G, Almeida M, Arumugam M, Batto JM, Kennedy S, Leonard P, Li J, Burgdorf K, Grarup N, Jørgensen T, Brandslund I, Nielsen HB, Juncker AS, Bertalan M, Levenez F, Pons N, Rasmussen S, Sunagawa S, Tap J, Tims S, Zoetendal EG, Brunak S, Clément K, Doré J, Kleerebezem M, Kristiansen K, Renault P, Sicheritz-Ponten T, de Vos WM, Zucker JD, Raes J, Hansen T, Bork P, Wang J, Ehrlich SD, Pedersen O. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. Nature 2013; 500: 541-6.

7. Albenberg LG, Wu GD. Diet and the intestinal microbiome: associations, functions, and implications for health and disease. Gastroenterology 2014;146:1564-72.

8. Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2012; 9:599-608

9. Khoruts A, Rank KM, Newman KM, Viskocil K, Vaughn BP, Hamilton MJ, SadowskyMJ. Inflammatory bowel disease affects the outcome of fecal microbiota transplantation for recurrent clostridium difficile infection. Clin Gastroenterol Hepatol 2016; 14(10):1433-8.

APLICACIONES TERAPÉUTICAS PRESENTES Y FUTURAS PARA OPTIMIZAR LAS FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

Francisco Guarner
Hospital Vall D'Hebron, Barcelona

El desequilibrio de la microbiota intestinal (disbiosis) está implicado en diversas patologías gastrointestinales agudas y crónicas, incluyendo los trastornos funcionales, y en la progresión y complicaciones de las hepatopatías crónicas. Por tanto, es razonable pensar que el uso de probióticos y prebióticos pueda aportar beneficios en el tratamiento de esas entidades clínicas que se asocian a disbiosis. Este campo está evolucionando muy rápidamente, ya que los últimos años han visto proliferar las publicaciones sobre estudios básicos y ensayos clínicos con probióticos y prebióticos. Hay también mucho interés desde el ámbito empresarial en el desarrollo de productos que cubren una amplia gama de alimentos, preparados para lactantes, suplementos dietéticos y fármacos. En 2016, la Biblioteca Cochrane incluye información sobre 2.343 ensayos clínicos controlados y 210 revisiones sistemáticas, 35 de las cuales han sido elaboradas por expertos de Cochrane, de modo que contamos con numerosas fuentes bibliográficas que evalúan la utilidad de los probióticos en un amplio abanico de indicaciones. Como es habitual, estas revisiones tasan la calidad de los estudios, su heterogeneidad y el posible sesgo de no publicación de estudios negativos.

Este capítulo resume las evidencias más destacables sobre la eficacia de probióticos y prebióticos en diferentes indicaciones gastrointestinales, y en otro capítulo independiente se revisa la utilidad de los probióticos y prebióticos en hepatología. Es imposible abarcar toda la información disponible, ni mencionar todos los productos que de una forma u otra se han estudiado, por lo que remitimos al lector interesado a la guía clínica de la Organización Mundial de Gastroenterología (www.worldgastroenterology.org), que ofrece un amplio abanico de productos validados en distintas partes del mundo.

DIARREA AGUDA

La diarrea aguda es definida como un cambio brusco en la consistencia de las heces (sueltas o líquidas) con aumento en la frecuencia de las deposiciones (típicamente más de tres en 24 horas), con o sin fiebre o vómitos, dentro de un episodio clínico que no suele durar más de 7 días. Existe un gran número de ensayos clínicos aleatorizados (ECA) que estudiaron la eficacia de los probióticos en la diarrea aguda infecciosa, en diversos entornos y con diferentes resultados, pero la evidencia es concluyente y consistente en que determinados probióticos reducen la duración de la diarrea y su gravedad). La gran mayoría de los estudios se han realizado en población pediátrica.

La diarrea aguda infecciosa es la principal indicación del uso de probióticos. Las cepas que han sido más estudiadas y en las que se ha obtenido evidencia de eficacia más consistente son Saccharomyces boulardii CNCM I-745, Lactobacillus rhamnosus GG, Lactobacillus reuteri DSM 17938.

En la actualización de la revisión Cochrane se analizaron datos de 63 ECA (n=8.014), evaluando la eficacia de los probióticos para el tratamiento de diarrea infecciosa aguda en sujetos de todas las edades. Los autores de esta revisión concluyen que los probióticos, como grupo, reducen la severidad y duración de la diarrea, así como el riesgo de que la diarrea se alargue más de 4 días.

Las tres cepas mencionadas están actualmente recomendadas por la ESPGHAN/ESPID para su uso en la diarrea aguda infecciosa en niños. En la Revisión Cochrane se documentó que LGG reduce la duración de la diarrea, la frecuencia de las deposiciones en el día 2, y el riesgo de duración de la diarrea >4 días. Una actualización reciente de otro meta-análisis evaluó la eficacia de LGG en gastroenteritis aguda en niños. Se incluyeron 15 ECA, encontrando que LGG reducía la duración de la diarrea en aproximadamente 1 día. También se demostró que las dosis altas de LGG (^{3}1010 UFC/día) son más beneficiosas. S. boulardii se recomienda a dosis de 250-750 mg/día. Un meta análisis de 9 ECA evaluó la eficacia de S. boulardii en el tratamiento de la diarrea aguda. Se encontró que, en lactantes sanos y en los niños, el uso de S. boulardii reduce la duración de la diarrea en aproximadamente 1 día. La revisión más reciente confirmó que el uso de S. boulardii reduce la duración de la diarrea (24 horas), así como el tiempo de hospitalización (20 horas). El uso de L. reuteri DSM 17938 también reduce la duración de la diarrea aguda en comparación con el grupo placebo.

También se recomienda el uso de probióticos para la diarrea adquirida en el hospital. En un metaanálisis que incluyó 3 ECA, la administración de LGG comparada con placebo redujo la incidencia global de la diarrea, incluyendo la gastroenteritis por rotavirus (RR 0,37; IC95% 0,23-0,59).

DIARREA ASOCIADA A ANTIBIÓTICOS

Un metaanálisis reciente de 63 ECA encontró que se reduce significativamente el riesgo de presentar diarrea asociada a antibióticos (DAA) cuando se prescriben probióticos conjuntamente con el tratamiento antibiótico. El número necesario a tratar fue de 13. El probiótico más comúnmente evaluado ha sido S. boulardii en 15 ECAs. Una Revisión Cochrane reciente evaluó la eficacia y seguridad de probióticos en la DAA en niños, que incluyó 23 estudios, encontrando un efecto protector de los probióticos con un NNT de 10. Entre los diversos probióticos evaluados, L. rhamnosus GG o S. boulardii son considerados los más apropiados porque disponemos de más estudios. Otra de las revisiones sistemáticas en niños mostró reducción en el riesgo de DAA con LGG, S. boulardii, B. lactis o S. thermophilus.

INFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Un metaanálisis de 20 ECAs (adultos y niños) encontró que los probióticos (como clase) reducen la incidencia de infección por C. difficile secundaria a tratamiento con antibióticos. Los dos probióticos más comúnmente estudiados fueron S. boulardii (6 ECA) y L. rhamnosus (5 ECA). Es importante mencionar que los autores concluyeron que la evidencia es de moderada calidad. En la Revisión Cochrane que incluyó 23 ECAs se encontró que los probióticos son efectivos para la prevención de C. difficile, pero también con moderada calidad de la evidencia.

Infección por Helicobacter pylori

Una revisión sistemática ha evaluado la eficacia de la suplementación de antibióticos con probióticos para mejorar las tasas de erradicación de H. pylori y para la prevención de efectos secundarios de los antibióticos. Las tasas de erradicación de H. pylori fueron 83,6% y 74,8% en los pacientes con o sin probióticos, con un riego relativo de 1,84 (IC95% 1,34 a 2,54) para el uso de probióticos. La aparición de efectos secundarios totales fueron 24,7% y 38,5% para los grupos con o sin probióticos, especialmente para la diarrea, el riesgo relativo fue de 0,44 (95 IC% 0,30-0,66).

En pacientes con fallo de erradicación en tratamientos previos, dos estudios controlados encontraron que la suplementación con probióticos mejoró las tasas de éxito del tratamiento subsiguiente. Un ECA realizado en 138 pacientes con fallo a triple terapia, evaluó la eficacia de un yogur con L. acidophilus La5, B. lactis Bb12, L. bulgaricus y S. thermophilus a una concentración de 109 bacterias/ml como suplementación de cuatro semanas previa a la cuádruple terapia para H. pylori. Los resultados mostraron que el grupo de yogur más cuádruple terapia tuvo una tasa de erradicación más alta que la terapia cuádruple sin yogur (85% vs 71,1%, p<0,05). Otro estudio investigó el efecto de la suplementación de L. casei subsp casei DG en pacientes con infección persistente por H. pylori. Se aleatorizaron 66 pacientes que recibieron tratamiento con terapia cuádruple durante 10 días con o sin probiótico, y se demostró que la suplementación con el probiótico redujo los efectos secundarios relacionados con el tratamiento. La combinación de dos cepas de L. reuteri (DSM 17938 y ATCC PTA 6475) consigue una reducción significativa de los efectos secundarios de los antibióticos (dolor epigástrico y abdominal, sensación de hinchazón, y diarrea).

La eficacia de S. boulardii se ha evaluado en un metaanálisis de cinco ECA. El tratamiento concomitante con S. boulardii, junto con la terapia triple aumenta, significativamente, las tasas de erradicación y reduce los efectos adversos del tratamiento, en particular, la diarrea. No hubo diferencias significativas entre los grupos en el riesgo de otros efectos adversos.

Los probióticos son beneficiosos en la reducción de los efectos adversos de los antibióticos y aumentan la tolerabilidad de los regímenes de erradicación del H. pylori. Pueden ser especialmente útiles en los pacientes con infección por H. pylori refractaria a tratamientos previos o antecedentes de mala tolerancia gastrointestinal de los antibióticos. Dada la evidencia disponible, en la cuarta edición del consenso de Maastricht en el tratamiento de la infección por H. pylori se declaró que "ciertos probióticos muestran resultados prometedores como tratamiento coadyuvante en la reducción de los efectos secundarios''.

ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

El papel de la microbiota en la patogénesis de la enfermedad inflamatoria intestinal crónica (EII) está ampliamente reconocido. Los estudios utilizando técnicas de alto rendimiento de secuenciación y análisis de ADN han encontrado una reducción de la biodiversidad, así como una representación reducida de varias taxas bacterianas en los pacientes con EII. Se ha sugerido que los probióticos podrían tener un papel complementario en el tratamiento y la prevención de brotes de la enfermedad, tanto en pacientes con Crohn como en pacientes con colitis ulcerosa y en pacientes con reservoritis.

Enfermedad de Crohn

La mayoría de estudios de probióticos en Crohn se han realizado con Lactobacilos. Sin embargo, ni LGG ni Lactobacillus johnsonii han demostrado ser efectivos como tratamiento único de mantenimiento, tanto en adultos como en niños con Crohn. La Revisión Cochrane no encontró beneficio estadísticamente significativo para reducir el riesgo de recaída en comparación con el placebo, después de la remisión inducida quirúrgica o médicamente. Tampoco hubo un beneficio estadísticamente significativo de los probióticos para reducir el riesgo de recaída en comparación con la terapia de mantenimiento empleando aminosalicilatos o azatioprina.

La levadura S. boulardii también ha sido estudiada en pacientes con Crohn. Un ECA multicéntrico no encontró diferencias entre el uso de este probiótico vs placebo y la tasa de recaídas de la enfermedad. En otro estudio se asignó aleatoriamente tratamiento de mantenimiento durante 6 meses con mesalazina a dosis de 3 g/día o la combinación de mesalazina 2 g/día y S. boulardii a dosis de 1 g/día. Las recaídas en el grupo con el tratamiento combinado fueron significativamente menos frecuentes que en el grupo tratado con mesalazina únicamente (p=0,04).

La mayoría de estudios han incluido un número pequeño de pacientes, por lo que pueden haber carecido de poder estadístico para mostrar diferencias entre los grupos en caso de que existan. Se necesitarían ensayos con un mayor número de pacientes para determinar si los probióticos son beneficiosos en la enfermedad de Crohn.

COLITIS ULCEROSA

Tanto E. coli Nissle 1917 y VSL#3 han sido estudiados en colitis ulcerosa activa e inactiva. El probiótico E. coli Nissle 1917 fue evaluado en un ensayo aleatorizado, doble-ciego, en combinación con tratamiento médico estándar en pacientes con enfermedad activa durante la reducción de corticoesteroides. Cincuenta y nueve pacientes fueron asignados al azar al grupo que recibió mesalazina oral y 57 al grupo que recibió E. coli Nissle. Luego de la remisión los pacientes continuaron con el tratamiento asignado durante 12 meses, no encontrando diferencias entre los grupos de tratamiento en el porcentaje de pacientes que alcanzaron la remisión, el tiempo medio hasta la remisión, o el porcentaje de recaídas. La conclusión es que E. coli Nissle no es inferior a la mesalazina oral, y puede ser eficaz en mantener la remisión de la CU. Otro estudio realizado posteriormente demostró equivalencia en el uso de E. coli Nissle en comparación con mesalazina. Las puntuaciones del índice de actividad clínica, tasas de recaída y el tiempo de remisión fueron similares entre los 2 grupos. Otro tercer estudio realizado por el mismo grupo en 327 pacientes que fueron asignados de forma aleatoria para recibir E. coli Nissle (n=162) o mesalazina (n=165) tampoco observó diferencias significativas en la puntuación de calidad de vida, endoscopia e histología. Aunque en este estudio se corroboró que E. coli Nissle es comparable con mesalazina, la dosis de mantenimiento elegida fue de 1,5 g/día de mesalazina, que es inferior a la dosis de mantenimiento recomendada en la práctica clínica.

VSL#3 es un preparado de probióticos que consta de 8 cepas: Bifidobacterium breve, B. longum, B. infantis, Lactobacillus acidophilus, L. plantarum, L. paracasei, L. bulgaricus, y Streptococcus thermophilus. Tursi y cols. compararon tres grupos de pacientes con colitis ulcerosa activa, un grupo recibió balsalazida a dosis de 2,25 g/d + VSL#3 (0,9 billones bacterias/d), el segundo grupo balsalazida 4,5 g/d y el tercero mesalazina 2,4 g/día durante 8 semanas. La seguridad y eficacia del tratamiento fue evaluada clínica, endoscópica e histológicamente. El grupo que recibió terapia combinada de balsalazida y VSL#3 mostró ser superior que a los grupos de balsalazida sólo o mesalamina (p<0,02). Además, la remisión se logró más rápidamente en el grupo combinado en comparación con los pacientes en monoterapia, y en aquellos con colitis izquierda vs colitis extensa. Estos resultados fueron confirmados por Sood y cols. quienes compararon el tratamiento con VSL#3 con placebo en 147 pacientes que recibieron tratamiento concomitante con mesalazina y/o tiopurinas. En este estudio se encontraron tasas de remisión a las 12 semanas del 43% en el grupo de VSL#3 y el 16% en el grupo placebo (p <0,001). Un meta-análisis de 23 ECAs concluye que los probióticos aumentan significativamente las tasas de remisión en pacientes con colitis ulcerosa activa (p<0,0001, RR=1,80). El análisis de subgrupos mostró que sólo el probiótico VSL#3 aumentó significativamente las tasas de remisión, pero no los demás probióticos incluidos en el metaanálisis. Los estudios incluidos mostraron heterogeneidad importante.

Algunos estudios que evaluaron el uso de probióticos para tratamiento de la reservoritis. Gionchetti y cols. realizaron un estudio doble ciego que evaluó VSL#3 como tratamiento de mantenimiento en pacientes con reservoritis crónica. Este estudio incluyó a 40 pacientes que estaban en remisión clínica y endoscópica después de 1 mes de tratamiento antibiótico. Los pacientes fueron aleatorizados para recibir 6 g/día de VSL#3 (1,8 billones de bacterias/d) vs placebo durante 9 meses. El 15% del grupo VSL#3 presentó una recaída vs 100% del grupo placebo (p<0,01). El mismo grupo de investigadores evaluó el VSL#3 como tratamiento de mantenimiento de la reservoritis durante 1 año. Estos pacientes fueron sometidos a evaluación clínica, endoscópica e histológica en el mes 1, 3, 6, 9 y 12. Los autores encontraron que 10% de los pacientes que recibieron VSL#3 desarrollaron reservoritis en comparación con el 40% que fueron tratados con placebo (p<0,05). Otro estudio realizado por el mismo grupo, evaluó el VSL#3 para el tratamiento de inducción en un grupo de 23 pacientes con reservoritis activa leve. Se administró VSL#3 a dosis de 3,6 billones de bacterias/día, durante 4 semanas, y el 69% de los pacientes entraron en remisión.

Mimura y cols. realizaron un ECA con 36 pacientes con al menos 2 episodios de reservoritis/año o dependientes de antibiótico. Se realizó la inducción a la remisión con antibióticos durante 4 semanas, posteriormente los pacientes fueron aleatorizados a recibir VSL#3 (0,3 billones de bacterias/d) o placebo durante 1 año o hasta la recaída. Se mantuvo la remisión en el 85% del grupo VSL#3 en comparación con sólo 1% del grupo control (p<0,0001).

La limitación más significativa en los estudios de probióticos en reservoritis es el tamaño de las muestras, el más grande con 40 pacientes, y el más pequeño, que consta de 15 pacientes. Otra limitación es la duración de los ensayos, uno de los cuales fue de 3 meses, otros de 9 meses, y el resto de 12 meses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Allen SJ, Martínez EG, Gregorio GV, Dans LF. Probiotics for treating acute infectious diarrhoea. Cochrane Database Syst Rev. 2010; (11): CD003048.

2. Ghouri YA, Richards DM, Rahimi EF, et al. Systematic review of randomized controlled trials of probiotics, prebiotics, and synbiotics in inflammatory bowel disease. Clin Exp Gastroenterol. 2014; 7: 473-87.

3. Gionchetti P, Rizzello F, Venturi A, et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. Gastroenterology. 2000; 119: 305-9.

4. Goldenberg JZ, Lytvyn L, Steurich J, et al. Probiotics for the prevention of pediatric antibiotic-associated diarrhea. Cochrane Database Syst Rev. 2015; 12: CD004827.

5. Goldenberg JZ, Ma SS, Saxton JD, et al. Probiotics for the prevention of Clostridium

difficile-associated diarrhea in adults and children. Cochrane Database Syst Rev. 2013; 5: CD006095.
6. Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. JAMA. 2012; 307: 1959-69.
7. Hungin AP, Mulligan C, Pot B, et al. Systematic review: probiotics in the management of lower gastrointestinal symptoms in clinical practice -- an evidence-based international guide. Aliment Pharmacol Ther. 2013; 38: 864-86.
8. Johnston BC, Ma SS, Goldenberg JZ, et al. Probiotics for the prevention of Clostridium difficile-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. Ann Intern Med. 2012; 157: 878-88.
9. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut. 2004; 53: 1617-23.
10. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain CA, et al. Management of Helicobacter pylori infection--the Maastricht IV/ Florence Consensus Report. Gut. 2012; 61: 646-64.
11. Rembacken BJ, Snelling AM, Hawkey PM, et al. Non-pathogenic Escherichia coli versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. Lancet. 1999; 354: 635-9.
12. Shen J, Zuo ZX, Mao AP. Effect of probiotics on inducing remission and maintaining therapy in ulcerative colitis, Crohn's disease, and pouchitis: meta-analysis of randomized controlled trials. Inflamm Bowel Dis. 2014; 20: 21-35.
13. Sheu BS, Cheng HC, Kao AW, et al. Pretreatment with Lactobacillus- and Bifidobacterium-containing yogurt can improve the efficacy of quadruple therapy in eradicating residual Helicobacter pylori infection after failed triple therapy. Am J Clin Nutr. 2006; 83: 864-9.
14. Sood A, Midha V, Makharia GK et al. The probiotic preparation, VSL#3 induces remission in patients with mild-to-moderately active ulcerative colitis. Clin Gastroenterol Hepatol. 2009; 7: 1202-9, 1209 e1201.
15. Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, et al. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2014; 58: 531-9.
16. Szajewska H, Horvath A, Piwowarczyk A. Meta-analysis: the effects of Saccharomyces boulardii supplementation on Helicobacter pylori eradication rates and side effects during treatment. Aliment Pharmacol Ther. 2010; 32: 1069-79.
17. Szajewska H, Skorka A, Ruszczynski M, Gieruszczak-Bialek D. Meta-analysis: Lactobacillus GG for treating acute gastroenteritis in children--updated analysis of randomised controlled trials. Aliment Pharmacol Ther. 2013; 38: 467-76.
18. Szajewska H, Urbanska M, Chmielewska A, et al. Meta-analysis: Lactobacillus reuteri strain DSM 17938 (and the original strain ATCC 55730) for treating acute gastroenteritis in children. Benef Microbes. 2014; 5: 285-93.
19. Tong JL, Ran ZH, Shen J, et al. Meta-analysis: the effect of supplementation with probiotics on eradication rates and adverse events during Helicobacter pylori eradication therapy. Aliment Pharmacol Ther. 2007; 25: 155-68.

VISIÓN INTEGRATIVA DE LA DISBIOSIS

Raquel Menezo
Experta en Terapias Naturales por la Universidad de Barcelona

RESUMEN

La disbiosis es el desequilibrio de la microbiota normal, esta comúnmente relacionada al intestino grueso y llamada disbiosis intestinal.
El conocimiento de la microbiota intestinal y su función ha cobrado gran importancia en la última década por la relación de la disbiosis con la aparición de distintas enfermedades.
Las enfermeras deben abordar la disbiosis desde una visión integral, a través de una valoración con metodología enfermera.

Palabras clave: *Proceso de enfermería, atención integral de salud y disbiosis.*

INTRODUCCIÓN

En este capítulo se pretende abordar desde una visión holística de la persona, a través de una valoración con metodología enfermera, un desequilibrio multifactorial y multicausal con una amplísima repercusión en todo el organismo como es la disbiosis.
El conocimiento de la microbiota intestinal y su función ha cobrado gran importancia en la última década. En nuestro intestino habitan alrededor de 100 billones de microorganismos, con un peso aproximado de dos kilos. La microbiota es considerada "el segundo cerebro" y un "nuevo órgano", por las conexiones que existen entre "ambos órganos" (Eje Intestino –Cerebro).
Debido a la repercusión tan importante en salud que tiene la disbiosis, se hace necesaria la formación para conocer la fisiopatología. Las enfermeras deben abordar la disbiosis desde una visión integral como lo hacen con otras alteraciones en los pacientes.

A modo de introducción, se definen las palabras que componen el título:
Visión: Acción, efecto y facultad de ver. Manera particular y personal de interpretar algo.
Integral: Que comprende todos los aspectos o todas las partes necesarios para estar completo.
Enfermería: Es la ciencia del cuidado de la salud del ser humano. Se encarga del estudio de las respuestas reales o potenciales de la persona, familia o comunidad tanto sana como enferma en los aspectos biológico, psicológico, social y espiritual. Es una profesión de titulación universitaria que se dedica al cuidado integral del individuo, la familia y la comunidad en todas las etapas del ciclo vital y en sus procesos de desarrollo.
Disbiosis: Es el desequilibrio microbiano de la microbiota normal, debido a cambios cuantitativos o cualitativos de su composición, cambios en su funcionamiento o actividades metabólicas, o bien, a cambios en su distribución.
La disbiosis es más comúnmente relacionada al tracto digestivo, concretamente al intestino, llamada disbiosis intestinal, aunque también se refiere a otras superficies expuestas a microorganismos como la piel y mucosas.

¿Por qué aparece la disbiosis intestinal?

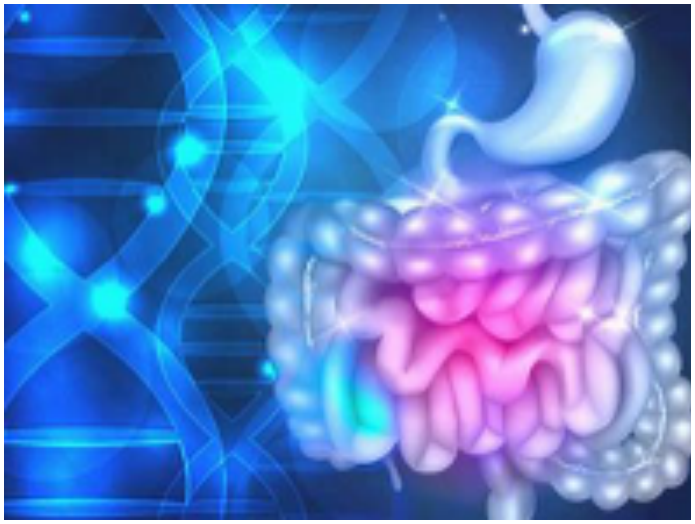
Los desequilibrios en la microbiota intestinal son muy comunes ya que las causas también son muy frecuentes:

- Estrés.
- Alimentación inadecuada pobre en vegetales y frutas (ricos en fibra), ingesta de azúcares y carbohidratos refinados, proteínas de origen animal o grasas (refinadas, trans y saturadas).
- Edulcorantes artificiales y aditivos.
- El cloro presente en el agua del grifo.
- Envejecimiento.
- Gastroenteritis.
- Radioterapia y quimioterapia.
- Ciertos medicamentos como antibióticos y otros (antipsicóticos, antidepresivos, narcóticos, inhibidores de la bomba de protones, corticoides, hormonas sintéticas, AINEs).
- Alcohol, tabaco y drogas.
- Productos tóxicos que nos rodean (químicos de pinturas, cosmética, tintes, plásticos,...)

¿Cómo se manifiesta la disbiosis intestinal?

Puede estar relacionada con síntomas o enfermedades muy comunes como:

- Flatulencia.
- Diarrea o estreñimiento o alternancia de ambas.
- Malestar intestinal.
- Hinchazón abdominal.
- Mala digestión (lengua blanca).
- Intolerancias alimentarias.
- Infecciones de repetición: Respiratorias, urinarias, candidiasis,... (baja inmunidad).
- Problemas de piel: Eccemas, psoriasis, irritación, dermatitis atópica, rosácea...
- Cefalea.
- Alergias.
- Enfermedades inflamatorias: Enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes, obesidad, cáncer, fibromialgia, asma...
- Enfermedades autoinmunes: Artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, lupus...
- Enfermedades del sistema nervioso: Epilepsia, alzhéimer, párkinson, depresión, autismo, pérdida de memoria, esclerosis múltiple...



PROCESO ENFERMERO COMO PARTE DE LA METODOLOGÍA ENFERMERA

El Marco Conceptual enfermero se basa o se apoya en las Teorías y Modelos del cuidado, que centran el interés en el cuidado, la persona, la salud y el entorno. Para fundamentar teóricamente la intervención enfermera se utiliza el método científico, a través del "*Proceso enfermero*".

Por tanto, las enfermeras, al igual que otros profesionales de la salud, utilizan la metodología científica para realizar aquellas funciones que les son propias, se necesita organizar el trabajo de manera sistemática y esta estructuración se efectúa mediante una herramienta muy útil que es el Proceso Enfermero. Consta de cinco etapas: Valoración, diagnóstico, planificación, ejecución y evaluación.

La valoración es la primera fase de este proceso, y la base de las demás. En este trabajo nos vamos a centrar en la primera etapa de **VALORACIÓN**, como herramienta para hacer una visión integral de la disbiosis.

La visión de enfermería es global y esto nos hace diferentes. El ser humano es biopsicosocial y de esta manera hemos de abordarle.

Valoración de enfermería

En la actualidad, el puesto de trabajo que desempeño es en Atención Primaria (AP), como enfermera de equipo. El cuidado, dirigido al individuo, la familia y la comunidad, es el principal elemento que define el papel de la enfermería de Atención Primaria. La implantación progresiva del Proceso de Enfermería como herramienta fundamental para la gestión de los cuidados, con la estandarización y sistematización de los mismos y la utilización de un lenguaje normalizado, han contribuido al gran avance que ha experimentado la práctica enfermera en los últimos años.

El mapa sanitario de Cantabria está dividido en cuatro Áreas de Salud, con atención primaria y especializada. En el año 2001 se incorporó en el programa informático de AP (OMI-AP) el Plan de Cuidados Enfermeros como proceso de desarrollo de la metodología enfermera para la potenciación y mejora de la calidad de los cuidados enfermeros. Este proceso se ha basado en la informatización de los cuidados y la utilización de los patrones funcionales de valoración de Marjory Gordon y las taxonomías NANDA, NOC y NIC.

La valoración por Patrones Funcionales de Marjory Gordon aporta una serie de ventajas al proceso: los patrones pueden ser utilizados independientemente del modelo enfermero del que se parta; se adaptan bien al ámbito de la atención primaria de salud, permitiendo estructurar y ordenar la valoración, tanto a nivel individual como familiar o comunitario, a lo largo del ciclo vital de la persona, en situaciones de salud o enfermedad; y facilitan la siguiente fase de diagnóstico enfermero al estar en el origen de la clasificación por dominios de la NANDA.

La valoración se define como un proceso planificado, sistemático, continuo y deliberado de recogida e interpretación de información, que permite determinar la situación de salud, y la respuesta que las personas dan a ésta.

La valoración enfermera es útil en la planificación de cuidados a la persona, a la familia y/o a la comunidad, y no solamente en situación de enfermedad.

Existen diversos tipos de valoración dependiendo del modelo enfermero. En la comunidad de Cantabria, en el ámbito hospitalario, donde he ejercido la mayor parte de mi actividad laboral, se utiliza la valoración por necesidades de Virginia Henderson y en AP se ha optado, como he comentado, por el modelo de los Patrones Funcionales de Marjory Gordon y por el Programa informático OMI-AP como soporte de registro de la Historia Informática.

Marjory Gordon define los patrones como una configuración de comportamientos mas ó menos comunes a todas las personas, que contribuyen a su salud, calidad de vida y al logro de su potencial humano; que se dan de una manera secuencial a lo largo del tiempo y proporcionan un marco para la valoración con independencia de la edad, el nivel de cuidados ó la patología.

De la valoración de los patrones funcionales se obtiene una importante cantidad de datos relevantes de la persona (físicos, psíquicos, sociales, del entorno), de una manera ordenada, lo que facilita a su vez el análisis de los mismos. La valoración se realiza mediante la recogida de datos subjetivos, objetivos, la revisión de la historia clínica ó informes de otros profesionales. Se deben evitar las connotaciones morales (bueno-malo), hacer presunciones, interpretar subjetivamente o cometer errores a la hora de emitir un resultado de patrón.

Los 11 patrones son una división artificial y estructurada del funcionamiento humano integrado, no deben ser entendidos de forma aislada; la interrelación que se da entre ellos es lógica, las personas somos un TODO sin compartimentar, todo influye en todo (el entorno, la cultura, el nivel social, los valores, las creencias....). Algunos patrones comparten información y ciertos datos pueden estar presentes en más de un patrón, no siendo necesario registrarlos de forma repetida.

Los patrones que son funcionales y eficaces describen un nivel óptimo de funcionamiento, implican salud y bienestar.

Los patrones disfuncionales o potencialmente disfuncionales, es decir alterados o en riesgo de alteración, describen situaciones que no responden a las normas o a la salud esperadas de una persona, se definen como problemas de salud, limitan la autonomía del individuo, la familia y/o la comunidad.

Emitir un juicio clínico sobre si un patrón es eficaz, está alterado o en riesgo de alteración, puede resultar dificultoso, pero es necesario completar la valoración con el "Resultado" del patrón para que en la historia informática éste quede registrado como valorado.

El hecho de establecer un sistema unificado de valoración y un lenguaje enfermero estandarizado es fundamental para avanzar en un proceso asistencial de calidad. La gran variabilidad en la práctica clínica a la hora de realizar las valoraciones de los patrones puede conducir a problemas de calidad en los cuidados enfermeros y de credibilidad en los registros.

La valoración nos conduce a establecer el resultado de un patrón como eficaz, alterado o en riesgo, con el objetivo de facilitar la toma de decisiones.

Como se ha comentado, los 11 patrones no deben ser entendidos de forma aislada, se interrelacionan, las personas somos un TODO sin compartimentar pero en lo que concierne a la "Visión integral de la disbiosis" me voy a detener en la valoración de 4 patrones funcionales:

- Patrón 2: Nutricional-Metabólico.
- Patrón 3: Eliminación.
- Patrón 6: Cognitivo-Perceptivo.
- Patrón 10: Adaptación-Tolerancia al estrés.

Si se siguiera el Modelo de Virginia Henderson y se hiciera la valoración según las 14 necesidades, como ocurre en el ámbito hospitalario de la Comunidad de Cantabria, las necesidades equivalentes a los patrones seleccionados para la valoración de la disbiosis, serían:

- Necesidad 2: Comer y beber adecuadamente.
- Necesidad 3: Eliminar los residuos corporales.
- Necesidad 8: Mantener la higiene corporal y la integridad de la piel.
- Necesidad 10: Comunicar con los demás expresando emociones, necesidades, temores u opiniones.

VALORACIÓN DE LA DISBIOSIS POR PATRONES: MARJORY GORDON

¿QUÉ VALORA CADA PATRÓN, COMO SE VALORA, COMO ESTABLECER EL RESULTADO DEL PATRÓN?

PATRÓN 2: NUTRICIONAL- METABÓLICO

Qué valora:

- Describe el consumo de alimentos y líquidos en relación con sus necesidades metabólicas.
- Horarios y lugar de comidas.
- Preferencias y suplementos.
- Problemas en la ingesta.
- Altura y peso.
- Condiciones de piel, mucosas y membranas.

Cómo se valora:

Valoración del IMC.

Valoración de la alimentación:

- Recoge el nº de comidas, el horario, el lugar, dietas específicas o restrictivas, así como los líquidos tomados en el día.
- Se deben hacer preguntas sobre el tipo de alimentos que toma por grupos en veces/semana: Pan/cereales, pasta/arroz, fruta, verdura, carne, pescados, huevos, legumbres, lácteos,...

Valoración de problemas en la boca:

- Si tiene alteraciones bucales (caries, úlceras, inflamación de encías, halitosis, etc.)

Valoración de problemas para comer:

- Dificultades para masticar, tragar, alimentación por sonda ya sea alimentación enteral o con purés caseros.

Valoración de otros problemas que influyen en el patrón:

- Problemas digestivos (náuseas, vómitos, pirosis, hinchazón o malestar abdominal).
- Dependencia.
- Inapetencias.
- Intolerancias alimenticias.
- Alergias.
- Suplementos alimenticios y vitaminas.

Valoración de la piel:

- Alteraciones de la piel: fragilidad de uñas y pelo, falta de hidratación, prurito, edemas, lesiones, temperatura, cicatrización, coloración.
- Lesiones cutáneas: eccema, dermatitis, abcesos, lipomas, nevus, verrugas, patología de las uñas.

Comentarios:

Especificar datos importantes sobre la calidad de los alimentos:

- Azúcares naturales o refinados y calcular cantidad aproximada (la OMS recomienda no superar 25 gr de azúcar /día en niños y 30 gr en adultos).
- Cereales integrales o refinados.
- Carne procesada o no.
- Pescado salvaje, de piscifactoría, blanco o azul…
- Consumo de productos procesados e industriales.
- Ingesta de fibra.

Resultado del patrón:

El patrón estará alterado si:

Con respecto al IMC: Patrón alterado superior al 30% o inferior a 18,5%

- Patrón en riesgo: entre 25 y 30.
- Patrón eficaz: entre 18,6 y 24,9.

Tiene una nutrición desequilibrada (no hay presencia correcta de macro y micronutrientes, se sustituyen los alimentos naturales por procesados siendo más importantes estos últimos, presencia de azúcares y carbohidratos refinados, grasas no saludables…).

Los líquidos consumidos son escasos.

Existen problemas en la boca.

Hay dificultades para masticar y/o tragar. Necesita sonda de alimentación.

Existen lesiones cutáneas o en mucosas, alteraciones de la piel o falta de integridad tisular o cutánea

Presencia de problemas digestivos, dependencias, inapetencias, intolerancias alimenticias, alergias.

Aclaraciones:

Se considera que una persona tiene que ingerir entre 8-10 vasos de líquidos al día: agua mineral o del grifo, té, café o infusiones. No recomendable bebidas azucaradas o refrescos.

Información que no condiciona el resultado del patrón:

- Los ítems relativos a: Lugar de comidas, número, horario, tipo de dieta, nos dan información pero por si solos no condicionan el patrón.
- Estado nutricional normal o anormal se valorará teniendo en cuenta el IMC y/o juicio de la enfermera en base a observación.

Los "problemas dieta" nos dan información, pero no todos condicionan el resultado del patrón:

- Patrón alterado: "dieta no equilibrada"
- Patrón en riesgo: "dieta insuficiente" y "comer entre horas" dependerá de las características del individuo.
- Información que no condiciona el resultado del patrón: "consumo escaso de lácteos" dependerá de la etapa evolutiva de la persona o de la opción de no consumirlos; "cena abundante" nos da información pero por sí mismo no nos conduce a una alteración del patrón.

Otros problemas:

- Patrón alterado: digestivos, inapetencia, intolerancia o dependencia.
- Patrón en riesgo: "comer sin hambre" es un indicador de riesgo de alteración si el IMC es adecuado y "sedentarismo" se valorará en el patrón de actividad-ejercicio.

Nutrición equilibrada se refiere a nutrientes, no a grupos de alimentos, puede darse el caso de personas que no tomen proteínas animales pero las tomen vegetales, como es el caso de los vegetarianos, personas que no tomen carne, lácteos…

El test de Norton inferior a 14 nos indica un riesgo de desarrollar úlceras por presión, y por tanto, nos informa de un patrón en riesgo de alteración.

PATRÓN 3: ELIMINACIÓN

Qué valora:

Describe las funciones excretoras intestinal, urinaria y de la piel.

Cómo se valora:

Intestinal:

Regularidad (deposiciones/semana), consistencia, color, dolor al defecar, flatulencia, fecalomas, fisuras, hemorroides, sangre en heces, disconfort o distensión abdominal.

Uso de laxantes, supositorios, enemas, presencia de ostomias, urgencia o incontinencia.

Para clasificar la forma y el tipo de heces podemos utilizar la "Escala de heces de Bristol".

Urinaria:
Micciones/día, características de la orina, problemas de micción (incontinencia, disuria, escozor, retención, globo, nicturia, poliuria, polaquiuria, oliguria), sistemas de ayuda (absorbentes, colectores, sondas, urostomías).

Cutánea:
Problemas cutáneos: Sudoración, olor corporal, drenajes, heridas y lesiones.

Comentarios:
Reflejar datos que ayuden a la valoración y no estén incluidos como:
- Si hay horario fijo para defecar.
- Si se evitan las ganas y hay represión en la eliminación intestinal y/o urinaria.
- Especificar problemas de piel: Eccemas, psoriasis, irritación, dermatitis atópica, rosácea...

Resultado del patrón:
El patrón está alterado si:
- Intestinal: existe estreñimiento, incontinencia, diarrea, flatulencia, o la persona precisa sistemas de ayuda (laxantes, enemas, ostomias).
- Urinario: si presenta incontinencias, retención, disuria, nicturia, poliuria, polaquiuria o utiliza sistemas de ayuda (absorbentes, colector, sondas o urostomías).
- Si sudación excesiva.

Aclaraciones:
En el estreñimiento se deben cumplir al menos dos de los siguiente requisitos:
- Emisión de heces con una frecuencia inferior a 3 veces por semana.
- Que las deposiciones sean especialmente duras (como bolitas).
- Que la expulsión requiera fuerza.
- Que solo se logre evacuar con ayuda (laxantes).
- Que la persona no se sienta totalmente vacía al salir del baño.

El dolor durante la defecación, fisuras, hemorroides suponen riesgo de alteración del patrón.
Los drenajes y las heridas muy exudativas conducen a un riesgo de alteración del patrón.
La distensión y el dolor abdominal no alteran por si solos el patrón si no están relacionados con la eliminación intestinal ya que pueden ser debidos a otros motivos.

PATRÓN 6: COGNITIVO-PERCEPTIVO

Qué valora:
- Patrones sensorio- perceptuales y cognitivos.
- Nivel de conciencia.
- Conciencia de la realidad.
- Adecuación de los órganos de los sentidos.
- Compensación o prótesis.
- Percepción del dolor y tratamiento.
- Lenguaje.
- Ayudas para la comunicación.
- Memoria.
- Juicio, comprensión de ideas.
- Toma de decisiones

Cómo se valora:
- Nivel de consciencia y orientación.
- Nivel de instrucción: si puede leer y escribir.
- El idioma.
- Si tiene alteraciones cognitivas, como problemas para expresar ideas o de memoria, dificultades para la toma de decisiones, problemas de lenguaje, de concentración, síntomas depresivos, problemas de comprensión, fobias o miedos o dificultades en el aprendizaje.
- Si tiene alteraciones perceptivas por problemas de visión, de audición, de olfato de gusto o sensibilidad táctil.
- Recoge información sobre si la persona tiene dolor, tipo, localización, intensidad y si está o no controlado, así como su repercusión en las actividades que realiza.
- Si tiene alteraciones de la conducta, irritabilidad, intranquilidad o agitación.

Resultado del patrón:
El patrón está alterado si:
- La persona no está consciente u orientada.
- Presenta deficiencias en cualquiera de los sentidos, especialmente vista y oído.
- Hay dificultades de comprensión por idioma o por analfabetismo.
- Presencia de dolor.
- Existen problemas de memoria, de concentración, de expresión o comprensión de ideas.
- Hay depresión.
- Existen fobias o miedos injustificados.
- Se dan conductas de irritabilidad, agitación o intranquilidad.

Comentarios:
Especificar cualquier dato importante que no recoja la valoración:
- Anotar resultado de escalas (por ejemplo: escala EVA para valoración del dolor).
- Tipo de miedos.
- Motivos de decaimiento, depresión, apatía, etc.

Aclaraciones:
Se aconseja utilizar los diferentes test o escalas validadas ya que tienen un valor añadido en la determinación de si el patrón está o no alterado.
Se debe realizar otoscopia.
Idioma: procurar intermediación para lenguas extranjeras y prestar atención a las variedades dialectales de la lengua castellana en función de regiones y/o países de procedencia.
La presencia de vértigo puede conllevar una alteración del equilibrio, no afecta el resultado de este patrón pero puede condicionar el de actividad-ejercicio.

PATRÓN 10: ADAPTACIÓN TOLERANCIA AL ESTRÉS

Qué valora:
- Las formas o estrategias de afrontamiento general de la persona.
- Las respuestas habituales que manifiesta el individuo en situaciones que le estresan y forma de controlar el estrés.
- La capacidad de adaptación a los cambios.
- El soporte individual y familiar con que cuenta el individuo.
- La percepción de habilidades para controlar o dirigir situaciones estresantes.

Como se valora:
La enfermera instará al paciente a recordar situaciones estresantes, describir como se ha tratado, desencadenantes y evaluar la efectividad de la forma en la que se ha adaptado a esas situaciones.

Preguntará por:
- Cambios importantes en los dos últimos años, si ha tenido alguna crisis.
- Si está tenso o relajado la mayor parte del tiempo. Qué le ayuda cuando está tenso.
- Si utiliza medicinas, drogas o alcohol cuando está tenso.
- Cuando ha tenido cualquier problema en su vida, como lo ha tratado. Si esta forma de tratarlo ha tenido éxito.
- Si tiene alguien cercano al que poder contar sus problemas con confianza y si lo hace cuando es necesario.

Resultado del patrón:
El patrón está alterado si:
- La persona manifiesta tener sensación habitual de estrés y no dispone de herramientas para controlarlo.
- Ante cambios o situaciones difíciles de la vida el individuo no es capaz de afrontarlo de forma efectiva.
- Si recurre al uso de medicamentos, drogas o alcohol para superar los problemas.

Aclaraciones:
Información que no condiciona el resultado del patrón:

El hecho de haya habido cambios importantes no es suficiente para decir que el patrón está alterado, lo importante es como la persona se ha adaptado a ellos o los ha superado; en ese sentido las preguntas de OMI del patrón: "Cambios", "tipo", "influencia" son orientativas. Lo importante no es lo que ocurre, si no como lo percibe la persona.

El ítem "desencadenantes conocidos del estrés", aporta información.

Patrón Alterado:

- La respuesta afirmativa a cualquiera de los siguientes ítems: Emociones inapropiadas, negación problemas, soluciones inadecuadas, minimizar los síntomas, incapaz afrontar situación, preocupación excesiva o prolongada.
- La sensación actual de estrés, es significativa de patrón alterado.
- La respuesta positiva a la pregunta si está normalmente tenso y a si tiene problemas en la resolución son definitorios del resultado de alteración del patrón.

Estrategias de adaptación al estrés:

Patrón eficaz: si la persona tiene estrategias de adaptación al estrés.

Por el contrario, la respuesta negativa no determina la alteración, habría que indagar más en el resto de aspectos que se valoran en el patrón.

En cuanto a las ayudas para superar el estrés: la respuesta de uso de medicamentos/drogas nos confirmaría un patrón alterado; la respuesta negativa al uso de técnicas de relajación no es confirmatoria.

CONCLUSIONES

El conocimiento de la microbiota intestinal y su función ha cobrado gran importancia en la última década por la relación que su desequilibrio, llamado disbiosis, tiene con la aparición de muy diversos síntomas y enfermedades.

La microbiota está siendo considerada un nuevo órgano y como tal, tenemos que formarnos y conocer su fisiopatología para poder abordarlo y tratarlo.

La disbiosis es multifactorial y multicausal, el estrés, una alimentación inadecuada, tóxicos, determinados fármacos, diarreas, el envejecimiento, etc. entre otros, son causa de disbiosis.

Las enfermeras deben abordar la disbiosis desde una visión integral, a través de una valoración con metodología enfermera.

Según lo expuesto, se hace necesario incorporar la disbiosis como un elemento clave de valoración, estando el patrón o la necesidad alterada en caso de manifestarse.

"Para mí la Enfermería es como una semilla plantada en una tierra muy árida, que, mediante la nutrición, el amor y la atención constante, crece en forma de árbol robusto como promesa de un gran crecimiento futuro. Nos hemos sentado en la sombra de sus ramas, contentos, olvidando que aún es un árbol joven que requiere supervisión y nutrición constantes".

Avery L. M.

BIBLIOGRAFÍA

1. Álvarez Suarez JL, Del Castillo Arévalo F y otros. Manual de valoración de patrones funcionales. Comisión de Cuidados, Gerencia AP, Principado de Asturias. Junio 2010.
2. Gómez M, Acero F. Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. RepertMed Cir. 2011; 20(2):74-82.
3. Gordon M. Diagnóstico Enfermero. Proceso y aplicación. 3º Edición. Ed. Mosby-Doyma. Madrid 1996.
4. Gordon M. Manual de diagnósticos enfermeros. Ed. Mosby-Doyma. Madrid 2003.
5. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. NutrHosp. 2007; 22 Supl 2:4-9.
6. Henderson V. La naturaleza de la enfermería, reflexiones 25 años después. Ed. Mc GRAW-HILL Interamericana España. Madrid 1994.
7. Patrones funcionales OMI-AP. Gerencia de AP, Servicio Cántabro de Salud.
8. Peláez C. y Requena T. La microbiota intestinal. CSIC. Ed. Catarata. 2017.
9. Raile Alligood M. Modelos y Teorías en Enfermería. 8ª Edición. Ed. Elsevier. Barcelona 2015.
10. Rowlands C. La increíble conexión intestino cerebro. Ed. Sirio. 2018 books.google.com
11. Schoffro Cook, M. El milagro probiótico. Ed. Grijalbo. México 2016.
12. Suárez JE. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. NutrHosp 2015.

MICROBIOTA INTESTINAL EN UN TRABAJO FIN DE GRADO EN ENFERMERÍA

Sonia Navarro del Cabo
Graduada en Enfermería por la Universidad de Cantabria

La investigación en el Grado de Enfermería cobra un papel relevante en el último curso, puesto que se cursa una asignatura denominada Trabajo Fin de Grado (TFG), a través del cual el alumno demuestra las competencias adquiridas asociadas al título de Grado.
El conocimiento de la microbiota intestinal y su papel en el metabolismo energético ha cobrado gran importancia en la última década, ya que se ha relacionado la alteración en su composición con la aparición de enfermedades metabólicas, autoinmunes, entre otras. La manipulación de la microbiota intestinal a través de la dieta, los probióticos y los prebióticos se han convertido en los tratamientos con evidencia más prometedores.
Actualmente, el colectivo de enfermería tiene un papel fundamental en la educación para la salud en pacientes que padecen obesidad y diabetes, por lo que la formación en esta temática cobra relevancia ante este contexto de nuevas evidencias entre la relación microbiota-dieta, para después poder introducirlos en la práctica clínica diaria.
La relación microbiota-dieta emerge como un amplio campo donde el colectivo de enfermería puede llevar a cabo proyectos de investigación para incorporar nuevos conocimientos en cuidados dietéticos.

Palabras clave: *Microbiota Intestinal. Obesidad. Diabetes. Trabajo Fin de Grado. Enfermería.*

¿QUÉ ES EL TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG)?

El Trabajo Fin de Grado (TFG) es una materia obligatoria que se cursa normalmente en el último año en todas las titulaciones de Grado. Permite al estudiante mostrar de forma integrada los contenidos formativos recibidos y las competencias adquiridas asociadas al título de Grado1.
Comprende aspectos relativos al origen de la temática y los tipos de trabajo, autoría, procedimientos y plazos1.

Origen y tipología del trabajo

En primer lugar, se elige la temática del proyecto, que puede ser propuesta por el profesorado de la titulación o bien por el estudiante. Posteriormente, se decide si se va a realizar un trabajo experimental, de revisión e investigación bibliográfica, etc.
Las Universidades plantean la necesidad de supervisión por un tutor académico, que pertenecerá al profesorado del título de grado correspondiente. La asignación de tutores se adecúa al número de temas y estudiantes[1].

Desarrollo, presentación y defensa

Se ajusta a lo estipulado en la guía docente en la que figuran normas de estilo, idioma, estructura y extensión del trabajo, modalidad y requisitos de presencialidad[1].
A lo largo del curso, tutor y estudiante realizan entrevistas para perfilar el trabajo, corregir, añadir. Una vez terminado y con la autorización del tutor para la lectura y defensa del trabajo, los trabajos se depositan. A finales del curso, se establecen unas fechas para la defensa del mismo, delante de una Comisión de Evaluación, que normalmente consta de tres miembros titulares y tres suplentes, entre los que puede estar o no el tutor del TFG1.
Una vez explicada la organización general, se procede a relatar las razones que motivaron la elección de la temática (microbiota intestinal), la tipología (revisión bibliográfica), algunos resultados del propio trabajo y qué implicaciones tiene enfermería en este campo.

¿POR QUÉ INVESTIGAR SOBRE LA MICROBIOTA INTESTINAL?

"Si no conozco una cosa, la investigaré"
Louis Pasteur

El primer paso para dar comienzo al TFG es la elección del área de estudio, que en mi caso fue la fisiología. Desde siempre me ha llamado especial atención cómo funciona el cuerpo humano y cada uno de sus órganos, por lo que decidí indagar más sobre el conocimiento de la función de alguno de ellos. El segundo paso es la elección de la temática para el desarrollo de la investigación. Dentro de la lista de temas que me proporcionaron, se encontraban la anticoncepción, las funciones del tejido adiposo, la fisiología respiratoria en la ingravidez, relación entre cirrosis hepática y alcohol, etc. Pero hubo uno que captó especialmente mi atención: papel de la microbiota en los procesos digestivos. Mi desconocimiento sobre la microbiota fue el primer paso para comenzar el trabajo.
En una primera fase de búsqueda que tratase esta temática, hallé diferentes autores, entre ellos Juan Evaristo Suárez[2], quien describía la microbiota en un artículo publicado en la revista Nutrición Hospitalaria como el conjunto de microorganismos (bacterias, hongos, protozoos) que colonizan la piel y la superficie de las mucosas de nuestro cuerpo. Es entonces, cuando recuerdas que en la asignatura de Enfermería clínica, te explicaban el aparato digestivo, anatomía, fisiología, enfermedades, cuidados de enfermería… y en una frase rápida el profesor comentó, a modo de curiosidad, que viven en nuestro intestino unas bacterias que son beneficiosas para nosotros y nuestro metabolismo, y no vuelves a oír hablar de ello.
En estos momentos, es cuando la vida del estudiante universitario inquilino comparte sus ideas y preocupaciones a sus compañeros de piso. En esta etapa me fue de gran ayuda contar con dos amigas que estudiaban Medicina, y me hablaron sobre los últimos estudios de microbiota y su relación con enfermedades metabólicas, autoinmunes, incluso el cáncer, que les había contado un profesor en la asignatura de alergias.
Continué adentrándome en esta área y resulta que muchos estudios describían un perfil de población microbiano estándar para cada región del organismo (Figura 1). El desequilibrio en la estructura y composición de la microbiota que resulta de una relación anómala de especies comensales y patógenas se denomina disbiosis. Esta alteración se ha relacionado con la aparición de enfermedades inflamatorias y metabólicas, tales como colitis, enfermedad de Crohn, obesidad y cáncer[3].

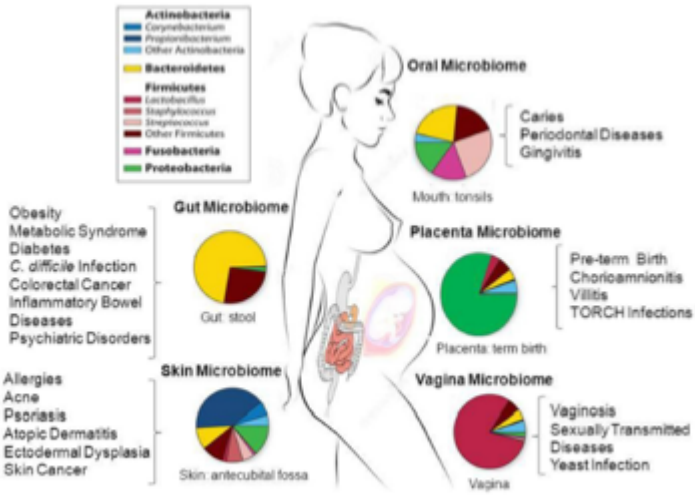


Figura 1. Distribución taxonómica, prevalencia y abundancia de la microbiota que vive en el ser humano. Tomado de Belizario et al3.

Viendo la cantidad de información publicada sobre la microbiota de todo el organismo, decidí focalizar el trabajo en la microbiota intestinal (MI), antiguamente denominada flora intestinal, y la relación con la obesidad y la diabetes. Algunos datos que me hicieron decantarme por estudiar la microbiota intestinal fueron:

- Parece ser que la microbiota tiene relación directa en la formación/regulación neurotransmisores4. En nuestro intestino habita una enorme población de bacterias, alrededor de 100 billones de microorganismos, un número 10 veces superior al de todas nuestras células somáticas y germinales juntas, y cuyo peso también es superior al de nuestro cerebro[5]. Es más, se le está comenzando a considerar "el segundo cerebro". Neurólogos han constatado que el 95% de la serotonina y el 50% de la dopamina son liberados por las células del intestino. Estos neurotransmisores son encargados de regular los ciclos de vigilia sueños, estados de ánimo, emociones; y motivación, humor y aprendizaje respectivamente. Además, algunos autores6 han comenzado a referirse a la MI como un órgano que se adquiere tras el nacimiento.
- La microbiota coloniza el intestino en el nacimiento y varía a lo largo de la vida. Al nacer, el intestino estéril del feto es colonizado por microorganismos del medio ambiente, siendo la composición de las diferentes especies de bacterias influenciadas por el tipo de parto, niveles de higiene, medicamentos utilizados periparto y en el tipo de alimentación del recién nacido[6]. En la medida que los niños empiezan a consumir frutas, verduras, carne, etc. los diferentes microorganismos van colonizando el intestino, y la microbiota que comienza a formarse es el esbozo de lo que va a ser la del adulto[2,6].
- Se ha visto que en los adultos, las proporciones de microorganismos varían según los diferentes segmentos del intestino, y que dichas proporciones se mantienen a lo largo del tiempo estables, aunque existan factores como edad, dieta, o tratamientos médicos que pueden alterarla[3].
- Partiendo de que la obesidad se define como la nueva epidemia del siglo XXI, y que junto a la diabetes, la prevalencia es cada vez mayor en nuestro país, resultó bastante motivador poder estudiar la microbiota como un nuevo factor para la prevención y/o tratamiento de las mismas.

En este punto, resulta sorprendente comentar cómo ha evolucionado el número de publicaciones sobre la microbiota en los últimos años.
Las bases de datos que utilicé para la búsqueda de bibliografía fueron: Pubmed, Scopus y Dialnet. Los descriptores bibliográficos fueron: microbiota, obesity, metabolism, diabetes mellitus. Se localizaron más de 200 artículos, y para perfilar la búsqueda, se utilizó una ventana temporal (2005-2015) y operadores booleanos (AND, OR) para realizar un filtro de selección de los mismos.
Cuando realicé la búsqueda en Pubmed con los descriptores anteriormente expuestos, el operador booleano "AND" y el filtro temporal, encontré 326 artículos. Sin embargo, sustituyendo ese filtro por 2005-actualidad, aparecen un total de 584 artículos.
Esto quiere decir que en estos tres últimos años se han publicado 258 artículos con esos criterios de búsqueda, más de la mitad que en el período de 10 años, lo que da a entender que la investigación de la microbiota está en pleno crecimiento exponencial, como muestran los gráficos 1 y 2.

Gráfico 1. Resultados de publicaciones por año según la búsqueda del descriptor microbiota. Fuente: Pubmed.

Gráfico 2. Resultados de publicaciones por año según la búsqueda de los descriptores "microbiota or flora". Fuente: Pubmed.

Resulta fascinante cómo unos microorganismos han captado la atención de investigadores de todo el mundo por desentrañar un posible papel en el desarrollo de tantas enfermedades, ya no solo metabólicas, sino inmunológicas.
Tras la lectura de estos hallazgos, ¿cabe alguna duda para elegir la microbiota como trabajo de fin de grado? En mi caso, no hubo duda alguna. Tras esta primera fase de contacto con la microbiota, empezó la segunda.
Me puse en contacto con mi tutora, y le comuniqué mi decisión de abordar este apasionante mundo. Lo primero que había que entender eran las funciones de estos microorganismos. Tomé como referencia un artículo del doctor Francisco Guarner[7] para explicar las funciones de la microbiota:

Metabólicas

1. Participa en la producción de vitaminas (K, biotina, ácido fólico) y síntesis de aminoácidos a partir del amoníaco y la urea.
2. Metaboliza residuos dietéticos no digeribles (como celulosa, pectinas), moco endógeno y detrimentos celulares. Un ejemplo de ello es la fermentación de hidratos de carbono provenientes de la fibra, resultando en la producción de ácidos grasos de cadena corta que una vez absorbidos al medio interno, funcionan como fuente de energía para las células[6].

Protección

1. La microbiota residente impide el asentamiento de bacterias exógenas al ecosistema por ocupación de nicho ecológico, lo que se denomina "efecto barrera".
2. Impide el sobrecrecimiento de bacterias oportunistas, que están presentes en el intestino[7]. Se han descrito otros mecanismos como el cambio de pH, producción de compuestos antimicrobianos, tales como el agua oxigenada que se obtiene por fermentación de glúcidos, y que favorecen condiciones ambientales hostiles para el crecimiento de patógenos[2,6].

El equilibrio entre las especies microbianas residentes confiere estabilidad al conjunto de la población bacteriana[7].

Funciones tróficas

1. Las bacterias intestinales pueden controlar la proliferación y diferenciación de los enterocitos.
2. Desempeñan un papel esencial en el desarrollo del sistema inmunitario. La microbiota intestinal estimula la función inmune tanto a nivel local como sistémico.
3. Las bacterias comensales influyen en el desarrollo de los componentes humorales del sistema inmune de la mucosa[6].

Los animales criados en asepsia muestran baja concentración de tejidos linfoides, y tras una exposición a bacterias convencionales aumenta el número de linfocitos en mucosa, aumenta la concentración sérica de inmunoglobulinas, etc7.
Resumiendo, las bacterias nos ayudan con el suministro de nutrientes esenciales,

aprovechan otros nutrientes no digeribles, colaboran en el desarrollo del sistema inmune y además actúan contra el asentimiento microbiano patógeno.

A partir de este punto, establecí los objetivos de la revisión bibliográfica, ofrecer una perspectiva actual acerca del conocimiento de:

- La microbiota: funciones, distribución y composición.
- Implicación en enfermedades metabólicas (obesidad y diabetes): mecanismos fisiopatológicos
- Potencial terapéutico de la modulación de la microbiota: prebióticos, dieta, trasplante fecal y sembrado vaginal
- Implicaciones dietéticas para la práctica clínica de Enfermería.

Resultó bastante emocionante seguir investigando durante varios meses sobre las relaciones fisiopatológicas con la obesidad, la diabetes y las diferentes perspectivas terapéuticas centradas en la manipulación de la microbiota, desde el controvertido trasplante fecal, la dieta hasta el uso de probióticos y prebióticos, que no son objeto del presente trabajo.
Tras los resultados extraídos, el último punto de la revisión consistió en analizar las implicaciones que puede conllevar el conocimiento de la microbiota en la práctica de enfermería.

IMPLICACIONES PARA ENFERMERÍA

Como se ha visto hasta ahora, la MI juega un papel importante en la regulación del metabolismo energético. Las herramientas terapéuticas del trasplante fecal o el sembrado vaginal, que tienen su base de funcionamiento en la regulación de la MI, presentan resultados contradictorios y escasa evidencia científica en muchos de los estudios, lo cual hace que resulte complejo su uso en la obesidad y diabetes. Aún queda por definir completamente la interacción entre microbiota y obesidad para poder desarrollarlas obteniendo un balance de beneficios/perjuicios positivo para el paciente.
A día de hoy, la dieta sigue siendo el factor y herramienta clave para prevenir y tratar ambas enfermedades metabólicas.
Desde el punto de vista formativo del Grado, nos formamos en dietas terapéuticas, como coadyuvantes a cada patología, en alimentación equilibrada, etc. Sin embargo, desconocemos la relevancia del papel de la microbiota en el funcionamiento del organismo y su relación con enfermedades metabólicas, entre otras muchas. Creo que debe plantearse el estudio del mismo en las asignaturas del Grado de Enfermería, como nutrición, enfermería médico quirúrgica, e incluso en enfermería comunitaria.
El uso de los probióticos y los prebióticos ya es una realidad, de hecho, muchos pacientes acuden a las consultas de enfermería, o realizan llamadas telefónicas para preguntar dudas: qué son, qué beneficios aportan para mejorar la salud o incluso la enfermedad, y no tenemos suficientes conocimientos como para poder abordar este tipo de consultas.

Queda aclarada la necesidad de formación en esta área. Ahora bien, ¿cómo podemos implementarlo en nuestro trabajo diario?
Desde el punto de vista de la práctica enfermera, se puede incidir en el asesoramiento y valoración nutricional de la persona a lo largo de los diferentes estadios de la vida: periodo fetal, periodo de lactancia, infancia y periodo del adulto, y es aquí donde se puede incidir, bien con una buena valoración de los hábitos de alimentación y/o eliminación de la persona para detectar signos y síntomas precozmente, y/o añadiendo información sobre la importancia de mantener una buena flora intestinal, en definitiva, educación para la salud.

Período fetal y lactancia

La lactancia materna es la mejor nutrición para el recién nacido. Se sabe que la dieta materna influye también en la composición iana de la leche. A través de la lactancia materna, el intestino del infante es colonizado. En este punto, es crucial educar dietéticamente a la madre para que la microbiota presente en la leche materna sea lo más saludable posible[8].

La MI en los niños alimentados con leche de fórmula difiere de la de los lactantes alimentados con leche materna. La microbiota de los primeros contiene más *Bacteroides* y Enterobacterias (bacterias relacionadas con obesidad), y niveles más bajos de *Bifidobacterium* (bacterias beneficiosas para el ser humano). En cambio, en otros estudios se ha visto que el número total de *Bifidobacterium* es relativamente similar entre lactantes alimentados con leche materna y lactantes alimentados con leche de fórmula suplementada con prebióticos (galactooligosacáridos y fructooligosacáridos)[9].
La persona clave en la educación sobre la dieta durante el embarazo es la matrona. Es importante poseer un buen conocimiento sobre la interacción alimentación-microbiota para poder elaborar un plan dietético indicado para la embarazada; de tal manera, que si la madre opta por una dieta rica en grasas o dar leche de fórmula, podamos intentar suplir el déficit de ciertas especies bacterianas mediante suplementos de prebióticos o probióticos.

INFANCIA

El niño ya tiene una microbiota madura y adulta alrededor de los 3 años. El tratamiento y la prevención de la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 se basan en la modificación de los estilos de vida. La dieta mediterránea y la dieta baja en grasa e hidratos de carbono son planes dietéticos saludables para mantener una buena biodiversidad microbiana intestinal [10, 11].
Se debe promover la actividad física de los niños, previniendo así el sedentarismo, e implicar a la familia. La figura que mejor puede llevar a cabo esta educación es la enfermería pediátrica y la enfermería escolar.
La primera puede trabajar tanto desde el ámbito hospitalario como del ambulatorio, para detectar en los niños hábitos dietéticos nocivos e implicar a los padres para corregirlos.
La segunda, puede difundir una correcta alimentación, tanto en los comedores escolares, como en campañas de alimentación para los padres, para mejorar los conocimientos y favorecer conductas saludables.

Adulto

En este periodo, toma relevancia la enfermera comunitaria. Su papel consiste tanto en la prevención, como el tratamiento de dichas enfermedades, ya que en las consultas de enfermería se observa si la adherencia a los tratamientos es correcta, y se les da consejos para seguir los planes dietéticos prescritos.
Por otro lado, también realizan charlas informativas en centros cívicos, en asociaciones de vecinos, etc. para promocionar modificaciones en los estilos de vida de la comunidad.
En un futuro, un conocimiento más amplio sobre las relaciones entre la microbiota y diferentes enfermedades, permitiría ampliar la información dietética de los pacientes, incluyendo suplementos de prebióticos y probióticos, con suficiente evidencia clínica, que modifiquen la microbiota intestinal, para así mejorar el síndrome metabólico.

NUEVA ÁREA DE INVESTIGACIÓN

La enfermería sigue teniendo un papel fundamental en la educación para la salud de las personas que padecen obesidad y diabetes, o que tienen factores predisponentes. Por tanto, la relación entre dieta y microbiota se torna como un amplio campo donde la investigación del colectivo de enfermería puede aportar evidencia para mejorar los cuidados relacionados con el manejo dietético y los suplementos.
Es el caso de la figura de la enfermera de ensayos clínicos, cuya situación en España no está reconocida a nivel académico, puesto que no existen titulaciones universitarias o de posgrado que avalen esta especialidad. Sin embargo, a nivel Europeo o en Estado Unidos, sí que cabe la posibilidad de especializarse en esta área a través de estudios de posgrado[12]. La formación específica contempla:

- conocimientos estadísticos e informáticos
- el manejo del lenguaje de los protocolos y la identificación de los organismos reguladores
- conocer, comprender y abordar los desafíos éticos que conlleva la investigación clínica

El trabajo de enfermería en un ensayo clínico se podría dividir globalmente en 2 grandes bloques que se superponen. El primero se trataría de los aspectos de gestión y coordinación del estudio, mientras que el segundo consistiría en los cuidados de enfermería propiamente dichos[12].

En enfermería, los ensayos clínicos aleatorizados han aumentado a medida que las enfermeras adquieren formación en investigación, aunque aún son insuficientes. Dentro de los diseños experimentales en enfermería, se ejemplifican algunos estudios clínicos aleatorizados publicados: intervención de empoderamiento en salud[13], contacto piel a piel posterior a parto vaginal[14], efecto del Reiki para la ansiedad previo a colonoscopia[15], enumerados en un artículo de revisión de Eugenia Urra et al[16]. Como se ha visto, el colectivo de enfermería puede desarrollar un papel coordinador en ensayos clínicos o incluso de investigador principal y diseñar ensayos experimentales. La microbiota puede ser un campo novedoso y muy interesante para plantearse estudios clínicos para analizar la eficacia de diferentes intervenciones de educación para la salud, o uso de diferentes alimentos o suplementos dietéticos que favorezcan el desarrollo y mantenimiento de una microbiota intestinal saludable.

CONCLUSIONES

La microbiota intestinal es esencial para el mantenimiento de la salud ya que realiza funciones metabólicas, tróficas y de protección para el organismo.

1. A día de hoy, no se ha llegado a definir con claridad la composición de una microbiota intestinal saludable. Existen estudios que demuestran una asociación entre una alteración de la misma y estados de enfermedad de tipo metabólico, infeccioso, etc. Aún no se puede afirmar si los cambios de las especies microbianas son causa o consecuencia de la enfermedad. Gracias a grandes proyectos como el PMH (Proyecto Microbioma Humano), se están determinando los perfiles tipo de microbiota para cada enfermedad, así como las especies o grupos protectores que se encuentran disminuidos en estadios de enfermedad.
2. Todo esto, hace que la microbiota intestinal esté cobrando relevancia en los últimos años, y se haya convertido en una posible herramienta terapéutica para disminuir la incidencia de enfermedades metabólicas, como la obesidad y la diabetes, que se están convirtiendo en epidemias mundiales.
3. Por último, la manipulación de la MI mediante cambios dietéticos en la dieta y el uso de prebióticos y probióticos, sigue siendo la diana más eficaz, en vista de la escasa evidencia científica de otros procedimientos, como el trasplante fecal.
4. El mundo de la microbiota intestinal es un campo amplio, novedoso y muy poco comprendido. Se ha de esperar nuevos estudios para revelar la interrelación huésped-microbiota-enfermedad y así poder poner en marcha todo el abanico terapéutico que está surgiendo.
5. Para la profesión enfermera es importante conocer las relaciones entre MI y enfermedad, además de los tipos de dieta que mejor se adaptan a pacientes obesos y diabéticos, ya que son los profesionales clave en la educación dietética. Se debe comenzar por formarnos desde el grado, y así poder brindar cuidados dietéticos actualizados desde la primera etapa de la vida, con el fin mejorar conductas en la sociedad e intentar disminuir la incidencia y la prevalencia de las enfermedades metabólicas.
6. La investigación del colectivo de enfermería por medio del diseño de ensayos clínicos puede convertirse en una nueva área para el crecimiento y desarrollo del conocimiento de esta profesión.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Serrano P. Trabajo Fin de Grado en Ciencias de la Salud. 1ªed. Madrid: Difusión Avances de Enfermería; 2012.
2. Suárez JE. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. Nutr Hosp 2015.
3. Belizario JE, Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases and novel therapeutic approaches. Front Microbiol. 2015; 6:1050.
4. Grinvalds Garbati C. La microbiota, nuestro propio ecosistema [Internet]. Espacio humano. 2017 [Acceso 22 de febrero 2018]. Disponible en: https://espaciohumano.com/la-microbiota-nuestro-propio-ecosistema/
5. Moya Pérez A. Eficacia y mecanismos de acción de bacterias intestinales en alteraciones metabólicas e inmunológicas asociadas a la obesidad y al estrés [tesis doctoral]. Valencia: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad de Valencia; 2015.
6. Gómez M, Acero F. Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. Repert Med Cir. 2011; 20(2):74-82.
7. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. Nutr Hosp. 2007; 22 Supl 2:4-9.
8. Charbonneau M, Donnell D, Blanton L, Totten S, Davis JC, Barratt M, et al. Sialylated milk oligosaccharides promote microbiota-dependent Growth in models of infant undernutrition. cell. 2016; 164(5):859-71.
9. Kashtanova DA, Popenko AS, Tkacheva ON, Tyakht AB, Alexeev DG, Boytsov SA. Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. Nutrition. 2016; 32(6):620-27.
10. Haro C, Montes-Borrego M, Rangel-Zuniga OA, Alcalá-Díaz JF, Gómez-Delgado F, Pérez-Martínez P, et al. Two healthy diets modulate gut microbial community improving insulin sensitivity in a human obese population. J Clin Endocrinol Metab. 2016; 101(1):233-42.
11. Allin KH, Nielsen T, Pedersen O. Mechanisms in endocrinology: Gut microbiota in patients with type 2 diabetes mellitus. Eur J Endocrinol. 2015; 172(4):R167-77.
12. Guerrero A, Millán G, Cruzado C, Medina M. La enfermera de ensayos clínicos en el ámbito hospitalario: una figura desconocida. Cardiocore. 2013; 48:75-8.
13. Crawford Shearer NB, Fleury JD, Belyea M. Randomized control trial of the Health Empowerment Intervention: feasibility and impact. Nurs Res. 2010;59(3):203-11.
14. Gouchon S, Gregori D, Picotto A, Patrucco G, Nangeroni M, Di Giulio P. Skin-to-skin contact after cesarean delivery: an experimental study. Nurs Res. 2010;59(2):78-84
15. Hulse RS, Stuart-Shor EM, Russo J. Endoscopic procedure with a modified Reiki intervention: a pilot study. Gastroenterol Nurs. 2010;33(1):20-6.
16. Urra E, Rivas E, Barría RM. Ensayo clínico para la enfermería basada en evidencia: un desafío alcanzable. Acta Paul Enferm. 2011;24(3):419-25

PROBIÓTICOS: ASPECTOS GENERALES Y APLICACIONES

Teresa Requena
Departamento de Biotecnología y Microbiología de Alimentos, Instituto de Investigación de Ciencias de Alimentación, CIAL (CSIC)

ASPECTOS GENERALES

La composición y el metabolismo de la microbiota intestinal están influidos, en gran medida, por la disponibilidad de nutrientes. En este sentido, existe un interés creciente en la identificación de ingredientes alimentarios resistentes al paso por el tracto gastrointestinal y con capacidad de modular la microbiota intestinal. El término prebiótico, en general, se define como "ingrediente alimentario no digerible que estimula selectivamente el crecimiento y/o la actividad de un determinado número de bacterias en el colon y que de este modo ejerce un efecto beneficioso para la salud" (Roberfroid et al., 2010). Basado en los avances biotecnológicos que permiten un conocimiento más exhaustivo de la gran diversidad de especies presentes en la microbiota intestinal, este carácter de selectividad ha sido recientemente cuestionado, con el objeto de que se evite en la definición de prebióticos la distinción simplista entre microorganismos beneficiosos y perjudiciales (Bindels et al., 2015). Tradicionalmente, las bacterias consideradas promotoras de salud quedaban restringidas, en gran medida, a los géneros *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, mientras que los grupos bacterianos *Bacteroides* y *Clostridium* se etiquetaban como perjudiciales por su papel proteolítico. Por otro lado, especies no reconocidas previamente como beneficiosas en la salud gastrointestinal, como *Akkermansia muciniphila* y *Faecalibacterium praustnizii*, queda cada vez más demostrado que pueden jugar un papel relevante en la regulación de procesos inflamatorios. Además, en la homeostasis intestinal se requieren niveles elevados de diversidad microbiana que proporcionen estabilidad y funcionalidad en el ecosistema colónico. En este sentido, Bindels et al. (2015) proponen ampliar el concepto prebiótico y definirlo como "compuesto no digerible que, a través de su metabolismo por microorganismos en el intestino, modula la composición y/o la actividad de la microbiota intestinal, confiriendo así un efecto fisiológico beneficioso". Un cambio notable de esta definición sería la inclusión de todos los carbohidratos no digeribles que mejoran la salud a través de una modulación de la microbiota intestinal, por lo que las definiciones de prebióticos y fibra dietética se aproximarían (Verspreet et al., 2016). Prácticamente no existe una distinción clara entre fibra dietética prebiótica y no prebiótica. Incluso la celulosa, considerada generalmente como un sustrato no fermentable, se ha descrito que es parcialmente fermentada en el intestino de individuos sanos.

La Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP por sus siglas en inglés), ha presentado recientemente un documento de consenso en relación a la definición y el alcance de los prebióticos (Gibson et al., 2017). En este documento se ha propuesto la definición de prebiótico como "un sustrato que es utilizado selectivamente por los microorganismos del hospedador confiriendo un beneficio para la salud". La definición amplía el concepto de prebióticos para incluir sustancias fuera del grupo de carbohidratos, pero mantiene el requisito del carácter selectivo de estos compuestos sobre la microbiota.

Un mecanismo clave por el cual los prebióticos ejercen beneficios para la salud humana es la producción de ácidos grasos de cadena corta (SCFA por sus siglas en inglés), tales como acetato, propionato y butirato, consecuencia del proceso fermentativo de la microbiota intestinal, el cual ocurre principalmente en el colon y bajo condiciones anaeróbicas. Como ejemplo, una ingesta diaria de 10 g de fibra genera 100 mmol de SCFA, siendo el ratio acetato/propionato/butirato típicamente 3/1/1. Estos compuestos presentan actividad antimicrobiana, reducen el pH intestinal y excluyen a bacterias potencialmente patógenas, ejerciendo un papel modulador en numerosas actividades metabólicas e inmunológicas del organismo. Así, el butirato constituye la fuente principal de energía de las células epiteliales del colon. El propionato es absorbido por los enterocitos, pasando al torrente circulatorio para ser posteriormente metabolizado a nivel hepático. En este contexto, es interesante destacar que la degradación de carbohidratos complejos hacia la formación de SCFA necesita de consorcios microbianos.

PREBIÓTICOS

Los carbohidratos en los que se han realizado la mayoría de estudios de caracterización de prebióticos son los fructanos, los galacto-oligosacáridos (GOS) y la lactulosa.

Los fructanos son polisacáridos de fructosa de diverso tamaño. Se diferencian en inulina (cadenas de hasta 60-65 unidades de fructosa) y fructooligosacáridos (FOS; con un número de unidades inferior a 10). La inulina se encuentra habitualmente en cantidades elevadas en la raíz de achicoria y en la pataca o alcachofa de Jerusalén, pero también pueden encontrarse en cantidades menores en ajo, cebolla y cereales como el trigo. Los FOS suelen obtenerse a partir de inulina mediante hidrólisis parcial o se sintetizan enzimáticamente mediante transfructosilación a partir de sacarosa. Los enlaces $\beta(2\rightarrow1)$ de la inulina y de los FOS no son degradados por las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal humano, siendo hidrolizados por la microbiota intestinal. En general, el metabolismo de estos prebióticos favorece el crecimiento de bifidobacterias.

Los GOS se encuentran de manera natural sobre todo en las leguminosas en forma de oligosacáridos de rafinosa y estaquiosa que son hidrolizados por α-galactosidasas, no presentes en humanos, y son fermentados sobre todo por bifidobacterias. La mayoría de GOS comerciales se sintetizan enzimáticamente mediante trangalactosilación a partir de la lactosa, siendo la reacción catalizada por β-galactosidasas de origen fúngico, microbiano o de levaduras. Los GOS comerciales presentan de 2 a 10 unidades de galactosa unidas a una glucosa terminal y se diferencian por la longitud de la cadena y el tipo de enlace. Recientemente, se han sintetizado y caracterizado GOS derivados de lactulosa, mostrando una mayor resistencia al proceso digestivo que los derivados de lactosa.

La lactulosa es un disacárido derivado de la isomerización en medio básico de la lactosa, pudiendo obtenerse mediante la acción de β-galactosidasas y utilizando lactosa y fructosa. La lactulosa es resistente a la acción de las enzimas digestivas, no es absorbida a través del epitelio intestinal, alcanzando el colon de manera intacta donde es metabolizada selectivamente por algunas especies bacterianas. Su potencial prebiótico ha quedado demostrado en numerosos estudios de intervención en humanos, siendo además clínicamente utilizada como laxante y en el tratamiento de encefalopatía hepática.

Dentro de otros ingredientes con carácter prebiótico, se encuentra el almidón resistente, que está presente en legumbres, cereales y patatas, y se define como la parte de almidón no digerido por las enzimas amilolíticas en el intestino delgado. Los isomalto-oligosacáridos se encuentran de forma natural en la miel, si bien se obtienen comercialmente a partir del almidón mediante hidrólisis enzimática de α-amilasas y pululanasas, y la posterior acción de transglucosidasas, para obtenerse una mezcla de oligosacáridos de diferente tamaño.

Los oligosacáridos derivados de pectina son moléculas complejas procedentes de la despolimerización parcial de la pectina mediante hidrólisis química o enzimática, mostrando una elevada diversidad estructural. La piel de cítricos (naranja, limón) y manzanas son utilizadas generalmente como fuente de pectinas a partir de las cuales se pueden obtener estos compuestos.

Como prebióticos no carbohidratos se destacan los polifenoles, que son ingredientes resistentes al proceso digestivo, no son absorbidos en el intestino delgado y alcanzan el colon donde son bio-transformados y tienen capacidad de modular la microbiota intestinal (Espín et al., 2017). Se han llevado a cabo numerosos estudios con polifenoles de diversas fuentes naturales tales como cacao, granada, té, frutos rojos, nueces y uva. Los polifenoles son metabolizados por la microbiota intestinal dando lugar a metabolitos biodisponibles que son los responsables de los efectos beneficiosos en salud asociados al consumo de estos ingredientes.

APLICACIONES DE PREBIÓTICOS EN LA SALUD HUMANA

En la definición de prebióticos está implícita la consideración de que ejerzan un efecto beneficioso en la salud del hospedador a través de su interacción con la microbiota. Sin embargo, es difícil establecer la contribución propia atribuible a los prebióticos y los mecanismos implicados en dicho beneficio. También resulta difícil establecer una causalidad entre la presencia de estos compuestos y la mejora en la salud asociada a los cambios microbianos, pudiendo considerarse más bien una asociación de eventos. Además del efecto beneficioso derivado de su capacidad para modular el crecimiento y funcionalidad de bacterias beneficiosas, algunos estudios indican que determinados efectos beneficiosos de estos compuestos podrían ser debidos a los propios sustratos, como son el efecto protector frente a patógenos, actuando como análogos de los receptores que reconocen los patógenos y evitando la adhesión al epitelio intestinal, y la estimulación directa del sistema inmune. Además, existen distintos estudios que indican que los prebióticos pueden tener efectos beneficiosos en la prevención y reducción de la sintomatología de determinadas enfermedades, algunos de los cuales han sido recientemente incluidos en la Guía Global de la Organización Mundial de Gastroenterología sobre probióticos y prebióticos (Guarner et al., 2017).

Mejora de la función intestinal

Estudios en lactantes han demostrado que el empleo combinado de GOS e inulina puede incrementar la frecuencia de deposiciones, reducir la consistencia de las heces y favorecer la formación de SCFA. Por otro lado, el consumo de inulina en adultos ha demostrado la capacidad de disminuir el tiempo de tránsito intestinal. También se ha sugerido que los prebióticos pueden desempeñar un papel en la prevención de algunos tipos de diarrea. Este beneficio se atribuye a la estimulación selectiva del crecimiento de ciertas especies de bacterias lácticas, que pueden ayudar a la digestión de lactosa en individuos intolerantes, y de otros géneros bacterianos que pueden competir con algunos agentes infecciosos causantes de diarrea.

Salud colónica

Algunos efectos potencialmente beneficiosos de los prebióticos sobre la salud intestinal son una mayor resistencia contra la colonización de patógenos y la reducción en los niveles de toxinas y/o agentes cancerígenos en el intestino. Además, se considera que pueden contribuir a la salud intestinal mediante el mantenimiento de la integridad de la mucosa.

Resistencia frente a la colonización por patógenos

El descenso del pH luminal, debido a la fermentación de prebióticos y la formación de SCFA, tiene un efecto modulador de la microbiota intestinal mediante la inhibición de patógenos potenciales sensibles al pH, como son las enterobacterias. La resistencia a la colonización por patógenos también tiene lugar mediante la promoción de grupos microbianos capaces de competir por nutrientes y por los sitios de adhesión de células epiteliales intestinales.

Integridad de la mucosa intestinal.

El efecto barrera de la mucosa intestinal es uno de los principales mecanismos de defensa del organismo. En animales adultos, se ha demostrado que la fermentación de fructanos afecta a la capa de mucus y aumenta la altura de las vellosidades y la profundidad de las criptas. Los FOS se ha descrito que disminuyen la permeabilidad intestinal y mejoran la integridad de las uniones estrechas entre células epiteliales. Los mecanismos responsables de este beneficio podrían implicar a los grupos bacterianos que son estimulados por los fructanos y que son capaces de aumentar la expresión de mucinas y de disminuir la permeabilidad epitelial. Además, el butirato también se ha descrito que puede regular la producción de mucina y la permeabilidad celular.

Propiedades anticancerígenas

Dentro de los posibles mecanismos que explicarían el papel protector de los prebióticos en etapas iniciales del desarrollo de cáncer colorrectal estaría la reducción del tiempo de tránsito intestinal, con lo que disminuiría el contacto de las células epiteliales con productos potencialmente tóxicos. También estaría asociado a la capacidad que presentan los prebióticos en modular la actividad y/o la composición de la microbiota intestinal, desplazando a parte de la microbiota responsable de la producción de carcinógenos potenciales. Dentro de los SCFA producidos durante la fermentación, el butirato en particular posee efectos anti-inflamatorios, inhibe la proliferación e induce selectivamente la apoptosis de células cancerosas. Sin embargo, faltan evidencias concluyentes sobre las propiedades anticancerígenas del butirato en humanos. Además, los SCFA también afectan el ambiente intestinal disminuyendo el pH y así frenando la proteólisis y la absorción de amoníaco debido a la formación de iones en condiciones ácidas. Asimismo, la disminución del pH también afecta al metabolismo de los ácidos biliares y a su solubilidad, así como a ciertas actividades enzimáticas responsables de la formación de metabolitos tóxicos.

Estimulación de la absorción de minerales

Los valores bajos de pH causados por la fermentación de prebióticos mejoran la solubilidad de calcio y magnesio y su absorción. La ingesta de prebióticos parece aumentar la densidad mineral ósea debido al incremento en las tasas de absorción de hierro y zinc.

Regulación del apetito y efecto en el metabolismo energético

Numerosos estudios han demostrado que el consumo de fructanos disminuye la ingesta de alimentos. La ingesta de fructanos suele ir acompañada de un aumento de los péptidos GLP-1 y YY y del descenso de grelina, reconocidos como péptidos que controlan el apetito (Delzenne et al., 2013). Estos resultados también se han observado para GOS y oligosacáridos derivados de arabinoxilano. El mecanismo de estos efectos estaría relacionado con la estimulación, mediante la producción de SCFA (particularmente butirato), de la expresión de los péptidos intestinales llevada a cabo por células enteroendocrinas. Los SCFA también pueden promover la producción de leptina, lo que mejora la sensibilidad a la insulina y controla la saciedad. Además, se ha demostrado que el acetato puede atravesar la barrera hematoencefálica en ratas y producir un efecto supresor del apetito a nivel del hipotálamo.

Los fructanos mejoran la homeostasis de la glucosa y el metabolismo lipídico, disminuyendo el colesterol plasmático total y la concentración plasmática de triglicéridos; además, disminuyen la capacidad hepática de la síntesis de triglicéridos. La ingesta de GOS, bien solos o combinados con inulina, también se ha observado que reducen los niveles de colesterol. La formación de SCFA, particularmente el propionato, participaría en la disminución de la lipogénesis hepática. Estudios en modelos animales sugieren que los efectos metabólicos beneficiosos de los SCFA son el resultado de un mayor gasto energético.

Modulación de la respuesta inmune

El tejido linfoide asociado al intestino constituye la región más extensa del sistema inmunológico del cuerpo y cumple un papel central en las funciones defensivas en el intestino grueso. El sistema inmune es activado constantemente por estructuras antigénicas bacterianas específicas tales como lipopolisacáridos, peptidoglicanos, polisacárido A, ácidos lipoteicoicos, lipoproteínas y ácidos nucleicos microbianos. Estas estructuras son identificadas por receptores de reconocimiento de patrones y provocan respuestas que son críticas para mantener la integridad de la barrera intestinal y la homeostasis microbiana del huésped (Hooper et al., 2012). Los efectos inmunomoduladores descritos para prebióticos incluyen el incremento de los niveles de inmunoglobulina A fecal y cambios en la producción de citoquinas, así como en el número de linfocitos. Los cambios observados a menudo se atribuyen a la modulación de la microbiota intestinal y a la producción de SCFA y mucus.

ALEGACIONES DE SALUD DE PREBIÓTICOS

En la Unión Europea, las alegaciones de salud que pueden etiquetarse en los alimentos deben ser aprobadas por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, European Food Safety Authority) y ser autorizadas por la Comisión Europea. Las alegaciones de salud de prebióticos que han sido aprobadas hasta la fecha por la EFSA son las siguientes:

1. La lactulosa reduce el tiempo de tránsito intestinal (EFSA, 2010), el cual se considera, dentro de un rango normal, que puede ser un efecto fisiológico beneficioso. Este efecto se obtiene con la ingesta de 10 g/día. El efecto es debido a su capacidad laxante osmótica que aumenta el contenido de agua de las heces y, como consecuencia, su ablandamiento.

2. Los carbohidratos resistentes a la digestión disminuyen la respuesta glicémica postpandrial e insulínica (EFSA, 2014). Así, los alimentos y bebidas que contienen carbohidratos no digeribles en lugar de azúcar (al menos una sustitución del 20%) pueden declarar la capacidad de reducir la respuesta glicémica posprandial en la población general.
3. La inulina procedente de achicoria incrementa la frecuencia de las deposiciones (EFSA, 2015). Este efecto se obtiene con el consumo de al menos 12 g/día.

REFERENCIAS

Bindels LB, Delzenne NM, Cani PD, Walter J. (2015) Towards a more comprehensive concept for prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 12: 303-310.

Delzenne NM, Neyrinck AM, Cani PD. (2013) Gut microbiota and metabolic disorders: How prebiotic can work? Br J Nutr. 109: S81-S85.

EFSA Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2010) Scientific opinion on the substantiation of health claims related to lactulose and decreasing potentially pathogenic gastro-intestinal microorganisms (ID806) and reduction in intestinal transit time (ID807) pursuant to Article 13(1) of regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J. 8: 1806.

EFSA Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2014) Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to non-digestible carbohydrates and a reduction of post-pandrial glycaemic responses pursuant to Article 13(5) of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J. 12: 3513.

EFSA Panel on Dietetics Products, Nutrition and Allergies (NDA). (2015) Scientific opinion on the substantiation of a health claim related to "native chicory inulin" and maintenance of normal defecation by increasing stool frequency pursuant to Article 13.5 of Regulation (EC) No 1924/2006. EFSA J. 13: 3951.

Espin JC, Gonzalez-Sarrias A, Tomás-Barberán FA. (2017). The gut microbiota: A key factor in the therapeutic effects of (poly)phenols. Biochem Pharmacol. 139: 82-93.

Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G. (2017). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 14: 491-502.

Guarner F, Sanders ME, Eliakim R, Fedorak R, Gangl A, Garisch J, Kaufmann P, Karakan T, Khan AG, Kim N, de Paula JA, Ramakrishna BS, Shanahan F, Szajewska H, Thomson A, Le Mair A, Merenstein D, Salminen S. Probiotics and prebiotics. World Gastroenterology Organization Global Guidelines (Febr 2017). http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics.

Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. (2012) Interactions between the microbiota and the immune system. Science 336: 1268-1273.

Roberfroid M, Gibson GR, Hoyles L, McCartney AL, Rastall R, Rowland I, Wolvers D, Watzl B, Szajewska H, Stahl B, Guarner F, Respondek F, Whelan K, Coxam V, Davicco MJ, Léotoing L, Wittrant Y, Delzenne NM, Cani PD, Neyrinck AM, Meheust A. (2010) Prebiotic effects: metabolic and health benefits. Brit J Nutr. 104: S1-S63.

Verspreet J, Damen B, Broekaert WF, Verbeke K, Delcour JA, Courtin CM. (2016) A critical look at prebiotics within the dietary fiber concept. Annu Rev Food Sci Technol. 7: 167-190.

PROBIÓTICOS: DEL LABORATORIO AL CONSUMIDOR

Juan Miguel Rodríguez Gómez
Dpto. Nutrición y Ciencias de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el campo de los probióticos ha experimentado un gran auge, lográndose avances científicos y clínicos que han permitido el desarrollo y comercialización de diversos productos debidamente contrastados. Paralelamente, también ha aumentado la demanda de probióticos por parte de unos consumidores cada vez más conscientes de la estrecha relación entre nuestra microbiota y la salud. Desafortunadamente, algunas compañías han aprovechado esta coyuntura para aplicar el término "probiótico" a productos que no encajan en este concepto y/o cuyos presuntos beneficios carecen de cualquier base científica. Este mal uso, intencionado o no, se ha visto favorecido por la ausencia, hasta principios del siglo XXI, de un consenso internacional sobre la metodología para evaluar la eficacia y seguridad de estos productos.

En 2001, una comisión de expertos convocados de forma conjunta por la FAO y la OMS reconoció la necesidad de establecer directrices para la evaluación de la eficacia y seguridad de los probióticos.[1] La comisión propuso una definición de probiótico que, desde entonces, ha sido la más ampliamente aceptada en todo el mundo: "*microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedador*". En 2002, y recogiendo el guante de la comisión, un grupo de trabajo mixto de la FAO y la OMS elaboró unas directrices con los requerimientos mínimos necesarios para que a un producto se le pudiera otorgar el apelativo de probiótico.[2] Los documentos derivados del trabajo de ambas comisiones, junto con las actualizaciones recogidas en los consensos de la Sociedad Española de Probióticos y Prebioticos (SEPyP)[3] y de la *Internacional Scientific Association for Probiotics and Prebiotics* (ISAPP)[4] son referencias clave para saber qué se entiende por probiótico en la actualidad y constituyen la base de este artículo.

El proceso que va desde la selección inicial de cepas hasta la comercialización de un probiótico eficaz para una diana específica no resulta sencillo. Tiene que contemplar diversos aspectos (científicos, clínicos, tecnológicos, normativos, económicos, comunicativos…) que, aunque en ocasiones no son fáciles de conjugar, pueden y deben ser compatibles entre sí. Recientemente, se ha empleado el término "*marco probiótico*" para hacer referencia a todos los sectores implicados en que el conocimiento existente sobre los probióticos se traduzca en productos que supongan un beneficio para la sociedad.[4]

De los miles de cepas aisladas cada año por su presunto potencial probiótico en los laboratorios de todo el mundo, muy pocas pasan a una fase de desarrollo industrial y muchas menos aún las que consiguen un hueco en los estantes de una farmacia, parafarmacia o establecimiento alimentario. En este artículo, se revisarán los principales aspectos que se deben tener en cuenta en el (a veces, largo y tortuoso) camino que debe seguir una cepa desde su aislamiento inicial hasta su comercialización.

2. IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

La identificación de un aislado a nivel de especie y cepa es un requisito esencial para cualquier aislado que se pretenda comercializar. La asignación de un aislado a una especie u otra no es banal ya que la evaluación del riesgo ante la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) es mucho más sencilla para aquellas que, sobre la base de una historia de uso seguro, gozan de presunción cualificada de seguridad (QPS; del inglés, *Qualified Presumption of Safety*).[5] La lista QPS se revisa anualmente, incorporando nuevas unidades taxonómicas si los datos disponibles así lo avalan. En consecuencia, es probable que en el futuro se incluyan géneros y especies (p.e.: *Roseburia spp., Faecalibacterium prausnitzii*…) que no se han empleado hasta la fecha como probióticos pero a las que los estudios sobre el microbioma humano están vinculando con claros efectos beneficiosos para la salud.

Como cualquier otra disciplina, la taxonomía de bacterias y levaduras está en constante evolución y la determinación de especie debe realizarse (y, eventualmente, reevaluarse) con la metodología más válida en cada momento. Aunque las pruebas fenotípicas (fermentación de carbohidratos, actividades enzimáticas…) fueron muy útiles cuando no existían otros métodos alternativos, actualmente no son válidas para la identificación de especies ya que su capacidad de resolución es claramente insuficiente; de hecho, la herencia del uso de métodos de identificación inadecuados es la principal causa de mal etiquetado de productos probióticos.[6]

Las pruebas fenotípicas fueron reemplazadas rápidamente por diversas técnicas moleculares, basadas en la detección de huellas genéticas (*fingerprinting*) o en la secuenciación de diversos genes. Entre ellas, la secuenciación parcial o completa del gen 16S rRNA se ha convertido, prácticamente, en el método estándar de identificación. Sin embargo, este abordaje posee algunos inconvenientes, como la existencia de secuencias no contrastadas en las bases de datos (EMBL/GenBank/DDBJ) o su incapacidad para discriminar entre (sub)especies estrechamente relacionadas, como las que se incluen dentro del grupo *Lactobacillus plantarum* o del grupo *Lactobacillus paracasei*. En este sentido, el uso de genes constitutivos (housekeeping), como *pheS, rpoA, atpD, tuf, groEL o recA*, o su combinación con el gen 16S rRNA ofrece una mayor capacidad discriminatoria. En cualquier caso, es inaceptable prolongar el uso de nomenclatura obsoleta o confusa en las etiquetas de los productos, a pesar de existen ejemplos en este sentido en el mercado probiótico actual (p.e.: *Lactobacillus biphidus* en vez de *Bifidobacterium bifidum; Lactobacillus sporogenes* en lugar de *Bacillus coagulans*). Curiosamente, algunas de las empresas que comercializan productos mal etiquetados están certificadas frente a la norma de calidad ISO9000 para la que cualquier producto mal identificado debe ser considerado como no conforme.

La identificación de un aislado a nivel de cepa es igualmente relevante. La capacidad para identificar una cepa específica en una matriz determinada o para diferenciarla entre otros probióticos o entre los integrantes de la microbiota nativa de un hospedador es esencial ya que posibilita su trazabilidad en pruebas laboratoriales, en ensayos clínicos, en estudios epidemiológicos (incluyendo posible implicación en efectos adversos) y durante todo el proceso de producción y comercialización. Por otra parte, es habitual que la empresa interesada en una cepa la quiera proteger mediante una patente que cubra sus posibles aplicaciones. Para ello, tendrá que depositar la cepa en una colección de referencia como, por ejemplo, la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT), bajo las condiciones del Tratado de Budapest. En este caso, la capacidad para diferenciar la cepa es una herramienta útil para detectar un posible uso ilegal por parte de terceros. Dado que, para poder patentar las aplicaciones de una cepa, la información "sensible" (en ocasiones, años de trabajo) debe permanecer inédita hasta la presentación de la solicitud, sería deseable que el valor de las patentes transferidas y en uso industrial aumentase notablemente a la hora de evaluar los currículos ya que redundaría en una mayor y mejor relación entre los investigadores y las empresas.

La identificación a nivel de cepa también es deseable si existen efectos beneficiosos específicamente asociados a esa cepa. En muchos documentos, incluyendo el consenso de la SEPyP,[3] se considera que los efectos saludables demostrados para una cepa microbiana específica no son extrapolables o atribuibles a otras cepas de la misma especie; sin embargo, se trata de un aspecto que se debería revisar ya que algunos efectos (y los mecanismos que los sustentan) están ampliamente distribuidos entre especies pertenecientes a distintos géneros (producción de ácidos orgánicos, exclusión competitiva de patógenos…), otros son frecuentes entre las distintas cepas de una misma especie y, finalmente, otros son más raros (efectos neurológicos o endocrinológicos…) y sólo se pueden asociar a unas pocas cepas dentro de una especie determinada.[4]

A pesar de la disponibilidad de diversas técnicas de genotipado, la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) sigue siendo considerado la de elección para diferenciar cepas, sin olvidar que la presencia de plásmidos y megaplásmidos puede estar asociada a propiedades que diferencien una cepa frente a otras parecidas de la misma especie. La secuencia del genoma completo (incluyendo los elementos extracromosómicos) es la mejor información posible para la identificación de una especie y cepa, además de proporcionar información muy valiosa sobre su seguridad, funcionalidad y propiedades de interés tecnológico (utilización preferencial de sustratos, resistencia a condiciones ambientales, presencia de fagos...). Actualmente, la genómica funcional ya facilita la selección de cepas para aplicaciones concretas y será un abordaje común en un futuro próximo.7 El abaratamiento de los costes de secuenciación hace que sea económicamente accesible para las empresas y en el futuro se convertirá, con toda seguridad, en un requisito para cualquier cepa que se quiera comercializar.

3. SEGURIDAD DE LA CEPA

3.1. Consideraciones generales

La evaluación de la seguridad de los probióticos es, obviamente, un requisito imprescindible en el proceso de selección que empieza, como se ha comentado anteriormente, con una correcta identificación taxonómica. Los microorganismos utilizados como probióticos incluyen levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y bacterias de diferentes géneros (*Lactobacillus, Streptococcus, Enterococcus, Pediococcus, Bifidobacterium, Propionibacterium, Bacillus, Escherichia*), algunas de las cuales forman parte de la microbiota autóctona de los hospedadores a los que van dirigidas y otras no. Por otra parte, los probióticos se han empleado en un abanico muy amplio de situaciones, que incluye personas sanas, personas sanas pero en una situación especial (bebés, mujeres embarazadas o lactantes, ancianos…) y personas con distintos tipos de patologías y severidades. En consecuencia, la evaluación de la seguridad debe tener en cuenta, entre otros factores, el microorganismo en cuestión, la forma de administración, el nivel de exposición, el estado de salud del huésped y las funciones fisiológicas que pueden desempeñar en el mismo.[8]

Los casos en los que se ha podido establecer una relación entre el consumo de un probiótico y un efecto adverso son muy escasos y han afectado a personas con enfermedades graves subyacentes o con una barrera intestinal muy alterada. Esta baja incidencia epidemiológica es especialmente destacable teniendo en cuenta el amplio uso de este tipo de productos.[9,10] Por ejemplo, el riesgo de infección por *Lactobacillus* es de aproximadamente un caso por cada 10 millones de personas mientras que, en general, el riesgo de lactobacilemia se considera como "inequívocamente insignificante".[11-13] En tales casos, las especies más implicadas hasta la fecha han sido *Lactobacillus rhamnosus*,[14,15] *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii* (generalmente asociada a la presencia de catéteres venosos centrales)[16] y B*acillus subtilis*.[17,18]

El hecho de que no se hayan observado efectos secundarios (y sí efectos beneficiosos) en la inmensa mayoría de los ensayos clínicos en los que se han administrado probióticos a hospedadores inmunocomprometidos, incluyendo personas positivas al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), niños prematuros de peso muy bajo o extremadamente bajo al nacer y ancianos enfermos, confirma la escasa patogenicidad de los probióticos, incluso en situaciones favorables para infecciones por microorganismos oportunistas.[19-23]

A pesar de ello, la cuestión de la seguridad resulta primordial en personas con enfermedades graves, especialmente tras la observación de que la administración de un probiótico multiespecie a pacientes con pancreatitis aguda estaba asociada a una mortalidad más elevada que la del grupo control (16% vs. 6%).[24] Un análisis de los subgrupos de pacientes reveló que el probiótico tenía efectos beneficiosos en los pacientes moderadamente enfermos pero negativos en los pacientes críticos. No se observó translocación de ninguna de las cepas del producto probiótico a la circulación sistémica y todo parece indicar que los efectos adversos (mayor tasa de isquemia intestinal y de mortalidad) se debieron a un exceso de carga oxidativa sobre un sistema redox que ya estaba muy alterado, provocando un aumento del daño inducido por estrés oxidativo e isquemia.[25]

En teoría, los probióticos podrían producir cuatro tipos de efectos adversos: (1) infectividad o patogenicidad; (2) producción de metabolitos no deseables; (3) excesiva inmunoestimulación o inmunodepresión en individuos sensibles; y (4) posibilidad de transmisión de genes que confieran resistencia a antibióticos.

3.2. Patogenicidad

Resulta muy difícil evaluar posibles factores de virulencia en aquellos grupos bacterianos para los que no se tiene constancia de ningún miembro patógeno. Hasta la fecha, no se ha hallado ningún gen inequívocamente relacionado con patogenicidad en las especies de los géneros *Lactobacillus o Bifidobacterium*, incluyendo los aislados asociados con sepsis u otros efectos adversos.[26] Entre los factores que se han propuesto para explicar su implicación en tales casos están los mecanismos que permiten su adherencia a las células del hospedador (que facilitarían su translocación), la degradación de mucinas (que les proporciona metabolitos para su crecimiento), la actividad hidrolasa de sales biliares (que facilita su supervivencia en el entorno intestinal) o la resistencia a los mecanismos de defensa innatos. Sin embargo, se trata de características que, en general, contribuyen a la colonización de las mucosas y, como tales, son compartidas por gran parte de la microbiota natural.

El proceso de infección e invasión implica un primer contacto o adhesión entre las células bacterianas y las células epiteliales, una translocación a través del epitelio intestinal y una proliferación indiscriminada que puede acabar en un absceso hepático, una endocarditis o una sepsis. Por este motivo, se ha sugerido que el potencial de adhesión y translocación de una cepa forme parte de la evaluación de seguridad de los probióticos. No obstante, se trata de aspectos claramente controvertidos. De hecho, la capacidad de adhesión se ha considerado como una posible característica probiótica ya que puede propiciar la colonización del epitelio diana, la mejora de las interacciones neuro-inmunológicas, la ocupación de receptores (en detrimento de los patógenos) y el fortalecimiento de la barrera intestinal.[27]

La translocación también tiene numerosos matices; por una parte, existe una translocación bacteriana "infecciosa", que implica una tasa de translocación elevada, que está habitualmente asociada a bacterias patógenas (cepas enteroinvasivas de *E. coli, Listeria monocytogenes*…), que suele coincidir con una alteración de la barrera intestinal y/o del sistema inmunitario y que conduce a una situación patológica; por otra parte, la translocación "controlada" constituye un proceso fisiológico selectivo y altamente regulado que sucede continuamente en individuos sanos, que implica una tasa baja de translocación y que resulta fundamental para la homeostasis de un individuo.[28,29] Por lo tanto, el hecho de que una cepa sea capaz de translocar de una forma controlada no sólo no es motivo para rechazar una cepa sino que incluso podría constituir una propiedad probiótica relevante.

En cualquier caso, existen muchas dudas sobre la validez de las pruebas in vitro para predecir la adhesión y translocación *in vivo* de una cepa ya que, dependiendo del estado fisiológico de las bacterias, los diferentes tipos de ensayos, las diferentes líneas celulares empleadas y las diferencias entre laboratorios, los resultados para una misma cepa pueden variar notablemente.

En contraste con lactobacilos y bifidobacterias, se han descrito numerosos factores de virulencia (hemolisina, gelatinasa, DNasa…) en el género Enterococcus, y especialmente, en las especies *E. faecalis y E. faecium*,[30,31] aunque no existe consenso sobre un procedimiento o método que permita diferenciar las cepas patógenas de las no patógenas. Actualmente, no están incluidas en el listado QPS por lo que, como otros microorganismos en esa misma situación, la evaluación de su seguridad debe realizarse demostrando la ausencia de factores de virulencia cepa a cepa. En el caso de las especies del género *Bacillus* empleadas como probióticos e incluidas en el listado QPS (p.e.: *B. coagulans, B. pumilus, B. subtilis*), se debe demostrar la ausencia de actividad toxigénica (ausencia de genes *Hbl* y *Nhe* y de citotoxicidad).[32,33]

3.3. Producción de D-lactato

En el pasado, algunas autoridades consideraron que la producción del isómero D(-) del ácido láctico era una propiedad a tener en cuenta para la evaluación de la seguridad de los probióticos, especialmente para su uso en la población infantil. Sin embargo, desde el punto de vista científico, se trata de una propiedad prácticamente irrelevante para determinar la seguridad de un aislado ya que muchas de las especies autóctonas del tracto gastrointestinal humano, incluyendo algunas ampliamente empleadas como probióticos en pediatría (p.e.: *Lactobacillus reuteri*), producen ácido D-láctico. También es ampliamente aceptado que la ingestión de yogur, que contiene elevadas concentraciones de este isómero debido a la actividad de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, no supone un riesgo para la salud infantil.

En este sentido, todo parece indicar que no existe ninguna razón para evitar el uso como probióticos de lactobacilos autóctonos humanos sobre la base de los estereoisómeros del ácido láctico que producen.[33] De hecho, hasta la fecha, no se ha descrito ningún caso de acidosis por ácido D-láctico en ningún ser humano sano, independientemente de su edad.[34] Los ensayos clínicos en los que se han administrado cepas probióticas productoras de D-lactato a niños a término y prematuros han revelado que no se produce ningún signo de acidosis, incluso tras su administración diaria durante los primeros 12 meses de vida.[34,35]

En este sentido, este tipo de acidosis sólo se presenta cuando coinciden los siguientes requisitos: (a) síndrome de intestino corto; (b) consumo de grandes cantidades de carbohidratos; (c) malabsorción de carbohidratos; (d) sobrecrecimiento de bacterias productoras de D-lactato (pertenecientes a la propia microbiota del paciente); (e) motilidad colónica disminuida; y (f) alteración en el metabolismo del ácido D-lactico.[36,37] Por ello, la administración una cepa productora de ácido D-lactico en pacientes de riesgo (cirugía intestinal, síndrome de intestino corto...) debe ser cuidadosamente vigilada si no está avalada de datos de seguridad con relación a este aspecto específico.

3.4. Producción de aminas biógenas

Las aminas biógenas (AB) son compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que se forman principalmente por descarboxilación de aminoácidos y que ejercen funciones fisiológicas esenciales para los seres vivos. Sin embargo, la descarboxilación de algunos aminoácidos, llevada a cabo por determinados microorganismos, puede provocar la presencia de concentraciones altas de AB (histamina, tiramina…) en los alimentos. Para ello, es importante que la materia prima contenga una elevada carga proteica y que se den las condiciones adecuadas para una intensa proteolisis. Estas condiciones se dan en ciertos alimentos fermentados cuando la fermentación está dirigida por bacterias lácticas con actividad aminoacil-descarboxilasa, una propiedad que depende de la cepa y no de la especie.38

Cabe destacar que hay personas especialmente sensibles a las AB debido a que los enzimas responsables de su destoxificación, la monoamino oxidasa (MAO) o la diamino oxidasa (DAO), no son funcionales, bien por problemas genéticos o por la presencia de inhibidores como el alcohol o algunos fármacos antidepresivos. Por tanto, es difícil establecer los niveles tóxicos para cada una de las AB ya que depende de la eficacia de los sistemas de detoxificación y, por lo tanto, varía de unos individuos a otros. Por este motivo, la incapacidad de sintetizar AB debe estar incluida en los criterios de selección de los cultivos iniciadores y también de aquellos probióticos que se vayan a vehicular a través de alimentos donde se puedan dar las condiciones para su formación.

3.5. Resistencia a antibióticos

El auge de las bacterias (multi)resistentes a los antibióticos representa un serio peligro para la Salud Pública. En consecuencia, la posible presencia de genes transmisibles que puedan conferir dicho fenotipo a las bacterias de la microbiota de un hospedador (incluyendo aquellas potencialmente patógenas) es un aspecto muy relevante en la evaluación de la seguridad de las bacterias que se deseen emplear como probióticos. No obstante, hay que señalar que, hasta la fecha, no se ha publicado ningún ensayo *in vivo* que haya demostrado la transferencia de este tipo de genes entre una cepa probiótica y cualquier miembro de la microbiota autóctona humana.

La determinación de la resistencia a los antibióticos parece una prueba relativamente sencilla pero, tradicionalmente, los ensayos que implican a bifidobacterias y bacterias lácticas (excepto enterococos) se han enfrentado a dificultades de estandarización. Actualmente se considera que se debe realizar de acuerdo a procedimientos aceptados internacionalmente como, por ejemplo, la versión más actualizada de la guía del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) o la norma ISO 10932:2010 (IDF 223:2010). También se utilizan ampliamente los criterios propuestos por Klare et al.[39,40] para este tipo de bacterias.

La resistencia a antibióticos forma parte del esquema de evaluación de seguridad propuesto por la EFSA para determinar el carácter QPS de una cepa.[41] Para ello, indica los antibióticos que habría que considerar dependiendo del género o especie a evaluar y proporciona valores de corte. Salvo excepciones, este abordaje requiere la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) frente a ampicilina, vancomicina, gentamicina, kanamicina, streptomicina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina y cloranfenicol. Cuando una cepa es resistente a un antibiótico hay que determinar el tipo de resitencia. Se habla de resistencia *intrínseca* cuando dicha propiedad es inherente a todas las cepas de una especie mientras que es adquirida cuando una cepa de una especie típicamente sensible a un antibiótico muestra resistencia al mismo. En este segundo caso, hay que presentar datos genéticos que expliquen la causa de la resistencia ya que puede ser debida a mutaciones en genes endógenos de la cepa o por adquisición de genes exógenos (*tetW, tetM, tetS, ermB*…).[42-44]

En este contexto, el criterio de la EFSA[41] es el siguiente: (a) el potencial de transmisión horizontal de la(s) resistencia(s) intrínseca(s) es mínimo por lo que las bacterias que la(s) porta(n) pueden ser empleadas en los alimentos; (b) el potencial de transmisión horizontal de la(s) resistencia(s) adquirida(s) debidas a mutaciones cromosómicas es bajo por lo que, en general, las bacterias que la(s) porta(n) pueden ser empleadas en los alimentos; (c) las bacterias que portan resistencia adquirida como consecuencia de la incorporación de elementos genéticos (y, especialmente, elementos genéticos móviles: plásmidos, transposones…) son las que poseen el mayor potencial de transmisión horizontal por lo que no deben ser empleadas en los alimentos; (d) se debe evitar usar cualquier cepa en caso de que no se disponga de información genética sobre la naturaleza de una resistencia demostrada; y (e) la presencia de resistencias no convierte a un lactobacilo o una bifidobacteria en un microorganismo patógeno.

3.6. Efectos negativos sobre el sistema inmunitario

La evaluación de seguridad de los probióticos también debe contemplar su impacto en hospedadores inmunológicamente inmaduros o inmunocomprometidos. Todos los microorganismos, tanto autóctonos como alógenos (http://www.sepyp.es/es/wiki), ejercen un impacto sobre sistema inmunológico. La microbiota autóctona o de ocupación es crucial para el desarrollo y mantenimiento de la fisiología y homeostasis de las mucosas y epitelios que habitan, unos lugares que actúan como barrera altamente selectiva y órgano de comunicación entre el medio ambiente luminal y el anfitrión;[45] un fracaso en esta interacción puede contribuir al desarrollo de patologías inflamatorias, metabólicas o infecciosas.

En este contexto, el hecho de que, en muchos casos, los mecanismos por los que los probióticos ejercen su acción todavía no sean bien conocidos es un inconveniente para poder predecir la seguridad inmunológica de una intervención probiótica. El que un probiótico ejerza efectos inmunoestimulantes o inmunosupresores, que según las circunstancias pueden ser protectores o nocivos, depende de las interacciones entre las señales microbianas, la base genética del hospedador y las condiciones ambientales. Diversos estudios han mostrado que ciertas bacterias probióticas estimulan la proliferación y actividad de las células inmunitarias, aumentando la eficacia de la respuesta frente a patógenos. En contraste, otros probióticos son eficaces frente a las inflamaciones crónicas y las alergias mediante la supresión de células efectoras y la inducción de mecanismos de tolerancia.[46,47] El conocimiento de las relaciones entre la estructura (genotipo, fenotipo) y las funciones de los probióticos en las poblaciones diana limitará el riesgo de inducir efectos inmunológicos adversos en un hospedador.

3.7. Seguridad de los excipientes

La evaluación de seguridad de un probiótico debe tener en cuenta los excipientes empleados en la formulación de los productos finales. A modo de ejemplo, se han descrito casos de niños que han sufrido reacciones anafilácticas debidas a la exposición a las proteínas de leche de vaca empleada como excipiente.[48,49] En este sentido, los productos probióticos deben respetar la normativa vigente relativa a la declaración de alergenos en el etiquetado (**Real Decreto 2220/2004, Directiva Europea 2006/142**). Por lo que respecta a los ensayos clínicos, es importante incluir la alergia o intolerancia al excipiente entre los criterios de exclusión.

3.8. Pruebas y modelos para la evaluación de la seguridad

Existen numerosos tipos de ensayos in vitro, *ex vivo* e *in vivo* para evaluar la seguridad de los probióticos. En general, todos son útiles para tener más información a la hora de seleccionar las cepas más seguras aunque los que se basan en pruebas fenotípicas sencillas y en el empleo de cultivos celulares poseen, en mayor o menor medida,

el inconveniente de no reflejar adecuadamente las complejas interacciones que se establecen en un ser vivo. Las pruebas en animales han sido consideradas tradicionalmente como una parte esencial en la evaluación de la seguridad de cualquier cosa que se pretenda administrar a humanos. Para ello, se han empleado una amplia gama de especies pertenecientes a diversas clases zoológicas destacando, entre todas ellas, el modelo rata. No obstante, los modelos animales también son objeto de controversia por las connotaciones éticas inherentes y porque frecuentemente los datos de seguridad obtenidos no son directamente extrapolables a la especie humana.8 Por ello, es deseable que el modelo animal sea seleccionado por su capacidad para predecir lo que pueda suceder en una persona, lo que implica que su anatomía y fisiología, incluyendo su desarrollo, los procesos metabólicos, las respuestas del sistema inmunitario y la composición del microbioma, sean lo más similares posibles a las nuestras. En este sentido, el cerdo es el modelo ideal[50,51] *a pesar de que plantea problemas de coste y espacio que frecuentemente obligan a optar por otras especies*.

Hasta la fecha, los estudios de toxicidad oral aguda, subcrónica y crónica de probióticos en modelos estándar (por ejemplo, ratas sanas) no han mostrado efectos adversos incluso cuando se han administrado a grandes dosis (hasta10.000 veces mayores que las consumidas normalmente en humanos) durante un periodo de tiempo prolongado.[8,52,53] Debido a esta baja o nula patogenicidad, algunos autores han recurrido al empleo de animales inmunodeprimidos o genéticamente predispuestos a padecer ciertas patologías para evaluar la seguridad de los probióticos aunque esta estrategia también ha sido cuestionada por la dificultad de extrapolar los resultados a una situación real. Otra alternativa a la que se ha recurrido para tratar de forzar la patogenicidad de los probióticos es su administración por rutas inusuales (intravenosa, intraperitoneal…). Nuevamente, son abordajes difíciles de validar ya que los resultados obtenidos no son, en absoluto, extrapolables a lo que sucede cuando la misma cepa se administra por vía oral53 Globalmente, aunque las distintas pruebas in vitro, ex vivo y en modelos animales pueden proporcionar información útil durante el proceso de selección de cepas, los únicos datos que permiten evaluar la seguridad de un probiótico de una forma directa son los que se obtienen en el curso de ensayos clínicos de fase 1, 2 y 3, correctamente diseñados y dirigidos específicamente a la población diana.

3.9. Funcionalidad

De forma similar a la evaluación de la seguridad, también existen numerosos ensayos in vitro, *ex vivo* e *in vivo* para detectar aquellas cepas que poseen propiedades funcionales relevantes. En mayor o menor medida, todos son útiles para disponer de la mayor información posible a la hora de hacer un escrutinio para seleccionar las cepas con mayor potencial probiótico pero, en la práctica, la mayor parte de los ensayos *in vitro* y *ex vivo* no permiten garantizar la funcionalidad de los microorganismos probióticos en un hospedador. Nuevamente, serán los ensayos clínicos (fase 2 y 3) los que determinen si un probiótico ejerce el efecto beneficioso que se esperaba sobre la población diana.[54]

Desde el punto de vista funcional, los criterios de selección suelen incluir, por una parte, una serie de prerrequisitos para que la cepa pueda alcanzar su lugar de acción en una concentración adecuada (habitante normal del hospedador diana, resistencia al tránsito por el aparato digestivo, capacidad de adhesión a las células epiteliales…) y, por otra, propiedades que pudieran asociarse a un efecto beneficioso en un hospedador (producción de sustancias antimicrobianas, exclusión competitiva de patógenos, estimulación de la síntesis de mucinas, producción de ácidos grasos de cadena corta, síntesis de compuestos bioactivos determinados, neutralización o detoxificación de carcinógenos y de contaminantes abióticos, inmunomodulación, endocrinomodulación, neuromodulación…).

3.9.1. Prerrequisitos

Tradicionalmente se recomendaba que las cepas probióticas se hubieran aislado de muestras de la misma especie a la que se le iban a administrar, basándose en la creencia de que las cepas de origen humano se implantarían o colonizarían el epitelio gastrointestinal humano con mayor facilidad que las aisladas de otras especies.[55,56] Sin embargo, el informe del grupo de trabajo FAO/OMS citado anteriormente concluyó que no existe un criterio definido para el término "origen humano"2 ya que, en muchos casos, resulta extraordinariamente difícil, sino imposible, conocer el origen último de una cepa (humano, animal, vegetal, alimentario…) a pesar de que haya sido aislada, por ejemplo, de una muestra de heces humanas. Igualmente señaló que existen diversos ejemplos de cepas probióticas que pertenecen a especies alóctonas pero con efectos beneficiosos documentados en humanos. Por todo ello, concluyó que, globalmente, la propiedad "*origen humano*" no constituye un criterio relevante en la selección de probióticos para su uso en nuestra especie.

Para que las cepas probióticas que se administran oralmente puedan ejercer sus efectos beneficiosos deben ser capaces de resistir las condiciones ambientales existentes durante el tránsito por el aparato digestivo (saliva, acidez gástrica, bilis, secreción pancreática…), teniendo en cuenta que la composición de las distintas secreciones, el tiempo de vaciado gástrico o la motilidad intestinal pueden variar dependiendo de la edad y del estado de salud del hospedador. Para determinar la resistencia, se puede recurrir a métodos in vitro como la acidificación y/o la adición de sales biliares al medio de cultivo, al empleo de secreciones gastrointestinales obtenidas de individuos sanos[57] o al uso de modelos dinámicos más sofisticados como los desarrollados por el TNO en Holanda.[58] La supervivencia de los probióticos durante su tránsito también se puede estudiar in vivo usando técnicas de intubación intestinal y biopsias del colon o analizando su presencia en las heces de personas o animales que los hayan ingerido, recurriendo a técnicas moleculares que permitan discriminarlas entre los miembros de la microbiota autóctona del anfitrión.

Un factor importante para la supervivencia de bacterias probióticas es el substrato o matriz con el que se vehiculan y, de hecho, los resultados obtenidos en medios de cultivo no son extrapolables a lo que sucede cuando las cepas se vehiculan mediante alimentos o encapsuladas.[59-61] Desde hace varios años se trabaja activamente en sistemas que permitan la máxima protección de las cepas probióticas durante su paso por el estómago y el duodeno, de tal manera que este criterio no suponga una limitación real.

Lo mismo es aplicable para la administración de probióticos por otras vías clásicas (vaginal) o emergentes (colirio oftalmológico, solución ótica, aplicación sobre la piel…) con relación a las condiciones específicas de cada ecosistema.

3.9.2. Propiedades probióticas propiamente dichas

Las propiedades funcionales por las que se seleccione un probiótico pueden ser tan amplias como nos permita nuestra imaginación, la tecnología y el presupuesto disponible. Por este motivo, la intención de este apartado no es la de ofrecer un catálogo completo de características potencialmente probióticas sino destacar la diversidad y complejidad de las alternativas existentes. Idealmente, sería necesario saber para qué se desea un probiótico y sobre qué población se pretende aplicar; de esta manera, se seleccionarían mediante las pruebas más adecuadas para poner de manifiesto las propiedades que se consideren más relevantes para conseguir el objetivo final.

Como se ha comentado anteriormente, la adhesión a las células epiteliales es una propiedad controvertida. Sin embargo, para muchos autores sigue siendo una característica clave para que una cepa colonice una mucosa y ejerza un efecto probiótico, que puede ir desde la exclusión competitiva de patógenos (al competir por los mismos receptores) hasta complejas interacciones neuroinmunológicas, pasando por la inducción de la biosíntesis de péptidos antimicrobianos o de mucinas por parte de las células epiteliales. En el proceso de adhesión están implicadas diversas proteínas de superficie, incluyendo proteínas de unión al mucus, y algunas estructuras específicas, como los pili descritos en algunas cepas de *Lactobacillus rhamnosus*. Los fenómenos de auto-agregación pueden aumentar sustancialmente la capacidad de colonización en aquellos ecosistemas en los que los probióticos tienen un tiempo de residencia corto.

Otra propiedad relevante de algunas cepas probióticas es la de coagregar con ciertos patógenos y, en consecuencia, impedir su acceso a las mucosas. El efecto antimicrobiano de la congregación es particularmente intenso cuando la misma cepa es capaz de producir sustancias antimicrobianas (ácido orgánicos, peróxido de hidrógeno, bacteriocinas, reuterina…) que inhiban al patógeno en cuestión.[62]

La integridad de las mucosas está influenciada por muchos factores, incluyendo los cambios en la permeabilidad, la composición de las mucinas, el estrés oxidativo o la relación entre la producción de nuevas células epiteliales y la tasa de apoptosis de las células epiteliales dañadas o envejecidas.

Diversos estudios han demostrado la capacidad de algunos probióticos para mantener o mejorar la función de barrera intestinal mediante la modificación de la expresión de las proteínas que forman parte de las zonas de oclusión (ocludina, ZO-1, claudina-1, claudina-4, JAM-A…), la modificación de la composición de monosacáridos de las mucinas, el aumento del grosor de la capa de mucus, la inhibición de los procesos de apoptosis y/o la promoción de la diferenciación celular y de actividades citoprotectoras, incluyendo la reducción del estrés oxidativo.[63]

El tejido linfoide asociado a las mucosas representa la parte mayoritaria del sistema inmunitario y su interacción con la microbiota constituye uno de los pilares de la salud. De hecho, los procesos de disbiosis de la microbiota endógena alteran las respuestas inmunitarias y contribuyen a la aparición de enfermedades infecciosas, inflamatorias y (auto)inmunes. Por ello, no es de extrañar que la capacidad de inmunomodulación sea una de las actividades que más se hayan asociado a los probióticos. En este sentido, se ha evaluado el efecto de diversas cepas sobre los distintos componentes tanto de la inmunidad innata (células NK, células dendríticas, macrófagos, células epiteliales…) como de la adaptativa o adquirida (células Th1, Th2, Th17, Treg, Tc y B), incluyendo la proliferación y expresión génica de diversas poblaciones de células del sistema inmunitario y la producción de un amplio espectro de inmunoglobulinas, citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento por parte de las mismas.64 No obstante, el proceso de selección tiene que tener en cuenta que el tipo de respuesta inmunológica asociada a un probiótico (inmunoactivación, inmunodesviación, inmunoregulación, inmunosupresión) puede ser positiva o negativa dependiendo del estado del hospedador. En consecuencia, para modular una inmunopatía en beneficio del hospedador se debe tener el mayor conocimiento posible sobre los mecanismos responsables de la patología y sobre las respuestas que se pueden esperar del probiótico. Por ello, la cepa debe ser cuidadosamente seleccionada dependiendo de la población a la que esté dirigida.

La neuromodulación es uno de los efectos más prometedores en el campo de los probióticos. El tracto gastrointestinal humano contiene una red nerviosa muy compleja, denominada sistema nervioso entérico, cuyo objetivo principal es la regulación de las funciones fisiológicas y la modulación de la comunicación entre el intestino y el sistema nervioso central, tanto en sentido ascendente (intestino-cerebro) como descendente (cerebro-intestino).[65] Este sistema de comunicación se conoce como el "eje intestino-cerebro" y sirve de coordinación entre el cerebro, el tracto gastrointestinal, el sistema endocrinológico y el sistema inmunitario. Las alteraciones en el "eje intestino-cerebro" suelen estar asociadas a ciertas patologías psiquiátricas (desde la ansiedad y la depresión hasta el autismo) e intestinales (síndrome de intestino irritable) y a la presencia de una microbiota aberrante en los individuos que las padecen.[66,67] En este sentido, se considera que los probióticos pueden tener un impacto importante para estas poblaciones aunque, nuevamente, será necesaria una cuidadosa selección de las cepas (interacción con receptores nerviosos, efectos en la biosíntesis y metabolismo de neurotransmisores…) y estudios que revelen la magnitud, mecanismos y relevancia clínica de los posibles efectos beneficiosos.

Existe un amplio y creciente espectro de pruebas fenotípicas para poner de manifesto propiedades probióticas mediante procedimientos *in vitro*. Además, la disponibilidad de un análisis funcional del genoma empleando las tecnologías de secuenciación de nueva generación[7,68] y las nuevas micromatrices funcionales69 han revolucionado el descubrimiento de propiedades potencialmente probióticas dentro de una cepa. Este abordaje permite un detallado análisis de genes implicados en la colonización, persistencia, interacción y señalización dentro del hospedador humano y, en consecuencia, una selección rápida de cepas con propiedades muy específicas.

3.9.3. Ensayos in vivo

Actualmente, los ensayos *in vivo* ofrecen la ventaja de poder aplicar una amplia gama de técnicas (desde las técnicas –ómicas hasta las técnicas avanzadas de imagen, pasando por las técnicas bioquímicas, de microbiología molecular y de biología celular) para intentar dilucidar los mecanismos de acción e identificar marcadores relacionados con los efectos beneficiosos (y, eventualmente, con los posibles efectos adversos) de un probiótico.

El empleo de modelos animales permite estudiar muestras, tejidos ý órganos a los que, por motivos éticos, es imposible acceder en ensayos clínicos humanos, por lo que siguen siendo imprescindibles para determinar mecanismos de acción y marcadores biomédicos.

La gama de modelos animales empleados hasta la fecha para poner de manifiesto la funcionalidad de los probióticos *in vivo* es amplísima, tanto en especies animales (que incluyen nematodos, insectos, anfibios, peces, aves y mamíferos), en tipos de animales dentro de una especie determinada (razas, estados fisiopatológicos, animales libres de gérmenes, animales con una microbiota o sistema inmunitario "humanizado", animales knock-out…).

A pesar de su indudable utilidad, las diferencias anatómicas y fisiológicas (procesos metabólicos, respuestas inmunológicas y endocrinológicas, composición del microbioma…) entre los modelos animales y la especie humana hace que sean los ensayos clínicos humanos los que finalmente determinen la eficacia del probiótico para la diana elegida. Previamente, los estudios humanos descriptivos en los que se comparan muestras de personas sanas y de personas con distintas patologías son extremadamente útiles para determinar los marcadores que hay que incluir en los ensayos clínicos. La definición de probiótico contiene la palabra "*beneficio*" y, en este sentido, el objetivo de los ensayos clínicos es determinar científicamente si realmente se produce y su magnitud.

Los ensayos clínicos en los que se evalúa la eficacia son, típicamente, los de fase 2 y fase 3. Los estudios de fase 2 evalúan la eficacia de un probiótico frente a un placebo, preferentemente en formato de doble ciego, y recogen los posibles efectos adversos. El resultado deseable sería una mejora biológica y estadísticamente significativa en alguno(s) de los siguientes aspectos: bienestar o calidad de vida, reducción del riesgo de enfermedad, recuperación más rápida de una enfermedad, sintomatología más suave durante una enfermedad y/o aumento del tiempo de recurrencia. Se necesitan más evidencias clínicas derivadas de este tipo de estudios para que los probióticos (especie, cepa, formulación, dosis, aplicación específica para la que ha mostrado eficacia) ganen credibilidad entre los consumidores y, especialmente, entre la comunidad médica, independientemente de que se comercialicen en forma de alimentos o presentaciones medicamentosas.

Los estudios de fase 3 evalúan la eficacia de un probiótico frente a la terapia estándar empleada para prevenir o tratar una enfermedad determinada.70 En general, son ensayos ciegos y aleatorizados en los que el tamaño de la muestra debe ser calculado cuidadosamente y en los que se debe incluir los posibles efectos adversos e incidencias, una evaluación de la relación riesgo:beneficio y una serie de controles para comprobar la calidad del ensayo. Sería deseable la realización de más estudios de fase 3 para fomentar el uso de los probióticos en la prevención y tratamiento de enfermedades en aquellos casos en los que puedan reemplazar o complementar a los medicamentos convencionales. En la actualidad, existen varios factores que hacen que cada vez más médicos consideren la posibilidad de emplear probióticos como alternativa a ciertos medicamentos, entre los que destaca el creciente número de las (multi)resistencias a los antibióticos entre los microorganismos patógenos.

El grupo de trabajo de la FAO y la OMS recomendó la publicación en revistas científicas o médicas reconocidas internacionalmente, tanto de la documentación que demuestre el carácter probiótico de una cepa (incluyendo la evidencia de los ensayos clínicos) como la de aquellos casos en los que se obtengan resultados negativos.[2]

4. ASPECTOS TECNOLÓGICOS

El hecho de que una cepa bacteriana crezca bien en condiciones laboratoriales (pequeños volúmenes, medios de cultivo complejos…) no significa, ni mucho menos, que vaya a suceder lo mismo en condiciones industriales. En este sentido, las empresas que comercializan o desean comercializar probióticos se enfrentan a dos retos tecnológicos importantes: (1) la necesidad de obtener una biomasa bacteriana muy elevada de forma económicamente viable; y (2) la necesidad de que la concentración de bacterias necesaria para ejercer el efecto beneficioso se mantenga viable hasta el final de la vida útil del producto.

Ambos aspectos están relacionados con las características fisiológicas de cada cepa por lo que las condiciones deben establecerse caso a caso. Además, la viabilidad también depende del formato en el que se vayan a administrar las bacteria ya que, por ejemplo, la vida útil de los productos lácteos probióticos refrigerados es notablemente más corta que la de los productos liofilizados que se venden con una presentación medicamentosa (cápsula, polvo…). A su vez, dentro de los productos liofilizados existen diversos parámetros (concentración de oxígeno,

humedad, temperatura de almacenamiento…) y formatos (microencapsulación, recubrimientos...) que juegan un papel importante en la estabilidad del producto. En cualquier caso, resulta inevitable que una mayor o menor tasa de bacterias mueran o resulten dañadas durante el proceso productivo o el almacenamiento del producto probiótico y, en este sentido, las empresas suelen recurrir a la sobredosificación inicial del probiótico, de tal manera que se conserve la dosis eficaz al final de su vida útil.

Las empresas que se dedican al desarrollo de probióticos (incluyendo el escalado industrial y los estudios de viabilidad) suelen organizar su trabajo en forma de etapas con un grado creciente de dificultad en las que es absolutamente necesario que se alcancen los objetivos de una fase para poder pasar a la siguiente. La primera etapa suele consistir en: (a) el depósito de la cepa en el banco de la empresa y la comprobación de su identidad (especie); y (b) la evaluación de su capacidad fermentativa (producción, limosidad, morfología…) a pequeña escala en mini-biorreactores o mini-fermentadores que simulen las condiciones de los fermentadores de planta (temperatura, pH, agitación…).

La segunda fase consiste en el escalado a producciones en planta piloto para evaluar la productividad antes y después del proceso de liofilización y el estudio de la estabilidad a los tres meses. En general, el objetivo es que el producto sea estable (pérdida ≤ 0,2 log ufc) en una mezcla de celulosa (u otro excipiente) envasada en sobres de papel de aluminio almacenados a una actividad de agua constante (<0,2) y a una temperatura de 25°C. En la siguiente fase, se determina el flujo de trabajo para que el probiótico entre en fase de producción. Tras la primera producción, se define el precio sobre la base del perfil del producto (ufc/g) y se completa la validación analítica de la mezcla. El objetivo final es la liberación del producto mientras que continúan los estudios de estabilidad a largo plazo (dos años), tanto en refrigeración como a temperature ambiente (~25ºC). En general, se pretende que el procedimiento de producción permita disponer de un producto con una elevada concentración (>5 x 10^{10} ufc/g) que, una vez dosificado en los envases finales, tenga una vida útil prolongada a temperatura ambiente. En los casos en los que no es posible, el producto se tiene que conservar en refrigeración hasta su venta.

En cualquier caso, resulta imprescindible la aplicación de los principios del sistema APPCC (Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos) y de buenas prácticas de fabricación para garantizar que los productos probióticos llegan al consumidor con la máxima calidad posible. El control de calidad debe contemplar la presencia de las cepas a la concentración adecuada, su viabilidad y estabilidad y la posible contaminación del producto final con otros microorganismos, empleando para ello las técnicas dependientes e independientes de cultivo más adecuadas en cada caso.[27] Es recomendable que las empresas que comercializan probióticos hagan controles de los productos de la competencia en el marco de la protección de cepas patentadas y de los derechos de propiedad industrial.

Cuando una empresa introduce un probiótico en el mercado, debería asegurar que el producto está bien etiquetado. En este sentido, el comité de expertos de la FAO/WHO[2] recomendó que en la etiqueta de cualquier producto que contenga probióticos se recoja la siguiente información: (1) género, especie y cepa; (2) dosis mínima de microorganismos viables al final de la vida útil; (3) cantidad necesaria de producto que se debe consumir para conseguir la dosis efectiva; (4) efecto(s) beneficioso(s); (5) condiciones de almacenamiento; y (6) forma de contacto con el servicio de atención al cliente. Es de esperar que, en un futuro próximo, la EFSA flexibilice su política de rechazo sistemático de las alegaciones de salud que se han solicitado hasta la fecha para cepas probióticas para las que existen evidencias científicas contrastadas.

5. ASPECTOS COMERCIALES

La opinión del departamento comercial de una empresa alimentaria o farmacéutica resulta fundamental a la hora de tomar una decisión sobre el desarrollo industrial y la eventual puesta en el mercado de un probiótico. Las funciones de dicho departamento incluyen, entre otras, los estudios de mercado (que permiten detectar aquellas necesidades de los consumidores que puedan ser rentables), la promoción y publicidad del producto, las ventas y el servicio post-venta. Normalmente, son actividades que implican una interacción constante con los departamentos de producción, financiero y de recursos humanos.

En general, se suelen identificar tres figuras con relación a la decisión de compra: el *prescriptor* (profesional que recomienda el producto y cuya opinión es valorada por el consumidor; por ejemplo, médico o farmacéutico), el *comprador* (persona que adquiere el producto pero que no tiene por qué coincidir con el consumidor; por ejemplo, los padres que compran un probiótico indicado para cólico del lactante) y el *consumidor*. Por otra parte, resulta importante conocer la segmentación de mercado, bien por sexo (por ejemplo, probióticos para infecciones vaginales o para mastitis), por edad (por ejemplo, probióticos pediátricos), por nivel de ingresos, etc. Las campañas de marketing básicamente se suelen enfocar, como en cualquier otro tipo de producto, en distintos elementos: las características del producto (incluyendo el envase), su precio, la distribución o disponibilidad y el servicio post-venta. Normalmente, el ciclo de vida de un producto comprende las etapas de *introducción o lanzamiento* (salida al mercado de un nuevo producto; se producen ventas pero el saldo puede llegar a ser negativo ya que implica un gasto de promoción notable), *crecimiento* (el producto empieza a ser conocido, las ventas experimentan un fuerte crecimiento y los beneficios también) y *madurez* (la velocidad de crecimiento de las ventas comienza a estabilizarse y los beneficios hacen lo propio). Eventualmente, puede existir una etapa de *declive o saturación* (caída considerable de ventas y beneficios), en la que se puede intentar relanzar el producto introduciendo alguna innovación.

La determinación del precio se puede basar en los costes, en la elasticidad de la demanda, en los precios que fija la competencia para productos similares, etc. En general, los productos probióticos disponibles en farmacias y parafarmacias no están cubiertos por el sistema público de salud por lo que suelen tener un coste final elevado (~1 €/cápsula, sobre u óvulo). Este hecho propicia que un porcentaje relativamente elevado de usuarios potenciales no tenga acceso a ellos, especialmente cuando se requiere un tratamiento prolongado. En el futuro, la mayor disponibilidad de resultados basados en ensayos clínicos bien diseñados y ciertos cambios normativos podrían variar la situación.

La política de distribución permite que el producto se encuentre en el lugar y en el momento adecuado para poder ser adquirido por el consumidor. En general, el proceso que sigue el producto desde que sale de la cadena de producción hasta que llega a manos del cliente es el siguiente: almacenamiento del producto, distribución física, facturación y cobro. El canal de distribución es cualquiera de los medios (establecimientos alimentarios, farmacias, parafarmacias...) que se utilizan para conseguir que los productos recorran el camino desde el productor hasta el consumidor. Existen diversas modalidades de promoción del producto, incluyendo la publicidad, la promoción de las ventas, las relaciones públicas y el merchandising o publicidad en el lugar de venta.

Finalmente, es muy importante la interacción entre los investigadores y clínicos que aislaron y evaluaron la(s) cepa(s) probiótica(s) y la empresa que la(s) comercializa, especialmente con relación al apoyo que los primeros pueden ofrecer en forma de presentaciones en reuniones, congresos y publicaciones especializadas o en forma de información divulgativa para un público más amplio.

Agradecimientos

Este trabajo fue sido auspiciado por la Sociedad Española de Probióticos y Prebióticos (SEPyP) y su contenido se corresponde básicamente con el de la ponencia homónima presentada en el *VI Workshop Probióticos, Prebióticos y Salud. Evidencia Científica* (SEPyP, Oviedo, 5 y 6 de febrero de 2015).

6. REFERENCIAS

1. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. WHO 2001.

2. Food and Agricultural Organization of the United Nations and World Health Organization. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO 2002.

3. Guarner F, Requena T, Marcos A. Consensus statements from the Workshop "Probiotics and Health: Scientific evidence". Nutr Hosp 2010; 25: 700-704.

4. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2014; 11: 506-514.

5. EFSA. Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). EFSA J 2013; 11: 3449.
6. Huys G, Vancanneyt M, D'Haene K, Vankerckhoven V, Goossens H, Swings J. Accuracy of species identity of commercial bacterial cultures intended for probiotic or nutritional use. Res Microbiol 2006; 157: 803-810.
7. Douillard FP, de Vos WM. Functional genomics of lactic acid bacteria: from food to health. Microb Cell Fact 2014; 13 Suppl 1: S8.
8. Sanders ME, Akkermans LM, Haller D, Hammerman C, Heimbach J, Hörmannsperger G, et al. Safety assessment of probiotics for human use. Gut Microbes 2010; 1: 164-185.
9. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danziger LH. Pathogenic relevance of Lactobacillus: a retrospective review of over 200 cases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24: 125-126.
10. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? Am J Clin Nutr 2006; 83: 1256-1264.
11. Salminen MK, Tynkkynen S, Rautelin H, Saxelin M, Vaara M, Ruutu P, et al. Lactobacillus bacteremia during a rapid increase in probiotic use of Lactobacillus rhamnosus GG in Finland. Clin Infect Dis 2002; 35: 1155-1160.
12. Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeir J, Vaara M, et al. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. Clin Infect Dis 2003; 36: 775-780.
13. Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, Gueguen M. Safety assessment of dairy microorganisms: the Lactobacillus genus. Int J Food Microbiol 2008; 126:278-285.
14. Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H, Pietarinen I, Saxelin M, Tynkkynen S, et al. Liver abscess due to a Lactobacillus rhamnosus strain indistinguishable from L. rhamnosus strain GG. Clin Infect Dis 1999; 28: 1159-1160.
15. Mackay AD, Taylor MB, Kibbler CC, Hamilton-Miller JM. Lactobacillus endocarditis caused by a probiotic organism. Clin Microbiol Infect 1999; 5: 290-292.
16. Hennequin C, Kauffmann-Lacroix C, Jobert A, Viard JP, Ricour C, Jacquemin JL, et al. Possible role of catheters in Saccharomyces boulardii fungemia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2000; 19: 16-20.
17. Oggioni MR, Pozzi G, Valensin PE, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of Bacillus subtilis. J Clin Microbiol 1998; 36: 325-326.
18. Spinosa MR, Braccini T, Ricca E, De Felice M, Morelli L, Pozzi G, et al. On the fate of ingested Bacillus spores. Res Microbiol 2000; 151: 361-368.
19. Bernardeau M, Guguen M, Vernoux JP. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. FEMS Microbiol Rev 2006; 30: 487-513.
20. Snydman DR. The safety of probiotics. Clin Infect Dis 2008; 46: 104-111.
21. Trois L, Cardoso EM, Miura E. Use of probiotics in HIV-infected children: a randomized double-blind controlled study. J Trop Pediatr 2008; 54: 19-24.
22. AlFaleh K, Anabrees J. Efficacy and safety of probiotics in preterm infants. J Neonatal Perinatal Med 2013; 6: 1-9.
23. Moles L, Escribano E, Andrés J, Montes MT, Rodríguez JM, Jiménez E, et al. Administration of Bifidobacterium breve PS12929 and Lactobacillus salivarius PS12934, two strains isolated from human milk, to very low and extremely low birth weight preterm infants: a pilot study. J Immunol Res, doi: 10.1155/2014/538171.
24. Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, et al. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2008; 37: 651-659.
25. Ammori BJ. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis. Pancreas 2003; 26: 122-129.
26. Vesterlund S, Vankerckhoven V, Saxelin M, Goossens H, Salminen S, Ouwehand AC. Safety assessment of Lactobacillus strains: presence of putative risk factors in faecal, blood and probiotic isolates. Int J Food Microbiol 2007; 116: 325-331.
27. Huys G, Botteldoorn N, Delvigne F, De Vuyst L, Heyndrickx M, Pot B, et al. Microbial characterization of probiotics-advisory report of the Working Group 8651 Probiotics of the Belgian Superior Health Council (SHC). Mol Nutr Food Res 2013; 57: 1479-504.
28. Perez PF, Doré J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, Segura-Roggero I, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 2007; 119: e724-e732.
29. Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria: is there a bacterial entero-mammary pathway during late pregnancy and lactation? Adv Nutr 2014; 5: 779-784.
30. Franz CM, Muscholl-Silberhorn AB, Yousif NM, Vancanneyt M, Swings J, Holzapfel WH. Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. Appl Environ Microbiol 2001; 67: 4385-4389.
31. Eaton TJ, Gasson MJ. Molecular screening of Enterococcus virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. Appl Environ Microbiol 2001; 67: 1628-1635.
32. Duc le H, Hong HA, Barbosa TM, Henriques AO, Cutting SM. Characterization of Bacillus probiotics available for human use. Appl Environ Microbiol 2004; 70: 2161-2171.
33. ISAPP. Annual Report. International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics. http://www.isapp.net/Portals/0/docs/Annual%20Reports/annual_report_2003.pdf, 2003.
34. Connolly E, Lönnerdal B. D(–)-lactic acid-producing bacteria: safe to use in infant formulas. Nutrafoods 2004; 3: 37-49.
35. Connolly E, Abrahamsson T, Bjorksten B. Safety of D(–)-lactic acid producing bacteria in the human infant. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2005; 41: 489-492.
36. Uribarri J, Oh MS, Carroll HJ. D-lactic acidosis. A review of clinical presentation, biochemical features, and pathological mechanisms. Medicine 1998; 77: 73-82
37. Hove H. Lactate and short chain fatty acid production in the human colon: implications for D-lactic acidosis, short bowel syndrome, antibiotic-associated diarrhoea, colon cancer and inflammatory bowel disease. Dan Med Bull 1998; 45: 15-33
38. Fernández M, Álvarez MA. Las aminas biógenas en los alimentos. AgroCSIC 2005; http://digital.csic.es/bitstream/10261/5771/1/IPLA_AGROCSIC_2.pdf
39. Klare I, Konstabel C, Müller-Bertling S, Reissbrod R, Huys G, Vancanneyt M, et al. Evaluation of new broth media for microdilution antibiotic susceptibility testing of lactobacilli, pediococci, lactococci, and bifidobacteria. Appl Environl Microbiol 2005; 71: 8982-8986.
40. Klare I, Konstabel C, Werner G, Huys G, Vankerckhoven V, Kahlmeter G, et al. Antimicrobial susceptibilities of Lactobacillus, Pediococcus and Lactococcus human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. J Antimicrob Chemother 2007; 59: 900-912.
41. EFSA. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importante. EFSA J 2012; 10: 2740
42. Ammor MS, Flórez AB, Mayo B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiol 2007; 24: 559-570.
43. Devirgiliis C, Barile S, Perozzi, G. Antibiotic resistance determinants in the interplay between food and gut microbiota. Genes Nutr 2011; 6: 275-284.
44. van Reenen CA, Dicks LM. Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. Arch Microbiol 2011; 193: 157-168.
45. O'Hara AM, Shanahan F The gut flora as a forgotten organ. EMBO Rep 2006; 7: 688-693.
46. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. Lancet 2003; 361: 1869-1871.
47. Kruis W, Fric P, Pokrotnieks J, Lukás M, Fixa B, Kascák M, et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic Escherichia coli Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut 2004; 53: 1617-1623.
48. Moneret-Vautrin DA, Morisset M, Cordebar V, Codreanu F, Kanny G. Probiotics may be unsafe in infants allergic to cow's milk. Allergy 2006; 61: 507-508.
49. Lee TT, Morisset M, Astier C, Moneret-Vautrin DA, Cordebar V, Beaudouin E, et al. Contamination of probiotic preparations with milk allergens can cause anaphylaxis in children with cow's milk allergy. J Allergy Clin Immunol 2007; 119: 746-747.
50. Patterson JK, Lei XG, Miller DD. The pig as an experimental model for elucidating the mechanisms governing dietary influence on mineral absorption. Exp Biol Med 2008; 233: 651-654.
51. Pang X, Hua X, Yang Q, Ding D, Che C, Cui L, et al. Inter-species transplantation of gut microbiota from human to pigs. ISME J 2007; 1: 156-162.
52. Momose H, Igarashi M, Era T, Fukuda Y, Yamada M, Ogasa K. Toxicological studies on Bifidobacterium longum BB536. Appl Pharmacol 1979; 17: 881-887.
53. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. Am J Clin Nutr 2001; 73: 465-470.
54. Reid R, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 658–672.
55. Holzapfel WH, Haberer P, Snell J, Schillinger U, Huis in't Veld J. Overview of gut flora and probiotics. Int J Food Microbiol 1998; 41: 85-101.
56. Ouwehand AC, Kirjavainen PV, Shortt C, Salminen S. Probiotics: mechanisms and established effects. Int Dairy J 1999; 9: 43-52.
57. Fernández L, Marín ML, Langa S, Martín R, Reviriego C, Fernández A, et al. A novel genetic label for detection of specific probiotic lactic acid bacteria. Food Sci Tech Int 2004; 10: 101-108.

58. Marteau P, Minekus M, Havenaar R, Huis in't Veld JHJ. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and mall intestine: validation and the effects of bile. J Dairy Sci 1997; 80: 1031-1037.
59. Saxelin M, Ahoras M, Salminen S. Dose response on the faecal colonization of Lactobacillus strain GG administered in two different formulations. Microbiol Ecol Health Dis 1993; 6: 119-122.
60. Saxelin M, Pessi T, Salminen S. Fecal recovery following oral administration of Lactobacillus strain GG (ATCC 53103) in gelatine capsules to healthy volunteers. Int J Food Microbiol 1995; 25: 199-203.
61. Charteris W, Kelly P, Morelli L, Collins. Development and application of an in vivo methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in the upper human gastrointestinal tract. J Appl Microbiol 1998; 84: 759-768.
62. Boris S, Suárez JE, Vázquez F, Barbés C. Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. Infect Immun 1998; 66: 1985-1989.
63. Howarth GS, Wang H. Role of endogenous microbiota, probiotics and their biological products in human health. Nutrients 2013; 5: 58-81.
64. Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey AD. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. Nutrients 2013; 5: 1869-1912.
65. Mayer EA. Gut feelings: the emerging biology of gut-brain communication. Nat Rev Neurosci 2011; 12: 453-466.
66. Critchfield JW, Van Hemert S, Ash M, Mulder L, Ashwood P. The potential role of probiotics in the management of childhood autism spectrum disorders. Gastroenterol Res Pract 2011; 2011: 161358.
67. Saulnier DM, Ringel Y, Heyman MB, Foster JA, Bercik P, Shulman RJ, et al. The intestinal microbiome, probiotics and prebiotics in neurogastroenterology. Gut Microbes 2013; 4: 17-27.
68. Saulnier DM, Santos F, Roos S, Mistretta TA, Spinler JK, Molenaar D, et al. Exploring metabolic pathway reconstruction and genome-wide expression profiling in Lactobacillus reuteri to define functional probiotic features. PLoS One 2011; 6 :e18783.
69. Tu Q, He Z, Li Y, Chen Y, Deng Y, Lin L, et al. Development of HuMiChip for functional profiling of human microbiomes. PLoS One 2014; 9: e90546.
70. Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. Clin Infect Dis 2010; 50: 1551-1558.

TRANSMISIÓN DE MICROORGANANISMOS MADRE-HIJO. IMPLICACIONES PARA LA SALUD INFANTIL.

Juan Miguel Rodríguez Gómez
Dpto. Nutrición y Ciencias de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid

1. EL CONCEPTO "HOLOBIONTE" APLICADO A LOS NIÑOS

Cada persona es un holobionte, es decir, un conjunto formado por un organismo multicelular complejo -animal o planta- y todos sus microorganismos asociados, que actúa como un ecosistema bajo una selección continua para minimizar el conflicto entre los miembros individuales (Bordenstein y Theis, 2015). El concepto de holobionte no considera a los "macrobios" como individuos autónomos sino como unidades biológicas altamente organizadas, que no solo consisten en todo el arsenal de células eucarióticas que forma el cuerpo del huésped, sino que también incluye la microbiota contenida en o dentro del huésped (Bosch yMcFall-Ngai, 2011; Gilbert et al., 2012).

En este contexto, la variación genética entre los hologenomas, es decir, el contenido genético combinado del huésped y su microbiota asociada, puede ocurrir debido a cambios en el genoma del huésped o en los genomas de los microorganismos simbióticos (Zilber-Rosenberg y Rosenberg, 2008; Rosenberg et al., 2010) En general, los microbiomas (y, en consecuencia, los fenotipos que codifican) pueden cambiar mediante la variación en la abundancia relativa de microorganismos específicos, mediante la modificación de los genomas de los microorganismos residentes, o mediante la pérdida o ganancia de simbiontes. Curiosamente, la variación genética que puede ocurrir dentro de un microbioma excede en gran medida la del genoma del huésped, mientras que también se desarrolla mucho más rápidamente en comparación con el genoma del huésped. Por lo tanto, es difícil entender la evolución humana sin tener en cuenta al microbioma.

El establecimiento de la microbiota intestinal del niño es un proceso particularmente importante para la salud del huésped (Lim et al., 2016). Las alteraciones en la composición de la microbiota intestinal durante la vida neonatal (primer mes de vida) y durante la infancia (desde el mes hasta los dos años de edad) se han asociado con trastornos pediátricos y con diversas enfermedades durante la vida adulta (Rautava et al., 2012). Esta noción explica la necesidad de una comprensión profunda de la composición y desarrollo de la microbiota infantil, las interacciones de los miembros de la microbiota entre sí y su huésped infantil, y los mecanismos por los cuales dichas interacciones mantienen la homeostasis intestinal.

2. ESTABLECIMIENTO Y DESARROLLO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL INFANTIL

2.1. Colonización microbiana del intestino del neonato

La colonización del intestino del neonato representa el ensamblaje de novo de una comunidad microbiana compleja (Costello et al., 2012). Hasta hace pocos años, se pensaba que este proceso comenzaba durante el nacimiento. Sin embargo, y como se presentará más adelante, cada vez hay más evidencias científicas de la existencia de comunidades microbianas en la placenta, el cordón umbilical y el líquido amniótico durante embarazos totalmente fisiológicos.

El desarrollo y la maduración de la microbiota intestinal es un proceso dinámico y no aleatorio, en el que tienen lugar interacciones positivas y negativas entre taxones microbianos clave (Avershina et al., 2013; Avershina et al., 2016). Este proceso está influenciado por diversos factores (Munyaka et al., 2014; Rodríguez et al., 2015), incluyendo factores perinatales, como el modo de parto, el tipo de alimentación o el uso de antibióticos. Otros factores, como la dieta, la edad y estado metabólico de la madre, la genética familiar o el estilo de vida, también ejercen una influencia notable en el proceso de adquisición y desarrollo de la microbiota infantil, aunque son más difíciles de determinar y cuantificar. En cualquier caso, se considera que las condiciones ideales para el establecimiento de una microbiota neonatal normal son las siguientes: (a) embarazo a término, carente de infecciones y con peso bien ajustado a la edad gestacional; (b) parto vaginal no medicado; (c) contacto precoz con la madre; (d) lactancia materna siguiendo las recomendaciones de la OMS; y (e) alta hospitalaria en los primeros tres días posparto. En la práctica hay muchas situaciones que no responden a estas características ideales. A continuación se describen con más detalle algunos de los factores que parecen influir más en el proceso de colonización inicial.

2.1.1. Forma de nacimiento

Los niños que nacen por vía vaginal entran en contacto con la microbiota vaginal y fecal materna, lo que propicia la colonización del intestino neonatal por microbios asociados con dichas fuentes, como Lactobacillus y Prevotella (Biasucci et al., 2010; Domínguez-Bello et al., 2010). Por el contrario, los que nacen por cesárea no están expuestos directamente a los microbios vaginales e intestinales maternos y, por lo tanto, son más propensos a ser colonizados por microorganismos procedentes de la etapa fetal, de la piel materna o de otras fuentes, como el entorno hospitalario (Biasucci et al., 2010; Domínguez-Bello et al., 2010; Rodríguez et al., 2015; Backhed et al., 2015; Bokulich et al., 2016). En general, se considera que la microbiota intestinal de los niños nacidos por cesárea se establece de una forma anómala con respecto a la de los nacidos por vía vaginal (Penders et al., 2006; Adlerberth et al., 2007; Neu y Rushing, 2011; Backhed et al., 2015; Del Chierico et al., 2015; Bokulich et al., 2016; Hill et al., 2017). Este hecho se puede deber no sólo a la propia ruta de nacimiento sino también a dos factores frecuentemente asociadas a los nacimientos por cesarea: una mayor de antibioterapia y una menor edad gestacional. Sin embargo, existen datos contradictorios sobre el periodo de tiempo que debe trascurrir para que la microbiota intestinal de los nacidos por cesárea se asemeje a la los nacidos vaginalmente. Así, mientras que algunos autores han señalado que las diferencias se pueden mantener durante los primeros 12 meses de vida (Backhed et al., 2015; Martín et al., 2016) e, incluso en algunos casos hasta los siete años (Salminen et al., 2004), un estudio muy reciente no pudo encontrar ningún efecto significativo más allá del período neonatal inmediato (Chu et al., 2017).

2.1.2. Edad gestacional al nacer

La edad gestacional es otro factor importante en el establecimiento inicial de la microbiota intestinal. La duración del embarazo se considera normal cuando el parto se produce entre las semanas 37 y 42 de gestación ("*parto a término*"). Cuando el niño nace antes de las 37 semanas se le llama "*prematuro*" o "*pretérmino*", términos que, aunque poseen matices distintos, se utilizan indistintamente en la práctica. En general, los órganos y sistemas (respiración, control de temperatura, digestión, metabolismo, etc.) del niño prematuro son inmaduros en comparación con los del niño a término, por lo que necesitan apoyo adicional para sobrevivir fuera del útero materno y, en consecuencia, suelen ingresar en una unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN).

Los niños prematuros tienen una experiencia postnatal muy distinta, en general, que la de aquellos nacidos a término. Nacen tras rotura prematura o prolongada de membranas, suelen recibir antibióticos y otros medicamentos, están inmersos en un ambiente hospitalario durante periodos relativamente prolongados, tienen retrasado el comienzo de la alimentación enteral (y, cuando se inicia, puede no ser con la leche de la propia madre), poseen una barrera gástrica alterada y, con cierta frecuencia, sus madres sufren infecciones o disbiosis microbianas en la cavidad oral, tracto gastrointestinal o en el ámbito genitourinario (Dial, 2009).

Por lo que respecta al intestino (y siempre en compración con los niños nacidos a término), los niños prematuros muestran una menor capacidad de absorción de nutrientes, una barrera intestinal alterada y un sistema inmunitario mal regulado. En esta situación, el epitelio intestinal carece de varios de los mecanismos de protección y, en consecuencia, es mucho más susceptible a ser invadido por parte de algunos miembros de la microbiota; este hecho induce la producción de citoquinas proinflamatorias que, a su vez, comprometen aún más a los mecanismos de defensa intestinal.

El desequilibrio entre la lesión de las células epiteliales y su reparación conduce a un círculo vicioso de mala digestión, invasión bacteriana, activación inmunológica e inflamación (Siggers et al., 2011).

Todos estos factores conducen a una alteración en el establecimiento de la microbiota intestinal, que se ha llegado a describir como aberrante. En general, estas alteraciones se caracterizan por un aumento en la prevalencia de bacterias potencialmente patógenas, una alta variabilidad entre los individuos y una menor diversidad microbiana con respecto a los recién nacidos a término (Chang et al., 2011; Jacquot et al., 2011; Moles et al., 2015). La microbiota de los niños prematuros suele ser fluctuante y muestra una disminución de lactobacilos y de anaerobios estrictos, como *Bifidobacterium* y *Bacteroides*, y un aumento de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* (Magne et al., 2006; Rougé et al., 2009; Jacquot et al., 2011; LaTuga et al., 2011; Barrett et al., 2013). Al nivel de filo, la microbiota de estos niños está dominada por bacterias del filo *Proteobacteria* durante su primer mes de vida (Mshvildadze et al., 2010; Chang et al., 2011; Jacquot et al., 2011; Mshvildadze et al., 2011; Cilieborg et al., 2012; Madan et al., 2012). La alteración en la composición de la microbiota conlleva cambios metabólicos en el hospedador y, de hecho, la concentración de ácidos grasos de cadena corta es menor en las heces de los prematuros que en la de los recién nacidos a término (Szylit et al., 1998; Favre et al., 2002; Arboleya et al., 2012).

La evolución de la microbiota en la primera semana de vida se caracteriza por la dominancia de los géneros *Staphylococcus* y *Enterococcus* (Gewolb et al., 1999; Magne et al., 2006; Rougé et al., 2009; Jacquot et al., 2011; Moles et al., 2013). Estas poblaciones se mantienen a concentraciones relativamente altas y constantes durante, al menos, el primer mes de vida del prematuro. Hacia el cuarto día posparto, se empieza a detectar en heces la presencia de diversos miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (fundamentalmente de los géneros *Escherichia, Klebsiella, Serratia y Enterobacter*) y su concentración aumenta progresivamente a lo largo del primer mes (Moles et al., 2013; Moles et al., 2015).

Durante ese mismo periodo, el aislamiento de especies de los géneros Lactobacillus y *Bifidobacterias* es muy infrecuente y en algunos trabajos sólo se detecta su presencia en aquellos niños prematuros que reciben leche de su propia madre y que, a diferencia de la leche donada, no ha sido pasteurizada previamente (Schwiertz et al., 2003). El empleo de técnicas independientes de cultivo permite detectar ADN perteneciente a especies de ambos géneros en un número mayor de muestras aunque en un porcentaje claramente inferior al observado en niños nacidos a término (Rougé et al., 2009). En cualquier caso, se observa un aumento paulatino de la detección de secuencias de las familias *Bifidobacteriaceae, Comamonadaceae, Propionibacteriaceae, Streptococcaceae* y, sobre todo, *Lactobacillaceae* en los primeros días de vida (Arboleya et al., 2015). Sin embargo, su frecuencia disminuye drásticamente hacia la primera semana, coincidiendo con el aumento de las familias *Enterobacteriaceae* y *Micrococcaceae*. La dominancia de las enterobacterias y la escasez de ciertos anaerobios estrictos, como los del género *Bacteroides*, se mantiene durante los tres primeros meses (Sakata et al., 1999; Arboleya et al., 2015). Otros anaerobios descritos en la microbiota del prematuro son *Clostridium* y *Veillonella*. Estos géneros aparecen en concentraciones bajas después de la segunda y sexta semana de vida, respectivamente, y posteriormente sus concentraciones crecen de forma progresiva. En general, se considera que la colonización del niño prematuro con bacterias anaerobias estrictas sufre un retraso considerable con respecto a la pauta observada en niños nacidos a término (Magne et al., 2006; Jacquot et al., 2011; Arboleya et al., 2015).

Los antibióticos son el medicamento más frecuentemente administrado a los prematuros en las UCIN. En muchas ocasiones, se emplean de forma empírica para prevenir infecciones o para el tratamiento de posibles infecciones subclínicas, con la finalidad de anticiparse a acontecimientos que pueden poner en riesgo la vida del prematuro. Habitualmente se emplean mezclas de antibióticos de amplio espectro durante 2-3 días. El historial y evolución de cada recién nacido puede prolongar su administración a 5 o más días. La antibioterapia empírica no está exenta de riesgos para la salud a corto y largo plazo, entre los que se incluyen el aumento de resistencias a antibióticos que pueden ser fundamentales en casos de sepsis, el aumento de infecciones fúngicas y por estafilococos coagulasa-negativos en las UCIN y, especialmente, la alteración del patrón de colonización en un periodo que resulta crítico para la maduración intestinal e inmunológica (Kuppala et al., 2012; Greenwood et al., 2014). Globalmente, el uso prolongado de antibióticos se ha asociado con la disminución de la diversidad microbiana, el aumento de la presencia de enterobacterias en las primeras semanas de vida, incluyendo clones de alto riesgo, y el retraso en la colonización por *Bifidobacterium* y *Bacteroides* (Greenwood et al., 2014; Arboleya et al., 2015). Las alteraciones causadas en la microbiota intestinal pueden predisponer al prematuro al desarrollo de algunas de las patologías más frecuentes y preocupantes en esta población, como la enterocolitis necrotizante y las sepsis (Wang et al., 2009; Madan et al., 2012). Por ese motivo, la antibioterapia empírica constituye actualmente una práctica controvertida, con defensores y detractores, pero que debería ser reconsiderada en el contexto actual de la emergencia de bacterias resistentes a antibióticos y el compromiso que este hecho pueda suponer para la salud de las futuras generaciones.

El patrón de alimentación es otro de los factores determinantes en la adquisición y evolución de la microbiota infantil. En el caso de los prematuros más inmaduros, la imposibilidad de amamantarse directamente y/o la reducida producción de leche por parte de la madre durante los primeros días (Kuppala et al., 2012) hacen que sean necesarias estrategias de alimentación distintas o complementarias a la lactancia materna, como la nutrición parenteral o la enteral. En general, la nutrición parenteral prolongada provoca un retraso en el desarrollo normal del intestino y en la colonización bacteriana, siendo un factor que aumenta el riesgo de sufrir enterocolitis necrotizante. Este hecho ha conducido al fomento de la introducción lo más temprana posible de la alimentación enteral. Por otra parte, las superficies internas de las sondas nasogástricas con las que se suelen administrar los alimentos durante los primeros días de alimentación enteral son lugares donde las bacterias asociadas al ambiente hospitalario pueden formar grandes biopelículas y, en consecuencia, actúan como fuentes continuas de tales microorganismos para el recién nacido (Hurrell et al., 2009). La escasez de estudios enfocados en la colonización de los niños prematuros en función de los alimentos que reciben puede deberse a la dificultad para establecer un patrón de alimentación claramente definido en esta población. Aunque el orden de preferencia para la alimentación de prematuros es, en primer lugar, la leche de la propia madre, seguida de la leche humana donada y, finalmente, de las fórmulas infantiles, a menudo se observan alimentaciones mixtas con dos o tres tipos de alimentos, dependiendo de su disponibilidad en la UCIN.

Globalmente, la fuerte influencia del uso de antibióticos y del propio ambiente hospitalario parecen determinantes en la adquisición de la microbiota de los niños prematuros. De hecho, estos factores son tan potentes que parecen minimizar el papel desempeñado por otros que se consideran determinantes en el recién nacido a término, como el tipo de nacimiento o la forma de alimentación. En consecuencia, se necesitan nuevas estrategias en el manejo de estos niños que favorezcan la normalización, lo más tempranamente posible, de su proceso de colonización intestinal.

El hecho de nacer prematuro aumenta el riesgo de padecer infecciones neonatales. Una sepsis neonatal es una infección, frecuentemente bacteriana, que ocurre en un niño en los primeros 90 días desde su nacimiento. Las sepsis de aparición temprana se producen en la primera semana de vida mientras que las de aparición tardía ocurren entre los días 7 y 90 posparto. La incidencia de las sepsis neonatales oscila entre 0,5 y 8 de cada 1.000 nacimientos vivos y es la causa más común de mortalidad neonatal en los países en desarrollo, representando entre el 30-50% del total de muertes neonatales cada año (Lawn et al., 2010).

Las sepsis neonatales de aparición temprana son menos frecuentes que las tardías pero representan una complicación muy seria del recién nacido prematuro y pueden cursar con bacteriemia, neumonía, meningitis e infecciones del tracto urinario. La tasa de mortalidad en prematuros de bajo peso al nacer con sepsis de aparición temprana es aproximadamente tres veces mayor que la de los niños de la misma edad gestacional que no padecen infección. Tradicionalmente se considera que, al menos gran parte de ellas, se originan por transmisión vertical entre la madre y el niño. Los principales agentes etiológicos son *Streptococcus agalactiae* (estreptococos del grupo B) y **Escherichia coli** (Shah y Padbury, 2014; Simonsen et al., 2014). La incidencia de listeriosis neonatal es notablemente menor pero está asociada a tasas de morbilidad y mortalidad particularmente elevadas (Jiao et al., 2011). Las sepsis de aparición temprana, y especialmente aquellas que cursan con meningitis, están asociadas con una elevada incidencia de trastornos del neurodesarrollo, incluyendo parálisis cerebral, y secuelas visuales y auditivas en los niños supervivientes (Shah y Padbury, 2014; Simonsen et al., 2014).

En contraste con las sepsis neonatales de aparición temprana, las de aparición tardía son más frecuentes, ocurriendo en aproximadamente un 20% de los prematuros de peso muy bajo, y suelen tener una naturaleza nosocomial. La mayoría de estas infecciones están causadas por bacterias Gram-positivas y, especialmente, por estafilococos coagulasa-negativos (particularmente *Staphylococcus epidermidis*), que tienen capacidad para formar biopelículas y que muestran multirresistencia a antibióticos (Polin et al., 2012; Hell et al., 2013; Marchant et al., 2013). No obstante, también pueden causar infecciones nosocomiales ciertas bacterias Gram-negativas (*Klebsiella* spp., *E. coli, Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp. y otros) y algunas levaduras de los géneros *Candida (C. albicans, C. parapsilosis, C. krusei, C. glabrata…) y Aspergillus (A. fumigates, A. flavus, A. niger* y otros). Aunque los estafilococos coagulasa-negativos son responsables del mayor número de casos de sepsis nosocomiales, su gravedad suele ser menor que los causados por enterobacterias (Kuppala et al., 2012). En cualquier caso, el riesgo de infección es inversamente proporcional a la edad gestacional y al peso al nacer.

La enterocolitis necrotizante, que suele afectar a niños prematuros alimentados con fórmula entre la segunda y la tercera semana de vida, es una infección caracterizada por un daño variable en el tracto gastrointestinal que oscila desde pequeñas lesiones en la mucosa hasta la necrosis con perforación (Chen et al., 2014). La enterocolitis necrotizante sigue constituyendo una gran preocupación para neonatólogos, gastroenterólogos, cirujanos, microbiólogos, inmunólogos, nutricionistas y científicos/tecnólogos de los alimentos debido a su elevada morbilidad y mortalidad, y a que, debido a su etiología multifactorial, no ha podido ser erradicada de las unidades neonatales hasta la fecha. Recientes estudios microbiómicos sugieren que este problema no se origina como consecuencia de la aparición de un agente patógeno único sino que denota la existencia de procesos de disbiosis previos al desarrollo de la enterocolitis necrotizante, caracterizados por un dominio de las poblaciones de *Firmicutes* y/o *Proteobacteria* (en este último caso, básicamente miembros de la familia *Enterobacteriaceae*) (Cilieborg et al., 2012; Carlisle y Morowitz, 2013; Morrow et al., 2013; Torrazza et al., 2013; Berrington et al., 2014). Se trata de un abordaje sin duda prometedor para la identificación de biomarcadores y el desarrollo de nuevas estrategias de prevención y tratamiento basadas en la manipulación de la microbiota intestinal.

2.1.3. Modo de alimentación infantil

La leche materna es el alimento más adecuado para los niños de cualquier EG, incluyendo los prematuros, en quienes sus beneficios antiinfecciosos, inmunológicos, metabólicos, endocrinológicos, neurológicos, emocionales y económicos adquieren especial relevancia (U.S. Department of Health and Human Services., 2011; American Academy of Pediatrics, 2012). Probablemente, estos efectos sean debidos a la acción combinada de los nutrientes y una variedad de factores bioactivos presentes en el calostro y la leche materna, tales como inmunoglobulinas (Ig), células inmunocompetentes, ácidos grasos, poliaminas, oligosacáridos, lisozima, lactoferrina y otras glicoproteínas, péptidos antimicrobianos y bacterias comensales y potencialmente probióticas. En consecuencia, el tipo de alimentación es otro factor importante que influye en la composición de la microbiota intestinal y en la función gastrointestinal durante el periodo infantil.

Las diferencias en la composición microbiana intestinal entre los lactantes amamantados y los alimentados con fórmula están bien documentadas. La lactancia materna proporciona una mezcla de nutrientes, bacterias, agentes pro-microbianos y agentes antimicrobianos que favorece el desarrollo de la llamada "microbiota orientada a la leche". Las inmunoglobulinas, citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento de la leche materna promueven un sistema inmunitario regulador y más "tolerogénico" (Maynard et al., 2012; Ruiz et al., 2017), mientras que sus oligosacáridos fomentan selectivamente el crecimiento de ciertos microbioorganismos particularmente beneficiosos para el niño lactante, incluyendo no sólo bifidobacterias y lactobacilos (McGuire and McGuire, 2017) sino también estafilococos coagulasa-negativos y estreptococos de los grupos mitis y salivarius (Jiménez et al., 2008; Hunt et al., 2012).

En este contexto, numerosas publicaciones han informado que las heces de lactantes alimentados con fórmulas infantiles, que están expuestos a otro tipo de carbohidratos, bacterias y (micro)nutrientes, contienen niveles más altos de patógenos potenciales y más reducidos de bifidobacterias y lactobacilos que sus equivalentes alimentados con leche materna. En general, la microbiota de los niños alimentados con fórmula suele ser más diversa y está dominada por Bacteroides, clostridios, enterococos, enterobacterias y bacterias del género *Atopobium* (Harmsen et al., 2000; Martín et al., 2016). Como consecuencia de estas diferencias en la microbiota, los niveles de ácidos grasos de cadena corta también difieren según la forma de alimentación del niño (Le Huerou-Luron et al., 2010). Los análisis transcriptómicos de las células epiteliales intestinales han demostrado que el tipo de alimentación infantil también afecta a la expresión de los genes del huésped, cuyo perfil mejora en niños amamantados especialmente en lo relacionado con las actividades inmunológicas y metabólicas (Backhed et al., 2015; Praveen et al., 2015). Durante el período de lactancia exclusivo, la microbiota infantil sufre fluctuaciones y un fenómeno de sucesión bacteriana continúa, diversificándose progresivamente hasta el destete, momento en el que se torna más estable, compleja y parecida a la de los adultos (Fallani et al., 2011; Koenig et al., 2011). Durante y después del destete, la desaparición de la influencia de la leche materna provoca un aumento de la alfa-diversidad y el reemplazo de los filos Proteobacteria y Actinobacteria por los filos Firmicutes y Bacteroidetes como miembros dominantes de la microbiota infantil (Fallani et al., 2011; Koenig et al., 2011; Backhed et al., 2015; Levin et al., 2016). Por otra parte, tras el destete se observa un aumento en la abundancia relativa de algunas familias bacterianas importantes, incluyendo *Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Eubacteriaceae, Rikenellaceae, Prevotellaceae o Sutterellaceae, y un descenso en la de Bifidobacteriaceae, Actinomycetaceae, Veillonellaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Enterococcaceae, Clostridiales incertae sedis XI, Carnobacteriaceae y Fusobacteriaceae* (Bergstrom et al., 2014; Backhed et al., 2015; Yassour et al., 2016; Nuriel-Ohayon et al., 2016). Curiosamente, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Akkermansia muciniphila*, dos especies que están ausentes o presentan niveles muy bajos durante la primera infancia, aumentan en abundancia hasta alcanzar niveles similares a los de un adulto a los 12 meses y 24 meses de edad, respectivamente (Yassour et al., 2016). A nivel de género, se ha observado un aumento en la abundancia relativa de *Bacteroides, Blautia* y *Ruminococcus*, entre otros, y una disminución en la abundancia relativa de *Bifidobacterium, Lactobacillus* y enterobacterias, con un aumento del pH fecal, tan solo cinco días después del cese de la lactancia materna (Davis et al., 2016)

Además, el aumento de la diversidad bacteriana observado tras el destete contribuye a ciertos cambios funcionales. La evolución hacia una microbiota más similar a la de un adulto provoca un aumento de los niveles totales de ácidos grasos de cadena corta, en particular butirato (Koenig et al., 2011; Martín et al., 2016), y una mayoe expresión de los genes bacterianos responsables de la degradación de hidratos de carbono, almidón y xenobióticos complejos, así como de la producción de vitaminas (Koenig et al., 2011). Se trata de una microbiota funcionalmente más compleja y estructurada para metabolizar los polisacáridos derivados de los alimentos de origen vegetal. La aparición de los llamados "enterotipos" humanos comienza durante el período de destete con la introducción de cambios en la dieta, llegando a ser identificable a la edad de 18 meses, aunque los todavía se aprecian cambios funcionales después de los tres años de edad (Bergstrom et al., 2014).

2.1.4. Dieta materna

Recientemente, se ha observado que la composición microbiana fecal del niño está influenciada por el índice de masa corporal materno y el aumento de peso de su madre durante el embarazo (Collado et al., 2010). Un estudio indicó que las concentraciones fecales de *Bacteroides* y *Staphylococcus* fueron significativamente mayores en los bebés de madres con sobrepeso durante los primeros seis meses de vida mientras que los recuentos de bifidobacterias eran mayores en los bebés de madres con un peso normal. Sin embargo, los resultados de otros autores (Chu et al., 2016) no corroboraron estas observaciones, lo que indica la necesidad de realizar más investigaciones.

2.1.5. Medio ambiente (estilo de vida familiar, ubicación geográfica)

Los familiares cercanos y mascotas constituyen un factor ambiental que puede influir en la colonización de la microbiota intestinal infantil (Rodríguez et al., 2015), pero hasta el momento los efectos del tamaño de la familia o el orden de nacimiento son muy desconocidos. Los bebés de un mes de edad con hermanos mayores parecen tener una mayor concentración de bifidobacterias en su microbiota intestinal que la de los bebés sin hermanos previos (Penders et al., 2006).

También se ha descrito que los bebés sin hermanos mayores poseen mayores proporciones de clostridios y de enterobacterias que no pertenecen a la especie Escherichia coli, así como una relación menor anaerobio estricto:anaerobio facultativo (Adlerberth et al., 2007). En un estudio reciente realizado con una cohorte danesa, la presencia de hermanos mayores se asoció con una mayor diversidad microbiana intestinal durante la primera infancia, mientras que la presencia de mascotas domésticas tuvo efectos menos pronunciados sobre la microbiota intestinal (Laursen et al., 2015). El concepto del "efecto hermano" que podría contribuir a la confirmación de la hipótesis de la higiene sigue siendo controvertido y se necesitan más estudios para su esclarecimiento.

La ubicación geográfica también puede tener un impacto en la microbiota, ya que las diferencias de microbiota parecen estar relacionadas con los patrones dietéticos y el estilo de vida en un área específica (Fallani et al., 2011; Yatsunenko et al., 2012).

2.1.6. Base genética del hospedador

Cada vez hay más evidencias científicas que indican que la genética del huésped influye notablemente en la adquisición y el desarrollo de la microbiota intestinal del niño. En este sentido, un estudio con niños menores de 10 años describió niveles más altos de similitud microbiana en gemelos genéticamente idénticos en comparación con mellizos y controles no relacionados (Stewart et al., 2005). Sin embargo, los análisis realizados por otros autores no identificaron diferencias significativas en la diversidad bacteriana entre gemelos monocigóticos y dicigóticos (Turnbaugh et al., 2009). Un análisis reciente con una gran cohorte (1.539 individuos, rango de edad 18-84 años) estableció una clara asociación entre el genotipo del huésped y la abundancia relativa de diferentes grupos taxonómicos bacterianas en la edad adulta (Bonder et al., 2016). En ese trabajo, los autores encontraron que los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) ubicados en el locus LCT (responsable de la producción de lactasa humana) estaban relacionados con la mayor o menor abundancia de bifidobacterias, y encontraron una asociación entre la genética del huésped y la ingesta de leche y productos lácteos. Esto pone de relieve la necesidad de seguir investigando sobre la interacción entre el genotipo humano, la dieta y el desarrollo de la microbiota.

3. MICROBIOTA Y REPRODUCCIÓN: ¿EXISTE TRANSMISIÓN MICROBIANA IN UTERO?

La noción de que el entorno fetal humano es estéril en condiciones fisiológicas ("el paradigma del útero estéril") ha sido un dogma aceptado durante décadas. Según este concepto, la colonización microbiana del tracto intestinal del recién nacido sano comienza durante y después del nacimiento, tanto por transmisión vertical (a partir de la microbiota de la madre) y horizontal (otras fuentes). En contraste, muchos estudios recientes (la mayoría de ellos basados en el empleo de técnicas más modernas independientes de cultivo) han desafiado este punto de vista tradicional y han propuesto que la adquisición de la microbiota humana comienza en el útero materno. Sin embargo, si bien es posible que no todos los bebés sanos nazcan estériles como se suponía anteriormente, también es cierto que los estudios que respaldan la "hipótesis de la colonización in utero" deben analizarse con precaución ya que la mayoría de ellos contienen limitaciones metodológicas relevantes, que se analizarán al final de esta sección.

3.1. Nuestra microbiota reproductiva antes del embarazo

A medida que aprendemos más sobre la microbiota humana, cada vez es más evidente que sus complejas interacciones con el huésped se producen en todas las superficies mucosas, incluyendo aquellas pertenecientes a órganos que en el pasado se consideraban estériles en condiciones fisiológicas. Hasta hace poco, se pensaba que la única microbiota que existía en el tracto reproductivo humano era la de la cavidad vaginal (Green et al., 2015; Solt, 2015). La vaginosis bacteriana es el trastorno vaginal más prevalente, se caracteriza por un estado de disbiosis de la microbiota vaginal y está asociado con mayores tasas de infección intraamniótica, parto prematuro, aborto espontáneo e infertilidad (Krohn et al., 1995; Newton et al., 1997; Leitich et al., 2003; Eckert et al., 2003; Yudin, 2005; van Oostrum et al., 2013).

En contraste, tradicionalmente se ha considerado quelos lugares anatómicos donde se produce la fertilización y se desarrolla el embarazo (trompas de Falopio, endometrio, placenta y líquido amniótico) eran estériles (Reid et al., 2015). De hecho, la noción de que los fetos son estériles en el útero y que la colonización microbiana del recién nacido comienza durante y después del nacimiento, ha sido ampliamente aceptada desde el comienzo del siglo XX. Por lo tanto, la búsqueda de microorganismos en muestras de dichos entornos solo era pertinente cuando había signos de infecciones relacionadas con problemas obstétricos, como las roturasprematuras de membranas, las corioamnionitis, los abortos espontáneos o los partos prematuros (Ross et al., 1980; Naeye and Peters, 1980; Dong et al., 1987; Goldenberg et al., 2008; DiGiulio et al., 2008; Onderdonk et al., 2008a; Payne y Bayatibojakhi, 2014; Solt, 2015; Romero et al., 2015; Vinturache et al., 2016).

Sin embargo, diversostrabajospublicados en los últimos años han mostrado o sugerido la presencia de una microbiota fisiológica en las mucosas de cada una de las partes del tracto reproductor femenino (ovarios, folículos, ovocitos, trompas de Falopio, útero, cuello uterino, vagina) y del masculino (testículos, semen, espermatozoides, próstata, glándulas seminales), así como en estructuras fetales como la placenta y el cordón umbilical (Mändar, 2013; Reid et al., 2015; Franasiak y Scott, 2015). La comprensión de que estas bacterias forman sus propios biofilms en el tracto reproductivo humano, permitiendo interacciones complejas con los gametos, embriones o fetos y con la interfaz tisular materna, puede proporcionar nuevos conocimientos en el campo de la fertilidad y la reproducción asistida (Franasiak y Scott, 2015).

3.2. El microbioma endometrial

Como se ha indicado anteriormente, el útero se ha considerado tradicionalmente estéril en ausencia de infección (Ansbacher et al., 1967). En 1989, Hemsell aisló hasta 231 especies bacterianas a partir de 49 de las 55 muestras endometriales que analizó y que procedían de mujeres asintomáticas sin antecedentes de infección uterina previa, proporcionando los primeros datos sobre la existencia de una microbiota uterina (Solt, 2015). Sin embargo, sus resultados tuvieron un impacto muy modesto y tuvieron que pasar dos décadas para que se retomara el tema. Recientemente, el análisis metataxonómico de muestras de tejido y mucosidad endometrial de 19 mujeres no embarazadas programadas para histeroscopía pero sin anomalías uterinas reveló la presencia de ADN microbiano en todas ellas, confirmando los hallazgos de Hemsell (Verstraelen et al., 2016).

Un estudio similar sobreel microbioma endometrial de 33 mujeres sometidas a transferencia de embriones únicos mostró la existencia de varios géneros bacterianos dominantes, como *Flavobacterium* y *Lactobacillus* (Franasiak et al., 2016). Los datos de otro estudio han reforzado la hipótesis de que la composición de la microbiota endometrial influye en la tasa de éxito tras la implantación (Moreno et al., 2016). En particular, los resultados de este trabajo, en el que se incluyó a mujeres infértiles que recibieron un tratamiento de fecundación in vitro, mostraron que las comunidades bacterianas identificadas en las muestras de líquido endometrial y de aspirado vaginal obtenidas de una misma mujer podían ser diferentes. Los investigadores observaron que la composición de la microbiota en el fluido endometrial podía clasificarse básicamente como "dominada por *Lactobacillus*" o "no dominada por *Lactobacillus*" y que la presencia de una microbiota endometrial "no-*Lactobacillus*" estaba asociada con tasas significativamente menores de implantación, embarazo, y nacidos vivos (Moreno et al., 2016).

Es probable que la composición de la microbiota uterina pueda influir en sistema inmunitario endometrial durante la fertilización, ya que se ha descrito que las citoquinas implicadas en la receptividad endometrial y el desarrollo del embrión están alteradasdurante las infecciones del tracto reproductivo (Robertson et al., 2011). La alteración de los consorcios microbianos endometriales puede desencadenar una respuesta inflamatoria local comprometiendo el éxito de la implantación del embrión, ya que se requiere una regulación estricta de los mediadores inflamatorios durante la adhesión del blastocisto a la pared del endometrio (Domínguez et al., 2010). Otros estudios publicados recientemente (tanto dependientes comoindependientes de cultivo) han confirmado la presencia de bacterias vivas o ADN bacteriano, respectivamente, en muestras endometriales (Pelzer et al., 2015) y han indicado que una disbiosis de la microbiota uterina puede estar relacionada con unadiversos problemas ginecológicos u obstétricos, incluyendo endometritis, endometriosis (Newaz Khan et al., 2014), pólipos endometriales (Fang et al., 2016) y cáncer de endometrio (Walther-António et al., 2016).

El proceso de fertilización e implantación es muy complejo pero estos nuevos hallazgos sugieren que el éxito reproductivo no depende exclusivamente de la histología endometrial o de la expresión de genes eucarióticos, sino también de la composición y funciones de la microbiota que reside en el tracto reproductivo (Giudice, 2016).

3.3. Microbiota de la placenta, líquido amniótico y meconio

Pocos estudios han examinado la microbiota uterina asociada con embarazos sanos a término, en parte por la influencia perdurable del paradigma del útero estéril, pero también debido a los problemas técnicos y éticos que dificultan la obtención de muestras representativas de embarazos sanos antes del nacimiento (Ruiz et al., 2016). Sin embargo, la presencia de bacterias en el líquido amniótico (en muestras recogidas durante las cesáreas) se conoce desde el año 1927 (Harris y Brown, 1927). Más tarde, otro equipo fue capaz de aislar bacterias a partir del 21% de las muestras de placentas obtenidas tras partos a término y en ausencia de signos de infección (Hillier et al., 1988). Durante la última década, el número de trabajos describiendo la presencia de bacterias o ADN bacteriano en un ambiente placentario saludable ha aumentado considerablemente (Payne y Bayatibojakhi, 2014; Diaz Heijtz et al., 2016; Neu, 2016).

El empleo de sondas fluorescentes dirigidas a una región altamente conservada del gen 16S rRNA ha permitido la detección de bacterias en la mayoría de las muestras de membrana fetal (>73%) obtenidas tras partos a término (Steel et al., 2005). Por otra parte, un estudio muy riguroso demostró la existencia de bacterias intracelulares de diversas morfologías en la placa basal materna del 27% de las 195 placentas que se analizaron (Stout et al., 2013). Estos resultados fueron corroborados por un estudio en el que el empleo de técnicas de cultivo permitió identificar bacterias en el 16,4% de las placentas analizadas, todas ellas tras embarazos y partos totalmente fisiológicos y sin ningún signo de infección (Queiros da Mota et al., 2013).

Recientemente, la aplicación de técnicas metagenómicas a muestras placentarias obtenidas de 320 mujeres mostró que la placenta contiene un microbioma poco abundante pero muy rico desde un punto de vista metabólico, compuesto en gran parte por bacterias comensales pertenecientes a los filos Firmicutes, Tenericutes, Proteobacteria, Bacteroidetes y Fusobacteria (Aagaard et al., 2014). En general, los perfiles microbianos observados en la placenta revelaron similitudes intrigantes con los identificados en el aparato digestivo materno, sugiriendo una conexión directa o indirecta entre la microbiota placentaria y las de la cavidad oral y el intestino materno (Aagaard et al., 2013).

El aislamiento de bacterias comensales en muestras de líquido amniótico (que es deglutido por el feto) y de meconio de recién nacidos sanos ha cuestionado la presunción de esterilidad de los fetos in utero (Hitti et al., 1997; Bearfield et al., 2002; Martín et al., 2004; Jiménez et al., 2005). Tales hallazgos sugieren que los fetos a término no son completamente estériles, y que puede producirse un flujo de bacterias comensales de la madre al feto a través de la placenta. Las especies *Enterococcus faecium, Propionibacterium acnes, Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus sanguinis* se han podido aislar tanto del meconio como de la sangre del cordón umbilical de recién nacidos sanos nacidos por cesárea (Jiménez et al., 2005). En ese último tipo de muestra, los recuentos bacterianos oscilaronentre 30 y 300 ufc/ml después de una etapa de enriquecimiento, lo que sugiere que el número de bacterias iniciales en tales muestras debe ser muy bajo. Dichas especies están presentes de forma natural en el intestino neonatal tras el nacimiento (Favier et al., 2002; Martín et al., 2003), y se las considera como comensales en neonatos sanos. Estos estudios pioneros propiciaron un gran interés por el tema y actualmente se acepta que el meconio alberga una comunidad microbiana compleja y diversa (Gosalbes et al., 2013; Moles et al., 2013 Hu et al., 2013; Ardissone et al., 2014; Dong et al., 2015; Hansen et al., 2015; Nagpal et al., 2016). En general, los datos de varios laboratorios independientes indican que los taxones microbianos que se encuentran en las muestras de meconio son distintos de los encontrados en las muestras fecales posteriores, independientemente de la edad gestacional (Mshvildadze et al., 2010; Moles et al., 2013; Ardissone et al., 2014).

En cualquier caso, se requieren urgentemente estudios que investiguen nuestra microbiota reproductiva, ya que puede desempeñar papeles relevantes, aunque todavía francamente desconocidos, en una reproducción exitosa y saludable, al interactuar con las bacterias y las células huésped. Se ha sugerido que las bacterias comensales que están presentes en la mucosa endometrial promueven la inducción de factores reguladores por parte del trofoblasto y los macrófagos deciduales. A su vez, los macrófagos secretarían productos antimicrobianos para controlar el sobrecrecimiento comensal y evitar la invasión por parte de microorganismos potencialmente patógenos. El reconocimiento de productos bacterianos por el trofoblasto mejora la expresión de factores antiinflamatorios, expande las células reguladoras, promueve la tolerancia y contribuye a una regulación fina de la interfase materno-fetal (Racicot et al., 2014; Mor y Kwon, 2015).

3.4. Limitaciones en los estudios sobre una microbiota en el ámbito fetal

En primer lugar, el ADN bacteriano puede pertenecer a organismos vivos o muertos y, en ese sentido, muy pocos estudios han demostrado la presencia de microorganismos viables en el entorno fetal. En segundo lugar, se ha señalado que la aplicación de técnicas moleculares al estudio de microbiomas poco abundantes, como el fetal, tiene una alta susceptibilidad a falsos positivos debido a las posibles contaminaciones. Por un lado, resulta difícil evitar las contaminacionescuando se recogen muestras relacionadas con el ambiente intrauterino dentro de un entorno clínico. Por otro lado, la presencia de ADN contaminante en reactivos de PCR, kits de extracción de ADN y agua de grado molecular es un desafío particularmente relevante cuando se trabaja con muestras que contienen una biomasa microbiana baja, como las obtenidas de la placenta, el líquido amniótico o el meconio de sujetos sanos (Grahn et al., 2003; Mühl et al., 2010), ya que puede conducir a resultados y conclusiones erróneas (Laurence et al., 2014). Se ha demostrado que cuanto menor es la cantidad de ADN bacteriano en una muestra, mayor es la proporción de secuencias que pueden atribuirse a la contaminación inherente a los reactivos utilizados. En este contexto, se ha informado que solo se pueden extraer 0,002 mg de ADN bacteriano a partir de 1 g de tejido placentario sano (Aagaard et al., 2014).

Las secuencias de ADN contaminantes normalmente coinciden con géneros bacterianos asociados al agua y al suelo, incluidos *Acinetobacter, Alcaligenes, Bacillus, Bradyrhizobium, Herbaspirillum, Legionella, Leifsonia, Mesorhizobium, Methylobacterium, Microbacterium, Novosphingobium, Pseudomonas, Ralstonia, Sphingomonas, Stenotrophomonas* y *Xanthomonas*. Curiosamente, un alto porcentaje de los taxones totales considerados como "microbioma de la placenta" en un artículo muy publicitado se superpone con los citados anteriormente (Aagaard et al., 2014). En un estudio metataxonómico reciente, se comparó el microbioma de muestras placentarias y de los reactivo es empleados para extraer el ADN microbiano y no se observó una separación clara entre ambos tipos de muestras (Lauder et al., 2016).

Aunque la presencia de ADN contaminante en los reactivos de biología molecular ha sido ampliamente divulgada en la literatura científica, su impacto en los análisis metataxonómicos y metagenómicos de muestras con baja biomasa microbiana apenas se han tenido en cuenta hasta la fecha. La mayoría de las publicaciones sobre el microbioma humanono incluyen controles negativos y/o no describen los procedimientos para la eliminación o identificación de ADN contaminante.

La presencia de microbios en el meconio y el líquido amniótico se considera con frecuencia como evidencia que respalda la hipótesis de la colonización *in utero*. Sin embargo, se ha argumentado que solo un subconjunto relativamente pequeño de tales muestras contiene microbios detectables (es decir, que se han podido visualizar o aislar), y que podrían ser, al menos en parte, el resultado de una colonización posnatal en el caso de muestras de meconio, o de una ruptura de membranas previaal parto en el de las de fluido amniótico (Hansen et al., 2015; Perez-Muñoz et al., 2017).

Finalmente, se ha afirmado que la gnotobiología es la evidencia más sólida contra la existencia de microbiomas en el entorno fetal debido a la capacidad de obtener animales "libres de gérmenes" mediante cesárea y posterior crianza de la descendencia en un ambiente estéril (Perez-Muñoz et al., 2017). Este hecho debe ser tenido en cuenta, aunque, por otro lado, también es cierto queresulta difícil -cuando no imposible- transferir los resultados obtenidos en sistemas "*germ-free*" a los mismos eventos cuando ocurren en un huésped convencional (Sekirov et al., 2010).

Como conclusión, algunos autores han criticado la hipótesis de la colonización *in utero* porque muchos de los estudios han empleado enfoques moleculares inadecuados para estudiar poblaciones microbianas "de baja biomasa", ya que carecían de controles apropiados y/o no mostraban viabilidad bacteriana (Lauder et al.,

2016; Perez-Muñoz et al., 2017). Sin embargo, algunos trabajos han demostrado de una forma no ambigua la presencia de bacterias vivas en muestras fetales en ausencia de signos clínicos maternos (Stout et al., 2013). Aunque los escépticos de la colonización "*in utero*" han sugerido que este hecho puede deberse a condiciones subclínicas, también indica que la colonización fetal puede ocurrir, al menos ocasionalmente, y que este tema (y su relación con la salud materna, fetal e infantil) merece más atención. Además, actualmente se sabe que la exposición del ambiente fetal a los metabolitos y componentes celulares (incluido el ADN) de la microbiota materna pueden tener un impacto importante en elel embarazo y el desarrollo infantil (Gray et al., 2017; Macpherson et al., 2017; Romano-Keeler y Weitkamp, 2015). Sin embargo, la investigación sobre el papel de las células bacterianas vivas (o su ADN) debe estar estrictamente controlada para evitar o detectar posibles contaminaciones durante la recolección y el procesado de las muestras; de otra modo, resulta difícil -cuando no imposible- garantizar la fiabilidad y genuinidad de los resultados obtenidos.

4. LA TRANSFERENCIA DE BACTERIAS DE MADRE A NIÑO

4.1. Herencia microbiana materna: transmisión vertical

Según el concepto de holobionte, no solo se reproduce el cuerpo eucariótico sino también sus microorganismos simbióticos, o al menos parte de ellos. Por lo tanto, el nacimiento significa el paso de un conjunto de relaciones simbióticas a otro. Según esta visión, a los dos grandes socios tradicionales del proceso reproductivo (la madre y el feto/hijo) hay que añadirles un tercer socio: la microbiota de la madre. La madre es un holobionte, cuyos microorganismos asociados metabolizan activamente los nutrientes y participan en la biosíntesis de muchas sustancias que se transferirán al feto a través de la sangre materna (Wikoff et al., 2009; McFall-Ngai et al., 2013). En consecuencia, el feto no es ajeno a las asociaciones simbióticas de la madre, incluso para los defensores del concepto de la esterilidad del feto in útero.

Sobre la base del concepto de hologenoma, el microbioma puede verse como un conjunto adicional de genes heredados que, junto con los genes parentales, se transmiten de una generación a la siguiente (Moran, 2007). Al nacer, el niño pasa de un ensamblaje simbiótico (el de la madre) al suyo propio pero, durante el proceso, "hereda" gran parte de la microbiota materna, transferida por las rutas más diversas (embarazo: transplacentaria; nacimiento: vaginal, intestinal; lactancia: leche materna; contacto cotidiano: piel, cavidad oral, cavidad nasofaringea…). La transmisión directa de ciertos miembros de la microbiota materna (y de los genes que contienen) a la descendencia se conoce como transmisión o transferencia vertical mientras que la adquisición de microorganismos (y sus genes) del entorno (incluyendo otros familiares) transmisión horizontal.

Desde una perspectiva microbiana, un recién nacido representa una isla esencialmente deshabitada, donde a los primeros colonizadores se les brinda una opción prioritaria de asentamiento, creando así oportunidades o restricciones para el próximo grupo de colonizadores (Costello et al., 2012). Por ese motivo, la influencia de la transmisión vertical madre-hijo suele ser particularmente relevante. Recientemente, un análisis metataxonómico en el que se comparó la microbiota fecal de 415 madres y sus respectivos hijos reveló la existencia de una población microbiana muy compartida dentro de cada pareja madre-hijo (Avershina et al., 2016). La transmisión vertical de microorganismos vaginales e intestinales maternos durante el nacimiento ha sido ampliamente aceptada. Por ese motivo, la siguiente sección se centrará en la transferencia madre-hijo de microorganismos a través de una vía igual de evidente pero mucho más desconocida: la leche materna.

4.2. El papel de la leche materna en la transferencia vertical

Los primeros estudios sobre los microorganismos presentes en la leche humana se llevaron a cabo durante la segunda mitad del siglo pasado y se centraron principalmente en la detección de microbios "contaminantes" y/o potencialmente patógenos, y su posible papel como agentes de infecciones infantiles. Aunque se han descrito algunos casos de infecciones infantiles y sepsis asociados con la transmisión de patógenos a través de la leche humana, la presencia de microorganismos en este fluido biológico no es considerada como un predictor del riesgo de infección (Schanler et al., 2011; Zimmermann et al., 2017). En los últimos 15 años, varios grupos de investigación han puesto de manifiesto la presencia de bacterias comensales, mutualistas o potencialmente probióticas en la leche humana en condiciones fisiológicas (Fernández et al., 2013), lo que ha provocado un creciente interés por conocer su microbiota y microbioma y sus posibles funciones para la salud materna y/o infantil.

En general, la microbiota de la leche humana parece estar dominada por bacterias Gram-positivas pertenecientes a los géneros *Staphylococcus, Streptococcus, Corynebacterium* y *Propionibacterium* (Jiménez et al., 2008; Solís et al., 2010; Schanler et al., 2011; Fitzstevens et al., 2017). No obstante, también se pueden aislar con cierta frecuencia diversas bacterias lácticas (L*actobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Weissella, Enterococcus...*) y bifidobacterias (Martín et al., 2003; Martín et al., 2009; Solís et al., 2010). Entre ellos, algunas especies de los géneros *Lactobacillus (L. salivarius, L. gasseri, L. fermentum, L. reuteri...*) y *Bifidobacterium (B. longum, B. breve,...)* han sido objeto de particular interés debido a su potencial como bacterias probióticas. Globalmente, se han aislado más de 200 especies bacterianas diferentes, pertenecientes a aproximadamente 50 géneros, a partir de este fluido biológico (Fernández et al., 2013), incluyendo nuevas especies bacterianas, como Streptococcus lactarius (Martín et al., 2011).

La concentración bacteriana en la leche humana puede oscilar entre 101 y 106 ufc/mL, dependiendo del estado de salud de la madre (sana, mastitis respectivamente) y, también, del método de recolección de la muestra. A modo de ejemplo, el uso de bombas puede dar como resultado la presencia de una elevada concentración de bacterias Gram-negativas (*Enterobacterias, Pseudomonas, Stenotrophomonas...*) y levaduras como consecuencia de su presencia en el agua de lavado o aclarado de las mismas o de prácticas de manipulación poco higiénicas (Jiménez et al., 2017). Los métodos dependientes de cultivo tienen la limitación de no poder evaluar la presencia de microorganismos viables pero no cultivables pero, en cambio, permiten el aislamiento, la conservación y la caracterización de las cepas, incluyendo la secuenciación de los genomas de un número creciente de aislados. En resumen, el uso de métodos de cultivo ha demostrado que la leche humana representa un nicho ecológico complejo y una fuente de cepas con potencial probiótico. Además, no se debe olvidar que la leche humana puede portar levaduras, mohos, arqueas y virus. La transmisión de tres virus específicos (Citomegalovirus (CMV), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y virus linfotrópico de células T humano Tipo I (HTLV-I)) al lactante a través de la lactancia materna es motivo de especial preocupación y se tiene en cuenta la gestión de los bancos de leche humana. La leche humana también puede contener bacteriófagos que podrían desempeñar un papel relevante en la modulación de la microbiota presente en la misma (Jiménez et al., 2015; Duranti et al., 2017).

Los microorganismos cultivables únicamente representan una fracción de las comunidades microbianas que habitan en un nicho ecológico específico. Por lo tanto, la aplicación de diferentes técnicas moleculares independientes de cultivo, incluida la PCR cuantitativa, la PCR combinada con la electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE, del inglés *Denaturing Gradient Gel Electrophoresis*) y las técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS, del inglés *Next Generation Sequencing*), ha proporcionado una evaluación complementaria del microbioma de la leche humana. Es importante tener en cuenta que estas técnicas detectan ácidos nucleicos y no células microbianas vivas, lo que significa que el ADN detectado o secuenciado puede pertenecer a organismos vivos o muertos. Otras limitaciones y sesgos que las técnicas moleculares pueden introducir en la evaluación de comunidades microbianas complejas incluyen una sobre- o subestimación de algunos grupos microbianos debido a diferencias en la composición sus paredes celulares, membranas externas o membranas plasmáticas, a los métodos de extracción de ADN, al número de copias del gen diana, a la(s) región(es) del gen 16S rRNA a las que estén dirigidos los cebadores seleccionados y a las limitaciones actuales en lo referente al análisis bioinformático (McGuire y McGuire, 2017)

Globalmente, los estudios independientes de cultivo han confirmado la presencia de ADN de géneros bacterianos previamente identificados con técnicas dependientes del cultivo, como *Staphylococcus, Streptococcus, Corynebacterium, Propionibacterium. Lactococcus, Leuconostoc, Weissella, Bifidobacterium* y/o *Lactobacillus* spp. (Fernández et al., 2013). Además, algunos de ellos también han descrito la presencia de ADN perteneciente a microorganismos estrictamente anaerobios asociados al intestino (*Bacteroides, Blautia, Clostridium, Collinsella, Coprococcus, Eubacterium, Faecalibacterium, Roseburia, Ruminococcus, Veillonella, ...*), que, o bien son no cultivables,

o son muy difíciles de cultivar en el laboratorio y, por lo tanto, no se habían podido detectar previamente utilizando medios de cultivo (Cabrera-Rubio et al., 2012; Jost et al., 2013; Jost et al., 2014; Jiménez et al., 2015, Gómez-Gallego et al., 2016).

Un inconveniente importante de los estudios independientes de cultivo enfocados en la demostración de la transmisión de bacterias entre personas es la ausencia de información sobre la viabilidad de las poblaciones detectadas y la falta de capacidad de discriminación a nivel de cepa, lo cual es absolutamente necesario para demostrar que la misma bacteria es compartida entre la madre y el lactante (Jost et al., 2013). Este hecho es particularmente relevante en el caso de aquellas especies anaerobias estrictas que actualmente no se pueden cultivar en el laboratorio. Sin embargo, ya se ha documentado la transferencia de cepas de bifidobacterias, lactobacilos y/u otras bacterias desde el tracto gastrointestinal materno hasta el intestino neonatal (Makino et al., 2011, Takahashi et al., 2010, Kulagina et al., 2010), desde el tracto gastrointestinal materno a la leche de la madre (Fernández et al., 2016; Arroyo et al., 2010; Abrahamsson et al., 2009; Martín et al., 2006), de la leche materna al tracto gastrointestinal neonatal (Martín et al., 2012b; Martín et al., 2003), y del tracto gastrointestinal materno a la leche y el tracto gastrointestinal del lactante (Jost et al., 2014; Albesharat et al., 2011) mediante el empleo de técnicas dependientes de cultivo y el genotipado de los aislados obtenidos a partir de las distintas muestras analizadas. Dos estudios recientes centrados en la identificación de cepas de bifidobacterias adquiridas verticalmente obtuvieron resultados similares (Milani et al., 2015). Tras su transferencia inicial al intestino del lactante, las bifidobacterias persisten en el tracto intestinal de los adultos (a pesar de una notable disminución post-destete) para ser transferidas a la siguiente generación.

Todos estos estudios refuerzan la hipótesis de que al menos algunas bacterias, incluyendo anaerobios obligatorios, pueden ser transferidas verticalmente de la madre al lactante a través de la leche materna. El término translocación bacteriana se define como el paso de bacterias viables desde el tracto gastrointestinal hacia la lámina propia y, posteriormente, hacia los ganglios linfáticos mesentéricos y otros órganos extraintestinales, como el bazo, el hígado, los riñones, la cavidad peritoneal o el torrente sanguíneo. Tradicionalmente, la translocación de las bacterias intestinales se había asociado con condiciones patológicas y, por lo tanto, se había estudiado principalmente en pacientes en los que las bacterias patógenas se habían diseminado causando sepsis, insuficiencia en diversos órganos e, incluso en algunas ocasiones, la muerte de las personas afectadas. Sin embargo, se sabe que existe un proceso de translocación bacteriana fisiológica en individuos sanos, sin efectos perjudiciales para el huésped. De hecho, se ha sugerido que la translocación bacteriana a los tejidos extraintestinales es un evento fisiológico beneficioso en niños sanos, ya que puede estar asociado con la maduración y aprendizaje inicial del sistema inmunitario neonatal (MacFie, 2004; Balzan et al., 2007; Pérez et al., 2007).

Durante el embarazo y la lactancia se producen muchos cambios anatómicos y fisiológicos transitorios que implican "virtualmente" a todos los sistemas, incluyendo el cardiovascular, el respiratorio, el genitourinario y el digestivo, y que proporcionan un marco adecuado para el desarrollo del feto y del recién nacido. Tales adaptaciones pueden favorecer un aumento de la translocación bacteriana durante el embarazo y la lactancia. Los cambios en el sistema cardiovascular se caracterizan por una vasodilatación progresiva y generalizada y la alteración de diversos parámetros, incluyendo el volumen sanguíneo, el volumen sistólico, el gasto cardiaco, la frecuencia cardíaca, el flujo sanguíneo regional a varios órganos (útero, riñones, tracto gastrointestinal, piel, glándula mamaria...), el proceso de angiogénesis y la concentración sanguínea de algunos factores de coagulación y de los leucocitos (Mira y Rodríguez 2017). La acción hormonal también induce cambios orales relevantes durante el embarazo, afectando a su pH y microbiota; las encías se vuelven hiperémicas y edematosas y, por consiguiente, tienden a sangrar. La transferencia de algunas especies bacterianas y/o de sus metabolitos al torrente sanguíneo se ha asociado con el inicio del parto prematuro (Straka, 2011).

Los principales efectos de la gestación en el sistema gastrointestinal están asociados con el desplazamiento de los órganos abdominales por el crecimiento progresivo del útero y también por una disminución de la motilidad, presumiblemente debido al efecto de la progesterona en la contractilidad del músculo liso. Esto provoca un aumento en el tiempo de vaciado gástrico y una disminución de la secreción gástrica, que origina un pH gástrico más básico. Además, los vasos sanguíneos mesentéricos maternos están expuestos a estrógenos y a una presión fetal creciente, lo que conduce a una congestión vascular transitoria y al estancamiento de sangre. Asimismo, una de las adaptaciones más dramáticas del cuerpo durante el final del embarazo y la lactancia es el gran aumento en el tamaño y complejidad del intestino materno (Hammond, 1997). Globalmente, el tracto digestivo se caracteriza en ese periodo por un debilitamiento de las barreras frente al crecimiento bacteriano, un aumento de la permeabilidad y una reducción del peristaltismo, tres factores que están estrechamente asociados a la translocación bacteriana (Sedman et al. 1994). Paralelamente, los cambios anatómicos y fisiológicos que experimenta el ecosistema mamario, incluyendo conductos, areola y pezones, facilitan la formación de una microbiota mamaria específica.

La translocación bacteriana durante el periodo final de la gestación ya ha sido descrita en ratonas, en las que la inoculación oral de una cepa marcada genéticamente condujo a su aislamiento y detección por PCR en el líquido amniótico y la leche (Jiménez et al. 2005). Un estudio posterior confirmó la translocación bacteriana desde el intestino a los ganglios linfáticos mesentéricos y a las glándulas mamarias en ratonas gestantes y lactantes (Pérez et al., 2007). Las bacterias se observaron histológicamente en la cúpula subepitelial y en las regiones intercelulares de las placas de Peyer, en la lámina propia del intestino delgado y en el tejido glandular mamario. Las placas de Peyer de estas ratonas eran macroscópicamente más grandes y tenían una cúpula subepitelial más prominente que las de los animales control. En el mismo estudio se tiñeron las células inmunitarias mononucleares presentes en las muestras de leche y sangre periférica de varias mujeres sanas con naranja de acridina, lo que permitió la identificación de bacterias en estrecha asociación con dichas células (Pérez et al., 2007).

Para estudiar esta posible transferencia entero-mamaria, en un estudio reciente se procedió a la transformación de dos cepas de bacterias lácticas (*Lactococcus lactis* MG1614 y *L. salivarius* PS2) con un plásmido construido de novo y que contenía los genes *lux*; posteriormente, las cepas transformadas se administraron por vía oral a ratones gestantes y posteriormente lactantes con el fin de dilucidar si podían translocar y colonizar la glándula mamaria y, por ende, la leche. El modelo múrido permitió el aislamiento y la detección por PCR de las bacterias transformadas en diferentes localizaciones, incluyendo el tejido mamario y la leche, reforzando la hipótesis de que la translocación fisiológica de las bacterias maternas durante el embarazo y la lactancia puede contribuir a la composición de la microbiota de la leche (de Andrés et al., 2018).

En consecuencia, se ha sugerido que ciertas bacterias seleccionadas de la microbiota digestiva materna pueden acceder a las glándulas mamarias a través de una vía oro-entero-mamaria (Rodríguez, 2014; Mira y Rodríguez, 2017). Estudios previos han indicado que ciertas bacterias del tracto digestivo materno pueden propagarse a localizaciones extra-digestivas en huéspedes sanos. Aunque se trata de un tema controvertido en la actualidad, algunos estudios han ofrecido una base científica para dicha translocación fisiológica (Rodríguez, 2014). El mecanismo implicaría a las células dendríticas y células CD18+ (Rescigno et al., 2001), que serían capaces de captar bacterias no patógenas viables presentes en el lumen del intestino y, posteriormente, llevarlas a otros lugares, incluyendo la glándula mamaria lactante. Cabe recordar que existe un intenso flujo de células inmunitarias intestinales a las glándulas mamarias durante el embarazo y la lactancia.

Existen tres factores que están presentes en las glándulas mamarias durante y al final del embarazo y pueden explicar el tropismo selectivo que la glándula mamaria parece ejercer sobre algunas especies bacterianas maternas durante dicha etapa: (a) existe un estado fisiológico de inmunodepresión con el fin de tolerar el feto; (b) como se ha indicado anteriormente, existe un formidable proceso de angiogénesis; y (c) el pre-calostro comienza a llenar el conducto mamario durante el último tercio del embarazo proporcionando un rico ambiente nutritivo para las bacterias, facilitando así su crecimiento. Se requieren más estudios para elucidar los mecanismos por los cuales algunas cepas bacterianas pueden translocar fisiológicamente en ciertos huéspedes o etapas de la vida. La existencia de tales vías bacterianas oro-entero-mamarias proporcionaría nuevas oportunidades para manipular la microbiota materno-fetal alterada, reduciendo el riesgo de parto prematuro, mastitis o de ciertas enfermedades infantiles.

4.3. El proceso de colonización intestinal infantil: la base de la salud

Durante las etapas iniciales de colonización, la microbiota permanece inestable y puede sufrir fenómenos de sucesión microbiana repentina que continuarán hasta que el niño tenga entre dos y tres años, momento en que la microbiota alcanza una composición que se asemeja a la del adulto. La intercomunicación microbiota-huésped es especialmente importante durante este período y tiene consecuencias a corto y largo plazo para la salud del hospedador.

El establecimiento de la microbiota temprana proporciona un estímulo antigénico masivo necesario para la maduración adecuada del intestino y del sistema inmunitario asociado. Este estímulo también afecta la maduración de los órganos distales, afectando al huésped a nivel sistémico (Diaz Heijtz et al., 2011; Clarke et al., 2014; Neuman et al., 2015). En este contexto, parece lógico suponer que cualquier alteración del proceso de colonización microbiana neonatal puede suponer un riesgo para la salud a lo largo de la vida. Cada vez existen más evidencias científicas que indican que las alteraciones de la microbiota durante la etapa infantil preceden al desarrollo de diversas enfermedades durante la vida adulta (Kalliomaki et al., 2001). Varios autores han estudiado el efecto de recolonizar animales libres de gérmenes a diferentes edades y han mostrado que solo es posible restaurar los fenotipos alterados asociados a estos animales cuando la re-colonización se produce en la primera etapa de la vida (Olszak et al., 2012).

La microbiota temprana también puede tener un impacto en el crecimiento infantil. La microbiota de niños desnutridos es diferente a la de sus homólogos sanos y los experimentos de trasplante de microbiota en animales libres de gérmenes han demostrado que recibir la microbiota de donantes desnutridos dificulta el aumento de peso (Blanton et al., 2016). Aunque se necesita más investigación para comprender los mecanismos que explican este fenómeno, la posible relación entre la desnutrición infantil y una microbiota intestinal alterada puede constituir la base para el desarrollo de estrategias de modulación de la microbiota destinadas a restablecer el crecimiento y el desarrollo normales durante la infancia.

La colonización microbiana del intestino humano es responsable de la programación concurrente de nuestro sistema inmunitario y del desarrollo simultáneo del tracto intestinal y del metabolismo asociado. Numerosos estudios han confirmado una relación muy estrecha entre la alteración de la exposición temprana a microorganismos y el desarrollo de patologías de base inmunológica, incluyendo las alergias (asma, eczema atópico…) y las enfermedades inflamatorias intestinales, y de base metabólica, incluyendo toas aquellas asociadas con el síndrome metabólico (sobrepeso, obesidad, resistencia a la insulina, diabetes, esteatosis hepática). Para obtener más información sobre el tema se remite al lector a una revisión muy reciente (Milani et al., 2017).

Diversos estudios sugieren que existe una asociación entre la disbiosis inducida por antibióticos en la vida temprana y las alteraciones del metabolismo del huésped en la vida posterior. Los estudios epidemiológicos en humanos también han demostrado que la exposición a antibióticos está asociada con efectos metabólicos a largo plazo que incluyen aumento de peso y obesidad en niños y adultos, y este trinomio antibiótico-microbiota-obesidad ha atraído un gran interés en los últimos años por sus posibles implicaciones sobre la salud pública (Jess, 2014; Cox y Blazer, 2015; Turta y Rautava, 2016).

En conclusión, la adquisición de la microbiota durante las primeras etapas de la vida juega un papel muy relevante en la homeostasis del hospedador y en su riesgo o predisposición a sufrir diversas enfermedades durante el resto de su vida. Este hecho enfatiza la necesidad de una adecuada transferencia vertical de microorganismos entre la madre y el hijo, y a su modulación en aquellas circunstancias en las que sea oportuno.

5. REFERENCIAS

Aagaard K, Ma J, Antony KM, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. Sci Transl Med 2014; 6: 237ra265.

Abrahamsson TR, Sinkiewicz G, Jakobsson T, Fredrikson M, Bjorksten B. Probiotic lactobacilli in breast milk and infant stool in relation to oral intake during the first year of life. J Ped Gastroenterol Nutr 2009; 49: 349-354.

Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrne S, Orfei L, Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. J Allergy Clinical Immunol 2007; 120:343-350.

American Academy of Pediatrics. Breastfeeding and the use of human milk. Pediatrics 2012; 129:e827-41.

Ansbacher R, Boyson WA, Morris JA. Sterility of the uterine cavity. Am J Obstet Gynecol 1967; 99:394-6.

Antony KM, Ma J, Mitchell KB, Racusin DA, Versalovic J, Aagaard K. The preterm placental microbiome varies in association with excess maternal gestational weight gain. Am J Obstet Gynecol. 2015; 212(5):653.e1-16.

Arboleya S, Binetti A, Salazar N, Fernández N, Solís G, Hernández-Barranco A, et al. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. FEMS Microbiol Ecol 2012; 79:763-772.

Arboleya S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal microbiota development in preterm neonates and effect of perinatal antibiotics. J Pediatr 2015; 166:538-544.

Ardissone AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, Rechcigl KT, Li N, Drew JC, et al. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. PLoS One. 2014; 9: e90784.

Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez, JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. Clin Infect Dis 2010; 50:1551-1558.

Avershina E, Lundgard K, Sekelja M, Dotterud C, Storro O, Oien T, et al. Transition from infant- to adult-like gut microbiota. Environ Microbiol 2016; 18:2226-2236.

Avershina E, Storro O, Oien T, Johnsen R, Wilson R, Egeland T, et al. Bifidobacterial succession and correlation networks in a large unselected cohort of mothers and their children. Appl Environ Microbiol 2013; 79:497-507.

Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. Cell Host Microbe 2015; 17: 690-703.

Baeten JM, Bukusi EA, Lambe M. Pregnancy complications and outcomes among overweight and obese nulliparous women. Am J Public Health 2001; 91:436-40.

Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. Clin Experim Allergy 2008; 38:634-642.

Barrett E, Kerr C, Murphy K, O'Sullivan O, Ryan CA, Dempsey EM, et al. The individual-specific and diverse nature of the preterm infant microbiota. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2013; 98:F334-340.

Balzan S, de Almeida Quadros C, de Cleva R, Zilberstein B, Cecconello I. Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact. J Gastroenterol Hepatol 2007; 22; 464-471.

Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. Br J Obstet Gynaecol 2002; 109, 527-533.

Bergström A, Skov TH, Bahl MI, Roager HM, Christensen LB, Ejlerskov KT, et al. Establishment of intestinal microbiota during early life: a longitudinal, explorative study of a large cohort of Danish infants. Appl Environ Microbiol 2014; 80:2889-2900.

Berrington JE, Stewart CJ, Cummings SP, Embleton ND. The neonatal bowel microbiome in health and infection. Curr Opin Infect Dis 2014; 27:236-243.

Biasucci G, Rubini M, Riboni S, Morelli L, Bessi E, Retetangos C. Mode of delivery affects the bacterial community in the newborn gut. Early Hum Dev 2010; 86 Suppl 1:13-15.

Blanton LV, Charbonneau MR, Salih T, Barratt MJ, Venkatesh S, Ilkaveya O, et al. Gut bacteria that prevent growth impairments transmitted by microbiota from malnourished children. Science 2016; 351: pii: aad3311.

Bokulich NA, Chung J, Battaglia T, Henderson N, Jay M, Li H, et al. Antibiotics, birth mode, and diet shape microbiome maturation during early life. Sci Transl Med 2016; 8:343ra382.

Bonder MJ, Kurilshikov A, Tigchelaar EF, Mujagic Z, Imhann F, Vila AV, et al. The effect of host genetics on the gut microbiome. Nature Genet 2016; 48:1407-1412.

Bordenstein SR, Theis KR. Host Biology in light of the microbiome: ten principles of holobionts and hologenomes. Plos Biol 2015; 13:e1002226.

Bosch TCG, McFall-Ngai MJ. Metaorganisms as the new frontier. Zoology 2011; 114:185-190.

Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. Placenta 2002; 23:257-73.

Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. Am J Clin Nutr 2012; 96:544-551.

Cardenas I, Means RE, Aldo P, Koga K, Lang SM, Booth CJ, et al. Viral infection of the placenta leads to fetal inflammation and sensitization to bacterial products predisposing to preterm labor. J Immunol 2010; 185: 1248–57.

Challier JC, Basu S, Bintein T, Minium J, Hotmire K, Catalano PM, et al. Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. Placenta 2008; 29:274-81.

Chang JY, Shin SM, Chun J, Lee JH, Seo JK. Pyrosequencing-based molecular monitoring of the intestinal bacterial colonization in preterm infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2011; 53:512-519.

Chen AC, Chung MY, Chang JH, Lin HC. Pathogenesis implication for necrotizing enterocolitis prevention in preterm very-low-birth-weight infants. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2014; 58:7-11.

Chu DM, Antony KM, Ma J, Prince AL, Showalter L, Moller M, et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. Genome Med 2016; 8:77.

Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. Nat Med 2017; 23:314-326.

Cilieborg MS, Boye M, Sangild PT. Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. Early Hum Dev 2012; 88:S41-S49.

Clarke G, O'Mahony SM, Dinan TG, Cryan JF.Priming for health: gut microbiota acquired in early life regulates physiology, brain and behaviour. Acta Paediatr 2014; 103:812-819.

Collado MC, Isolauri E, Laitinen K, Salminen S. Effect of mother's weight on infant's microbiota acquisition, composition, and activity during early infancy: a prospective follow-up study initiated in early pregnancy. American J Clin Nutr 2010; 92:1023-1030.

Collado MC, Rautava S, Aakko J, Isolauri E, Salminen S. Human gut colonisation may be initiated in utero by distinct microbial communities in the placenta and amniotic fluid. Sci. Rep. 2016; 6:23129.

Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, et al. Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. Am J Obstet Gynecol 2014; 210:125.e1-15.

Costello EK, Stagaman K, Dethlefsen L, Bohannan BJ, Relman DA. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome. Science 2012; 336:1255-1262.

Cox LM., Blaser MJ. Antibiotics in early life and obesity. Nature Rev Endocrinol 2015; 11:182-190.

Dasanayake AP, Li Y, Wiener H, Ruby JD, Lee MJ. Salivary Actinomyces naeslundii genospecies 2 and Lactobacillus casei levels predict pregnancy outcomes. J Periodontol. 2005; 76:171-7.

Davis MY, Zhang H, Brannan LE, Carman RJ, Boone JH. Rapid change of fecal microbiome and disappearance of Clostridium difficile in a colonized infant after transition from breast milk to cow milk. Microbiome 2016; 4:53.

de Andrés J, Jiménez E, Chico-Calero I, Fresno M, Fernández L, Rodríguez JM. Physiological translocation of lactic acid bacteria during pregnancy contributes to the composition of the milk microbiota in mice. Nutrients 2017; 10: E14.

Del Chierico F, Vernocchi P, Petrucca A, Paci P, Fuentes S, Praticò G, et al. Phylogenetic and metabolic tracking of gut microbiota during perinatal development. PLoS One 2015; 10:e0137347.

Dial MS. Proton pump inhibitor use and enteric infections. Am J Gastroenterol 2009; 104 Suppl 2:S10-16.

Diaz Heijtz R, Wang S, Anuar F, Qian Y, Björkholm B, Samuelsson A, et al. Normal gut microbiota modulates brain development and behavior. Proc Natl Acad Sci U S A 2011; 108:3047-3052.

DiGiulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM, Gotsch F, et al. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: a molecular and culture-based investigation. PloS One 2008; 3:e3056.

DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, Gómez R, Kim CJ, Seok KS, et al. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm prelabor rupture of membranes. Am J Reprod Immunol 2011;64:38-57.

Dominguez F, Gadea B, Mercader A, Esteban FJ, Pellicer A, Simón C. Embryologic outcome and secretome profile of implanted blastocysts obtained after coculture in human endometrial epithelial cells versus the sequential system. Fertil Steril 2010;93:774-782.e1.

Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. Proc Natl AcadSci USA. 2010; 107:11971–11975.

Dong Y, St Clair PJ, Ramzy I, Kagan-Hallet KS, Gibbs RS. A microbiologic and clinical study of placental inflammation at term.Obstet Gynecol 1987;70:175-182.

Dong XD, Li XR, Luan JJ, Liu XF, Peng J, Luo YY, et al. Bacterial communities in neonatal feces are similar to mothers' placentae. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2015; 26:90-94.

Doyle RM, Alber DG, Jones HE, Harris K, Fitzgerald F, Peebles D, et al. Term and preterm labour are associated with distinct microbial community structures inplacental membranes which are independent of mode of delivery. Placenta 2014; 35:1099-101.

Duranti S, Lugli GA, Mancabelli L, Armanini F, Turroni F, James K, et al. Maternal inheritance of bifidobacterial communities and bifidophages in infants through vertical transmission. Microbiome 2017; 5:66.

Eckert LO, Moore DE, Patton DL, Agnew KJ, Eschenbach DA: Relationship of vaginal bacteria and inflammation with conception and early pregnancy loss following in-vitro fertilization. Infect Dis ObstetGynecol 2003; 11:11–17.

Fallani M, Amarri S, Uusijarvi A, Adam R, Khanna S, Aguilera M, et al. Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. Microbiology 2011; 157:1385-1392.

Fardini Y, Chung P, Dumm R, Joshi N, Han YW. Transmission of diverse oral bacteria to murine placenta: Evidence for the oral microbiome as a potential source of intrauterine infection. Infect Immun 2010; 78:1789-1796.

Favier CF, Vaughan EE, De Vos WM, Akkermans ADL.Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates.Appl Environ Microbiol 2002; 68:219-226.

Favre A, Szylit O, Popot F, Catala I, Rondeau C, Maurage C, et al. Diet, length of gestation, and fecal short chain fatty acids in healthy premature neonates. J Parent Enteral Nutr 2002; 26:51-56.

Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. Pharmacol Res 2013; 69: 1-10.

Fernández L, Cárdenas N, Arroyo R, Manzano S, Jiménez E, Martín V, et al. Prevention of infectious mastitis by oral administration of Lactobacillus salivarius PS2 during late pregnancy. Clin Infect Dis 2016; 62: 568-573.

Fitzstevens JL, Smith KC, Hagadorn JI, Caimano MJ, Matson AP, Brownell EA. Systematic Review of the Human Milk Microbiota. Nutr Clin Pract 2017; 32: 354-364.

Franasiak JM, Scott RT. Reproductive tract microbiome in assisted reproductive technologies. Fertil Steril 2015;104:1364-71.

Franasiak JM, Werner MD, Juneau CR, Tao X, Landis J, Zhan Y, et al. Endometrial microbiome at the time of embryo transfer: next-generation sequencing of the 16S ribosomal subunit. J Assist Reprod Genet 2016; 33:129-136.

Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. Stool microflora in extremely low birthweight infants. Arch Dis Child Fetal Neonat Ed 1999; 80:F167-173.

Gilbert SF, Sapp J, Tauber AI. A symbiotic view of life: we have never been individuals. Quart Rev Biol 2012; 87:325-341.

Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes ofpreterm birth. Lancet 2008; 371:75e84.

Gomez-Gallego C, Garcia-Mantrana I, Salminen S, Collado MC. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. Semin Fetal Neonatal Med. 2016; 21:400-405.

Gosalbes MJ, Llop S, Valles Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. Clin Exp Allergy. 2013; 43: 198-211.

Grahn N, Olofsson M, Ellnebo-Svedlund K, Monstein HJ, Jonasson J. Identification of mixed bacterial DNA contamination in broad-range PCR amplification of 16SrDNA V1 and V3 variable regions by pyrosequencing of cloned amplicons. FEMS Microbiol Lett. 2003; 219:87–91.

Gray LEK, O'Hely M, Ranganathan S, Sly PD, Vuillermin P. The maternal diet, gut bacteria, and bacterial metabolites during pregnancy influence offspring asthma. Front Immunol 2017; 8:365.

Green KA, Zarek S, Catherino WH. Gynecologic health and disease in relation to the microbiome of the female reproductive tract. Fertil Steril 2015;104: 1351–1357.

Greenwood C, Morrow AL, Lagomarcino AJ, Altaye M, Taft DH, Yu Z, et al. Early empiric antibiotic use in preterm infants is associated with lower bacterial diversity and higher relative abundance of Enterobacter. J Pediatr 2014; 165: 23-29.

Hammond KA. Adaptation of the maternal intestine during lactation. J Mammary Gland Biol Neopl 1997; 2: 243-252.

Han YW, Redline RW, Li M, Yin L, Hill GB, McCormick TS. Fusobacterium nucleatum induces premature and term stillbirths in pregnant mice: Implication of oral bacteria in preterm birth. Infect Immun 2004; 72:2272–2279.

Han YW, Ikegami A, Bissada NF, Herbst M, Redline RW, Ashmead GG. Transmission of an uncultivated Bergeyella strain from the oral cavity to amniotic fluid in a case of preterm birth.J ClinMicrobiol 2006; 44:1475–1483.

Han YW, Shen T, Chung P, Buhimschi IA, Buhimschi CS. Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. J Clin Microbiol 2009; 47:38–47.

Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, Redline RW. Term stillbirth caused by oral Fusobacterium nucleatum. Obstet Gynecol 2010; 115:442–445.

Hansen R, Scott KP, Khan S, Martin JC, Berry SH, Stevenson M, et al. First-pass meconium samples from healthy term vaginally-delivered neonates: an analysis of the microbiota. PLoS One 2015; 10: e0133320.

Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2000; 30:61-67.

Harris JW, Brown JH. The bacterial content of the uterus at cesarean section. Am J Obstet Gynecol 1927; 13, 133–143.

Hauguel-de Mouzon S, Guerre-Millo M.The placenta cytokine network and inflammatory signals. Placenta 2006; 27:794-8.

Hell E, Giske CG, Hultenby K, Danielsson KG, Marchini G. Attachment and biofilm forming capabilities of Staphylococcus epidermidis strains isolated from preterm infants. Curr Microbiol 2013; 67:712-717.

Hill CJ, Lynch DB, Murphy K, Ulaszewska M, Jeffery IB, O'Shea CA, et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. Microbiome 2017; 5:4.

Hillier SL, Martius J, Krohn M, Kiviat N, Holmes KK, Eschenbach DA. A case-control study of the chorioamnionic infection and histologic chorioamnionitis in prematurity. N Engl J Med 1988; 319:972-8.

Hitti J, Riley DE, Krohn MA, Hillier SL, Agnew KJ, Krieger JN, et al. Broad-spectrum bacterial ribosomal RNA polymerase chain reaction for detecting amniotic fluid infection among women in preterm labor. Clin Infect Dis 1997; 24, 1228-1232.

Hu J, Nomura Y, Bashir A, Fernandez-Hernandez H, Itzkowitz S, Pei Z, et al. Diversified microbiota of meconium is affected by maternal diabetes status. PLoS One 2013; 8: e78257.

Hurrell E, Kucerova E, Loughlin M, Caubilla-Barron J, Hilton A, Armstrong R, et al. Neonatal enteral feeding tubes as loci for 355 colonisation by members of the Enterobacteriaceae. BMC Infect Dis 2009; 9:146.

Hunt KM, Preuss J, Nissan C, Davlin CA, Williams JE, Shafii B, et al. Human milk oligosaccharides promote the growth of staphylococci. Appl Environ Microbiol 2012;78:4763-4770.

Jacquot A, Neveu D, Aujoulat F, Mercier G, Marchandin H, Jumas-Bilak E, et al. Dynamics and clinical evolution of bacterial gut microflora in extremely premature patients. J Pediatr 2011; 158:390-396.

Jess, T. Microbiota, antibiotics, and obesity. New England J Med 2014; 371:2526-2528.

Jiao Y, Zhang W, Ma J, Wen C, Wang P, Wang Y, et al. Early onset of neonatal listeriosis. Pediatr Int 2011; 53:1034-1037.

Jiménez E, de Andrés J, Manrique M, Pareja-Tobes P, Tobes R, Martínez-Blanch JF, et al. Metagenomic analysis of milk of healthy and mastitis-suffering women. J Hum Lact 2015; 31(3), pp. 406-415.

Jiménez E, Arroyo R, Cárdenas N, Marín M, Serrano P, Fernández L, et al. Mammary candidiasis: A medical condition without scientific evidence? PloS One 2017; 12: e0181071.

Jiménez E, Delgado S, Maldonado A, Arroyo R, Albújar M, García N, et al. Staphylococcus epidermidis: a differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. BMC Microbiol 2008: 8: 143.

Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Nueno-Palop C, et al. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. Curr Microbiol 2005; 51: 270-274.

Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M, Xaus J, et al. Is meconium from healthy newborns actually sterile? Res Microbiol 2008; 159: 187-193.

Jones HE, Harris KA, Azizia M, Bank L, Carpenter B, Hartley JC, et al. Differing prevalence and diversity of bacterial species in placental membranes from very preterm and term labor. PLoS One 2009;4:e8205.

Jost T, Lacroix C, Braegger C, Chassard C. Assessment of bacterial diversity in breast milk using culture-dependent and culture-independent approaches. Br J Nutr 2013; 110:1253-1262.

Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Rochat F, Chassard C. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. Environ Microbiol 2014; 16: 2891-2904.

Kalliomäki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Isolauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. J Allergy Clin Immunol. 2001; 107:129-134.

Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, et al. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. Proc Natl Acad Sci U S A 2011; 108 Suppl 1:4578-4585.

Kulagina EV, Shkoporov AN, Kafarskaia LI, Khokhlova EV, Volodin NN, Donskikh EE, et al. Molecular genetic study of species and strain variability in bifidobacteria population in intestinal microflora of breastfed infants and their mothers. Bull Exp Biol Med. 2010; 150: 61-64.

Krohn MA, Hillier SL, Nugent RP, Cotch MF, Carey JC, Gibbs RS, et al. The genital flora of women with intraamniotic infection.Vaginal Infection and Prematurity Study Group. J Infect Dis 1995; 171:1475e80.

Kuppala VS, Meinzen-Derr J, Morrow AL, Schibler KR. Prolonged initial empirical antibiotic treatment is associated with adverse outcomes in premature infants. J Pediatr 2012; 159:720-725.

LaTuga MS, Ellis JC, Cotton CM, Goldberg RN, Wynn JL, Jackson RB, et al. Beyond bacteria: A study of the enteric microbial consortium in extremely low birth weight infants. PLoS One 2011; 6:e27858.

Lauder AP, Roche AM, Sherrill-Mix S, Bailey A, Laughlin AL, Bittinger K, et al. Comparison of placenta samples with contamination controls does not provide evidence for a distinct placenta microbiota. Microbiome 2016; 4:29.

Laurence M, Hatzis C, Brash DE. Common contaminants in nextgenerationsequencing that hinder discovery of low-abundancemicrobes. PLoS One 2014, 9:e97876.

Laursen MF, Zachariassen G, Bahl MI, Bergström A, Høst A, Michaelsen KF, et al. Having older siblings is associated with gut microbiota development during early childhood. BMC Microbiol 2015; 15:154.

Lawn JE, Gravett MG, Nunes TM, Rubens CE, Stanton C; GAPPS Review Group. Global report on preterm birth and stillbirth (1 of 7): definitions, description of the burden and opportunities to improve data. BMC Preg Child 2010; 10 (Suppl 1):S1-2393.

Le Huërou-Luron I, Blat S, Boudry G. Breast- v. formula-feeding: impacts on the digestive tract and immediate and long-term health effects. Nutr Res Rev 2010; 23:23-36.

Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. Am J Obstet Gynecol 2003;189:139e47.

Levin AM, Sitarik AR, Havstad SL, Fujimura KE, Wegienka G, Cassidy-Bushrow AE, et al. Joint effects of pregnancy, sociocultural, and environmental factors on early life gut microbiome structure and diversity. Sci Rep 2016; 6:31775.

Li N, Liu E, Guo J, Pan L, Li B, Wang P, et al. Maternal prepregnancy body mass index and gestational weight gain on pregnancy outcomes. PLoS One 2013;8:e82310.

Lim ES, Wang D, Holtz LR. The bacterial microbiome and virome milestones of infant development. Trends Microbiol 2016; 24:801-810.

Macpherson AJ, de Agüero MG, Ganal-Vonarburg SC. How nutrition and the maternal microbiota shape the neonatal immune system. Nat Rev Immunol 2017; 17:508-517.

Madan JC, Salari RC, Saxena D, Davidson L, O'Toole GA, Moore JH, et al. Gut microbial colonisation in premature neonates predicts neonatal sepsis. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2012; 97:F456-F462.

Magne F, Abély M, Boyer F, Morville P, Pochart P, Suau A. Low species diversity and high interindividual variability in faeces of preterm infants as revealed by sequences of 16S rRNA genes and PCR-temporal temperature gradient gel electrophoresis profiles. FEMS Microbiol Ecol 2006; 57:128-138.

Macfie J. Current status of bacterial translocation as a cause of surgical sepsis. Brit Med Bull 2004; 71: 1-11.

Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Kubota H, Gawad A, Sakai T, et al. Mother-to-infant transmission of intestinal Bifidobacterial strains has an impact on the early development of vaginally delivered infant's microbiota. PLoS One 2013; 8:e78331.

Makino H, Kushiro A, Ishikawa E, Muylaert D, Kubota H, Sakai T, et al. Transmission of intestinal Bifidobacterium longum subsp. longum strains from mother to infant, determined by multilocus sequencing typing and amplified fragment length polymorphism. Appl Environ Microbiol 2011; 77:6788-6793.

Mändar R. Microbiota of male genital tract: impact on the health of man and his partner. Pharmacol Res 2013; 69:32-41.

Marchant EA, Boyce GK, Sadarangani M, Lavoie PM. Neonatal sepsis due to coagulase-negative staphylococci. Clin Develop Immunol 2013; 2013: 586076.

Martín R, Jiménez E, Heilig H, Fernández L, Marín ML, Zoetendal EG, et al. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. Appl Environ Microbiol 2009; 75: 965-969.

Martín R, Jiménez E, Olivares M, Marín ML, Fernández L, Xaus J, et al. Lactobacillus salivarius CECT 5713, a potential probiotic strain isolated from infant feces and breast milk of a mother-child pair. Int J Food Microbiol 2006; 112: 35-43.

Martín R, Langa S, Reviriego C, Jiménez E, Marín ML, Olivares M, et al. The commensal microflora of human milk: new perspectives for food bacteriotherapy and probiotics. Trends Food Sci Technol 2004;15:121-127.

Martín R, Langa S, Reviriego C, Jimínez E, Marín ML, Xaus J, et al. Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. J Pediatr. 2003; 143:754-758.

Martin R, Makino H, Cetinyurek Yavuz A, Ben-Amor K, Roelofs M, Ishikawa E, et al. Early-life events, including mode of delivery and type of feeding, siblings and gender, shape the developing gut microbiota. PloS One 2016; 11:e0158498.

Martín V, Mañes-Lázaro R, Rodríguez JM, Maldonado-Barragán A. Streptococcus lactarius sp. nov., isolated from breast milk of healthy women. Int J Syst Evol Microbiol 2011; 61: 1048-1052.

Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L, Rodriguez-Baños M, Campo RD, Fernández L, et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. J Hum Lact 2012; 28: 36-44.

Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. Nature 2012; 489:231-241.

Mcdonald SD, Han Z, Mulla S, Beyene J. Overweight and obesity in mothers and risk of preterm birth and low birth weight infants: systematic review and meta-analyses. BMJ 2010; 341:1-20.

McFall-Ngai M, Hadfield MG, Bosch TC, Carey HV, Domazet-Lošo T, Douglas AE, et al. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. Proc Natl Acad Sci U S A 2013; 110:3229-3236.

McGuire MK, McGuire MA. Got bacteria? The astounding, yet not-so-surprising, microbiome of human milk. Curr Opin Biotechnol. 2017; 44:63-68.

McGuire MK, Meehan CL, McGuire MA, Williams JE, Foster J, Sellen DW, et al. What's normal? Oligosaccharide concentrations and profiles in milk produced by healthy women vary geographically. Am J Clin Nutr. 2017; 105:1086-1100.

Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turroni F, Mahony J, et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. Microbiol Mol Biol Rev. 2017; 81: pii: e00036-17.

Milani C, Mancabelli L, Lugli GA, Duranti S, Turroni F, Ferrario C, et al. Exploring vertical transmission of bifidobacteria from mother to child. Appl Environ Microbiol. 2015; 81:7078-7087.

Mira A, Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria. In: M. McGuire, M. McGuire and L. Bode, eds, Prebiotics and Probiotics in Human Milk, pp. 349-364. London: Academic Press, 2017.

Moles L, Gómez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, de Vos W, et al. Bacterial diversity in meconium of preterm neonates and evolution of their fecal microbiota during the first month of life. PLoS One 2013; 8: e66986.

Moles L, Gómez M, Jiménez E, Fernández L, Bustos G, Chaves F, et al. Preterm infant gut colonization in the neonatal ICU and complete restoration 2 years later. Clin Microbiol Infect 2015; 21:936.e1-10.

Mor G, Kwon J Y. Trophoblast-microbiome interaction: a new paradigm on immune regulation. Am J Obstet Gynecol 2015; 213(4 Suppl):S131-137.

Moran NA. Symbiosis as an adaptive process and source of phenotypic complexity. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104:8627-8633.

Moreno I, Codoñer FM, Vilella F, Valbuena D, Martinez-Blanch JF, Jimenez-Almazán J, et al. Evidence that the endometrial microbiota has an effect on implantation success or failure. Am J ObstetGynecol 2016;215:684-703.

Morrow AL, Lagomarcino AJ, Schibler KR, Taft DH, Yu Z, Wang B, et al. Early microbial and metabolomic signatures predict later onset of necrotizing enterocolitis in preterm infants. Microbiome 2013; 1:13-2618-1-13.

Mshvildadze M, Neu J, Schuster J, Theriaque D, Li N, Mai V. Intestinal microbial ecology in premature infants assessed with non-culture-based techniques. J Pediatr 2010; 156:20e5.

Mühl H, Kochem A-J, Disqué C, Sakka SG. Activity and DNA contaminationof commercial polymerase chain reaction reagents for the universal 16SrDNA real-time polymerase chain reaction detection of bacterial pathogensin blood. Diagn Microbiol Infect Dis. 2010; 66:41-49.

Munyaka PM, Khafipour E, Ghia JE. External influence of early childhood establishment of gut microbiota and subsequent health implications. Front Pediatr 2014; 2:109.

Naeye RL, Peters EC. Causes and consequences of premature rupture of fetal membranes. Lancet 1980; 1:192e4.

Nagpal R, Tsuji H, Takahashi T, Kawashima K, Nagata S, Nomoto K, et al. Sensitive quantitative analysis of the meconium bacterial microbiota in healthy term infants born vaginally or by cesarean section. Front Microbiol 2016; 7:1997.

Neu J. The microbiome during pregnancy and early postnatal life. Semin Fetal Neonatal Med 2016; 21:373-379.

Neu J, Rushing J. Cesarean versus vaginal delivery: long-term infant outcomes and the hygiene hypothesis. Clin Perinatol 2011 38:321-331.

Neuman H, Debelius JW, Knight R, Koren O. Microbial endocrinology: the interplay between the microbiota and the endocrine system. FEMS Microbiol Rev 2015; 39:509-521.

Newton ER, Piper J, Peairs W. Bacterial vaginosis and intraamniotic infection. Am J Obstet Gynecol 1997;176:672e7.

Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O. Microbial changes during pregnancy, birth, and infancy. Front Microbiol 2016; 7:1031.

Olszak T, An D, Zeissig S, Vera MP, Richter J, Franke A, et al. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. Science 2012; 336:489-493.

Onderdonk AB, Hecht JL, McElrath TF, Delaney ML, Allred EN, Leviton A. Colonization of second-trimester placenta parenchyma. Am J Obstet Gynecol 2008a;199:52.e1-10.

Onderdonk AB, Delaney ML, DuBois AM, Allred EN, Leviton A. Detection of bacteria in placental tissues obtained from extremely low gestational age neonates. Am J Obstet Gynecol 2008b; 198:e1–e7.

Payne MS, Bayatibojakhi S. Exploringpretermbirth as a polymicrobial disease: an overview of the uterinemicrobiome. Front Immunol 2014; 5:595.

Pelzer E, Willner D, Huygens F, Buttini M. Is diversification of the endometrial microbiome significant for reproductive success? Placenta 2015; 36: A1eA60.

Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. Pediatrics 2006; 118:511-521.

Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, Serrant P, et al. Bacterial imprinting of the neonatal immune system: lessons from maternal cells? Pediatrics 2007; 119: e724-32.

Perez-Muñoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. A critical assessment of the "sterile womb" and "in utero colonization" hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. Microbiome 2017; 5:48.

Prince AL, Antony KM, Chu DM, Aagaard KM. The microbiome, parturition, and timing of birth: more questions than answers. J Reprod Immunol 2014;104-105:12-9.

Polin RA, Denson S, Brady MT; Committee on Fetus and Newborn; Committee on Infectious Diseases. Epidemiology and diagnosis of health care-associated infections in the NICU. Pediatrics 2012; 129:e1104-9.

Praveen P, Jordan F, Priami C, Morine MJ. The role of breast-feeding in infant immune system: a systems perspective on the intestinal microbiome. Microbiome 2015; 3:41.

Prince AL, Ma J, Kannan PS, Alvarez M, Gisslen T, Harris RA, et al. The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. Am J Obstet Gynecol 2016; 214:627.e1-627.e16.

Queiros da Mota V, Prodhom G, Yan P, Hohlfheld P, Greub G, Rouleau C. Correlation between placental bacterial culture results and histological chorioamnionitis: a prospective study on 376 placentas. J Clin Pathol 2013; 66: 243-8.

Racicot K, Kwon JY, Aldo P, Silasi M, Mor G. Understanding the complexity of the immune system during pregnancy. Am J Reprod Immunol 2014;72:107-116.

Rautava S, Luoto R, Salminen S, Isolauri E. Microbial contact during pregnancy, intestinal colonization and human disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol 2012; 9:565-576.

Reid G, Brigidi P, Burton JP, Contractor N, Duncan S, Fargier E, et al. Microbes central to human reproduction. Am J Reprod Immunol 2015; 73: 1–11

Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolini M, Rotta G, Bonasio R, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. Nature Immunol 2001; 2: 361-367.

Robertson SA, Chin PY, Glynn DJ, Thompson JG. Peri-conceptual cytokines-setting the trajectory for embryo implantation, pregnancy and beyond.Am J Reprod Immunol 2011; 66: 2-0.

Rodríguez JM. The origin of human milk bacteria: is there a bacterialentero-mammary-pathway during late pregnancy and lactation? Adv Nutr 2014; 5:779-784.

Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. Microb Ecol Health Dis. 2015; 26:26050.

Romano-Keeler J, Weitkamp J-H. Maternal influences on fetal microbial colonization and immune development. Pediatric Res 2015; 77:189-195.

Romero R, Gomez R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Edwin SS, et al. A fetal systemic inflammatory response is followed by the spontaneous onset of preterm parturition. Am J Obs Gynecol 1998; 179:186-93.

Romero R, Miranda J, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Chaemsaithong P, Martinez A, et al. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. J Perinat Med 2015; 43:19-36.

Roos PJ, Malan AF, Woods DL, Botha P, Hyland J, HeeseHde V. The bacteriological environment of preterm infants.South African Med J 1980; 57:347-50.

Rosenberg E, Sharon G, Atad I, Zilber-Rosenberg I. The evolution of animals and plants via symbiosis with microorganisms. Env Microbiol Rep 2010; 2:500-506.

Rougé C, Piloquet H, Butel MJ, Berger B, Rochat F, Ferraris L, et al. Oral supplementation with probiotics in very-low-birth-weight preterm infants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Am J Clin Nutr 2009; 89:1828-1835.

Ruiz L, Espinosa-Martos I, García-Carral C, Manzano S, McGuire MK, Meehan CL, et al. What's normal? Immune profiling of human milk from healthy women living in different geographical and socioeconomic settings. Front Immunol 2017; 8:696.

Ruiz L, Moles L, Gueimonde M, Rodriguez JM. Perinatal microbiomes' influence on preterm birth and preterms' health: influencing factors and modulation strategies. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2016; 63:e193-e203.

Sakata H, et al. Development of the intestinal flora in very low birth weight infants compared to normal full-term newborns. Eur J Pediatr 1985; 144:186-190.

Salminen, S., G. R. Gibson, A. L. McCartney, and E. Isolauri. 2004. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children. Gut 53:1388-1389.

Salter SJ, Cox MJ, Turek EM, Calus ST, Cookson WO, Moffat MF, et al. Reagent and laboratory contamination can critically impact sequence-based microbiome analyses. BMC Biol 2014; 12:87.

Satokari R, Grönroos T, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Bifidobacterium and Lactobacillus DNA in the human placenta. Lett App Microbiol 2009; 48:8-12.

Schwiertz A, Gruhl B, Löbnitz M, Michel P, Radke M, Blaut M. Development of the intestinal bacterial composition in hospitalized preterm infants in comparison with breast-fed, full-term infants. Pediatr Res 2003; 54:393-399.

Schanler RJ, Fraley JK, Lau C, Hurst NM, Horvath L, Rossmann SN. Breastmilk cultures and infection in extremely premature infants. J Perinatol. 2011 31: 335-338.

Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. Physiol Rev. 2010; 90:859-904.

Shah BA, Padbury JF. Neonatal sepsis an old problem with new insights. Virulence 2014; 5:1.

Siggers RH, Siggers J, Thymann T, Boye M, Sangild PT. Nutritional modulation of the gut microbiota and immune system in preterm neonates susceptible to necrotizing enterocolitis. J Nutr Biochem 2011; 22:511-521.

Simonsen KA, Anderson-Berry AL, Delair SF, Davies HD. Early-onset neonatal sepsis. Clin Microbiol Rev 2014; 27:21-47.

Solís G, de Los Reyes-Gavilan CG, Fernández N, Margolles A, Gueimonde M. Establishment and development of lactic acid bacteria and bifidobacteria microbiota in breast-milk and the infant gut. Anaerobe 2010; 16:307-310.

Solt I. The human microbiome and the great obstetrical syndromes: a new frontier in maternal-fetal medicine. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2015; 29:165-175.

Soto E, Romero R, Richani K, Yoon BH, Chaiworapongsa T, Vaisbuch E, et al. Evidence for complement activation in the amniotic fluid of women with spontaneous preterm labor and intra-amniotic infection. J Matern Fetal Neonatal Med 2009; 22:983-992.

Srinivas SK, Ma Y, Sammel MD, Chou D, McGrath C, Parry S, et al. Placental inflammation and viral infection are implicated in second trimestre pregnancy loss. Am J ObstetGynecol 2006; 195: 797–802.

Steel JH, Malatos S, Kennea N, Edwards AD, Miles L, Duggan P, et al. Bacteria and inflammatory cells in fetal membranes do not always cause preterm labor. Pediatr Res 2005; 57, 404-411.

Stewart FM, Freeman DJ, Ramsay JE, Greer IA, Caslake M, Ferrell WR. Longitudinal assessment of maternal endothelial function and markers of inflammation and placental function throughout pregnancy in lean and obese mothers. J Clin Endocrinol Metab 2007;92: 969-75.

Stewart JA, Chadwick VS, Murray A. Investigations into the influence of host genetics on the predominant eubacteria in the faecal microflora of children. J Med Microbiol 2005; 54:1239-1242.

Stout MJ, Conlon B, Landeau M, Lee I, Bower C, Zhao Q, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. Am J Obstet Gynecol. 2013; 208:226.e1-226.e7.

Szylit O, Maurage C, Gasqui P, Popot F, Favre A, Gold F, et al. Fecal short-chain fatty acids predict digestive disorders in premature infants. J Parent Ent Nutr 1998; 22:136-141.

Straka M. Pregnancy and periodontal tissues. Neuro Endocrinol Lett. 2011; 32: 34-38.

Takahashi H, Mikami K, Nishino R, Matsuoka T, Kimura M, Koga Y. Comparative analysis of the properties of bifidobacterial isolates from fecal samples of mother-infant pairs. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2010; 51: 653-660.

Tissier H. Recherchessur la floreintestinale des nourrissons (état normal etpathologique). Paris: G. Carre and C. Naud, 1900.

Torrazza RM, Ukhanova M, Wang X, Sharma R, Hudak ML, Neu J, et al. Intestinal microbial ecology and environmental factors affecting necrotizing enterocolitis. PLoS One 2013; 8:e83304.

Tsekoura EA, Konstantinidou A, Papadopoulou S, Athanasiou S, Spanakis N, Kafetzis D, et al. Adenovirus genome in the placenta: association with histological chorioamnionitis and preterm birth. J MedVirol 2010; 82:1379-1383.

Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunenko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, et al. A core gut microbiome in obese and lean twins. Nature 2009; 457:480-484.

Turta O, Rautava S. Antibiotics, obesity and the link to microbes - what are we doing to our children? BMC Med 2016; 14:57.

U.S Department of Health and Human Services. The Surgeon General's Call to Action to Support Breastfeeding. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, Office of the Surgeon General; 2011.

Van Oostrum N, De Sutter P, Meys J, Verstraelen H. Risks associated with bacterial vaginosis in infertility patients: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2013; 28:1809–1815.

Vanterpool SF, Been JV, Houben ML, Nikkels PG, De Krijger RR, Zimmermann LJ, et al. Porphyromonas gingivalis within placental villous mesenchyme and umbilical cord stroma is associated with adverse pregnancy outcome. PLoS One 2016; 1:e0146157.

Verstraelen H, Vilchez-Vargas R, Desimpel F, Jauregui R, Vankeirsbilck N, Weyers S, et al. Characterisation of the human uterine microbiome in non-pregnant women through deep sequencing of the V1-2 region of the 16S rRNA gene. Peer J 2016; 4: e1602.

Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B; PretermBirth International Collaborative (PREBIC). Maternal microbiome. A pathway to preterm birth. Semin Fetal Neonatal Med 2016;21:94-99.

Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Petrof EO, Sun J, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. ISME J 2009; 3:944-954.

Wikoff WR, Anfora AT, Liu J, Schultz PG, Lesley SA, Peters EC, et al. Metabolomics analysis reveals large effects of gut microflora on mammalian blood metabolites. Proc Natl Acad Sci U S A 2009; 106:3698-3703.

Yassour M, Vatanen T, Siljander H, Hämäläinen AM, Härkönen T, Ryhänen SJ, et al. Natural history of the infant gut microbiome and impact of antibiotic treatment on bacterial strain diversity and stability. Sci Transl Med 2016; 8:343ra381.

Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. Nature 2012; 486:222-227.

Yudin MH: Bacterial vaginosis in pregnancy: diagnosis, screening, and management. Clin-Perinatol 2005; 32:617–627.

Zheng J, Xiao X, Zhang Q, Mao L, Yu M, Xu J. The placental microbiome varies in association with low birth weight in full-term neonates. Nutrients 2015 7; 7:6924-6937.

Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. FEMS Microbiol Rev 2008; 32:723-735.

Zimmermann P, Gwee A, Curtis N. The controversial role of breast milk in GBS late-onset disease. J Infect 2017; 74 Suppl 1: S34-S40.

MICROBIOTA AUTÓCTONA, PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

Juan Evarísto Suárez
Área de Microbiología. Universidad de Oviedo

La microbiota autóctona está constituida por el conjunto de microorganismos que colonizan establemente la superficie epidérmica y la de las mucosas. En general, la relación es mutualista (beneficiosa para los dos socios de la simbiosis) pero puede llegar a ser parasitaria como consecuencia de disfunciones de la respuesta inmune.

La microbiota de la piel es escasa y está dominada por corinebacterias, Propionibacterium acnes y *Staphylococcus epidermidis.* En los pliegues aumenta y se diversifica debido al sudor que suministra humedad y nutrientes. El olor peculiar que desprenden dichos pliegues es consecuencia de la actividad microbiana.

El **aparato digestivo** presenta multitud de conductos y cavidades, en cada uno de los cuales encontramos una microbiota característica:
Boca: Multitud de bacterias, protozoos y levaduras. El papel mutualista de muchas de ellas es discutible; así, algunas bacterias causan caries y otros problemas dentales, debido a que producen ácido que ataca el esmalte de los dientes. Las levaduras son responsables de las aftas que aparecen en la mucosa de personas inmunodeprimidas.

Esófago: No existe colonización permanente; el esófago es un conducto virtual (está colapsado por la musculatura que lo rodea para evitar regurgitaciones), por lo que la comida se abre paso a su través y arrastra a los posibles microorganismos que pudieran intentar establecerse en él.
Estómago: Fundamentalmente lactobacilos. La acidez estomacal es una barrera casi infranqueable para los microorganismos que ingerimos con la comida y la bebida, protegiendo así al intestino frente a las infecciones. La concentración de lactobacilos es tan baja que no se sabe si ejercen algún efecto mutualista significativo.
Intestino delgado: En duodeno la microbiota es escasa, aún permanece parte de la acidez estomacal y en él desembocan los conductos biliar y pancreático. La bilis es tóxica para muchas bacterias y el fluido pancreático contiene una serie de enzimas que podrían, literalmente, digerir a las bacterias que se establecieran allí. En yeyuno se va incrementando la concentración bacteriana, que está formada principalmente por lactobacilos. En ileón la concentración y diversidad de los microorganismos residentes aumenta rápidamente y va reflejando paulatinamente la que tendremos en el intestino grueso.
Intestino grueso: La densidad microbiana es enorme; está dominada por bacterias, pero también hay arqueas, hongos (levaduras) y protozoos. Además de una enorme densidad, existe una gran diversidad; se calcula que hay más de 500 especies ocupando ese hábitat, de manera que, en su conjunto, dan lugar a un ecosistema extraordinariamente maduro y, por tanto, resistente a la inducción de cambios desde el exterior; es lo que se denomina la homeostasis intestinal. Dentro de los grupos bacterianos que habitan en el intestino grueso, los más abundantes son los Firmicutes y los Bacteroidetes, que constituyen aproximadamente el 35% del total en cada caso, seguidos por las Actinobacterias, que serían algo menos del 10%. Los géneros más abundantes dentro de los Firmicutes son Faecalibacterium y Roseburia; al grupo de los Bacteroidetes pertenecen las bacterias del género Bacteroides, que es el más abundante en el hábitat intestinal, siendo las Actinobacterias más frecuentes las encuadradas dentro del género Bifidobacterium. La inmensa mayoría de estas bacterias son anaerobias estrictas; es decir, obtienen la energía que necesitan a través de la fermentación o de la respiración anaerobia, siendo extremadamente susceptibles al oxígeno. Esta limitación las mantuvo en el anonimato hasta que se desarrollaron los métodos independientes de cultivo, que identifican a los microorganismos a través del análisis de la secuencia de nucleótidos de sus genomas.

¿Cómo se produce la colonización del aparato digestivo? Inicialmente durante el parto, como consecuencia del contacto del niño con la microbiota vaginal y la propia de la zona perineal. Esta colonización se ve favorecida por el pH gástrico relativamente elevado y la secreción atenuada de bilis, típicas de los recién nacidos. La evolución posterior de la microbiota va a estar muy ligada al régimen alimenticio del niño. Así, durante los primeros meses solo tomará leche, que promoverá el establecimiento de lactobacilos y bifidobacterias; los primeros, porque metabolizan la lactosa muy eficazmente y las segundas, debido a que en la leche humana se encuentran una serie de oligosacáridos complejos que utilizan muy bien. Dichos oligosacáridos no se encuentran en la leche de otros mamíferos y no son asimilables por nosotros, por lo que parece que su función sería precisamente favorecer el establecimiento de las bifidobacterias en nuestro intestino. A los 5-6 meses de edad se inicia la toma de papillas de frutas, lo que supone el aporte de otros azúcares y de polisacáridos y promueve la colonización por bacterias de la división Firmicutes y la diversificación del ecosistema intestinal. Entre unas dos semanas y un mes después se inicia la alimentación con purés de verduras, que contienen multitud de polisacáridos complejos y facilitan la llegada de los Bacteroidetes y el asentamiento definitivo de los Firmicutes. La adición paulatina de carne, yema de huevo y pescado a los purés provocaría la colonización por Escherichia coli y otras proteobacterias, de manera que en el momento del cambio a una dieta adulta ya estarían en el intestino todos los actores que determinarán el asentamiento de una microbiota madura y compensada, lo que ocurre, más o menos, a partir de los dos años de edad.

Microbiota del aparato genitourinario: Las diferencias anatómicas y fisiológicas del aparato urogenital de hombres y mujeres, obliga a que los tratemos por separado.
Hombre: La microbiota es escasa debido a que la orina lava la uretra periódicamente y a que el orificio de salida está muy separado del ano, que es la principal fuente de contaminación del aparato excretor. Por eso las infecciones urinarias son infrecuentes en los hombres, salvo que haya circunstancias predisponentes como el uso de pañales; así, son relativamente comunes en ancianos y en niños pequeños, siendo éste el único tramo de la vida en que la infección urinaria es más frecuente en varones que en mujeres.
Mujer: Debido a la separación entre la uretra y la vagina, la orina no lava esta última cavidad, permitiendo así el establecimiento de una microbiota estable en ella. Esto la hace, al mismo tiempo, susceptible a la infección, fundamentalmente desde el tracto entérico, debido a la proximidad de la vulva y el ano. La vagina es, además, una estación intermedia que facilita el acceso de la microbiota intestinal a la uretra, hasta el punto de que, casi invariablemente, la infección de la vejiga urinaria viene precedida por la presencia del agente causal en la vagina. La corta longitud de la uretra facilita también la llegada de microorganismos indeseables a la vejiga y la producción de cistitis y otras afecciones renales.
Ahora bien, los microorganismos predominantes en la vagina cambian con la edad y la actividad endocrina. Así, en las niñas premenárquicas el epitelio vaginal es fino y está bastante seco, lo que determina que la microbiota predominante sea la de la piel más un reflejo de la intestinal que contamina la zona perineal. Esta microbiota es transitoria, de forma que la colonización es permanente porque hay una fuente continua de nuevos microorganismos. La llegada a la pubertad, provocada por el inicio de la producción de estrógenos, va a generar un aumento del espesor del epitelio vaginal y la secreción de un exudado que favorece la colonización por lactobacilos y, en menor medida, por *Gardnerella vaginalis, Candida albicans* y otros, que pueden convertirse en patógenos si proliferan demasiado. Las especies de lactobacilos más habituales en la mucosa vaginal son *L. crispatus, L. jensenii, L. gasseri y L. iners*. Los lactobacilos producen ácido láctico y agua oxigenada que eliminan a los microorganismos de origen intestinal y controlan la densidad de los patógenos potenciales.

Durante el embarazo se induce una cierta inmunosupresión para evitar el rechazo del embrión, que expresará antígenos paternos y, por tanto, extraños para el sistema inmunitario materno. Este efecto se ve compensado por el incremento de la concentración de IgA y de células fagocíticas y la disminución del pH vaginal. Este último efecto es debido al incremento de la concentración de lactobacilos y de la acidez que producen, sobre todo durante el tercer trimestre del embarazo. La razón de estos cambios sería doble; por un lado, la protección de la mucosa vaginal y del feto frente al desarrollo de procesos infecciosos por vía ascendente y, por otro, la eliminación de posibles agentes nocivos que pudieran inducir patología en la madre (fiebres puerperales) o en el recién nacido (por ejemplo, meningitis por *Streptococcus agalactiae*), derivadas de la infección en el momento del parto. La menopausia provoca una gran disminución del exudado vaginal, de la densidad de los microorganismos residentes y el cambio de la microbiota predominante, que pasa a estar constituida por bacterias intestinales y de la piel, como ocurría durante la infancia. Como consecuencia, disminuyen las infecciones vaginales típicas y aumenta la patología urinaria, causada fundamentalmente por bacterias entéricas. Este efecto puede revertirse parcialmente con terapia hormonal, que mimetizará las condiciones de la vagina durante la edad fértil y conducirá, de nuevo, a la dominancia de los lactobacilos en la cavidad.

Funciones de la microbiota autóctona. Las principales son cuatro y actúan constantemente, razón por la cual, paradójicamente, pasan desapercibidas:

Suministro de nutrientes esenciales, como las vitaminas y algunos aminoácidos, cuya necesidad de ingestión se modera gracias a los producidos por la microbiota indígena.

Aprovechamiento de nutrientes no digeribles: De los múltiples glúcidos complejos que se incluyen en nuestra dieta, solamente tres, la sacarosa, la lactosa (no siempre) y el almidón, son digeribles por nuestras propias enzimas. El resto, como la celulosa y las pectinas de origen vegetal y los glicosaminoglicanos de la carne (heparán y condroitín sulfato entre otros) llegan al intestino grueso casi intactos. Allí son degradados por la microbiota autóctona que genera H_2, CO_2 y ácidos grasos de cadena corta. Estos últimos inhiben el crecimiento de organismos patógenos, son una fuente de energía fundamental para los enterocitos y neutralizan los grupos amonio generados por desaminación de los aminoácidos y otros nutrientes. Por otro lado, incrementan la presión osmótica luminal, induciendo la secreción de agua y, junto a los gases generados, aumentan el volumen de las heces, todo lo cual estimula el peristaltismo intestinal. Por último, los ácidos acético y propiónico pueden llegar al hígado y participar en la síntesis de lípidos, el primero, e integrarse en la ruta glucolítica, el segundo.

Desarrollo del sistema inmunitario: Las bacterias en general y las de la microbiota de ocupación en particular, presentan en su superficie componentes que contribuyen a la puesta a punto de nuestras defensas frente a la infección. Por tanto, el contacto continuo entre ellas y el sistema inmunitario es una especie de entrenamiento que lo mantiene en buena forma para poder repeler con eficacia a los agentes infecciosos.

Antagonismo microbiano: Se refiere a la capacidad de impedir el asentamiento de microorganismos foráneos, potencialmente patógenos, sobre nuestras mucosas.

Mecanismos implicados en el antagonismo microbiano. Existen tres principales, la interferencia con la colonización de las mucosas, la producción de compuestos antimicrobianos y la coagregación con los patógenos potenciales.

Interferencia con la colonización: El establecimiento de un microorganismo en una cavidad depende de su capacidad de adherirse al epitelio y de aprovechar las condiciones ambientales de la misma. La adherencia depende del reconocimiento entre moléculas superficiales del microorganismo (adhesinas) y del hospedador (receptores). El aprovechamiento del ambiente incluye la utilización eficaz de los nutrientes disponibles y la adaptación a las condiciones del mismo (pH, pO_2, etc). La microbiota de ocupación está perfectamente adaptada a vivir en nuestras cavidades, lo que explica que el establecimiento de patógenos solo ocurra cuando se ha eliminado la microbiota normal (por ejemplo, tras un tratamiento con antibióticos por vía oral) o se produce una invasión extraordinariamente numerosa (caso del cólera o de las toxiinfecciones por Salmonella).

Producción de compuestos antimicrobianos: Las bacterias de la microbiota generan multitud de sustancias con capacidad antibiótica como los ácidos y el agua oxigenada, que se obtienen por fermentación de los glúcidos, y las bacteriocinas, que son péptidos que forman poros en las membranas y/o inhiben la síntesis de la pared bacteriana, siendo, por ello, bactericidas.

Coagregación con los patógenos: Algunos miembros de la microbiota se pegan a los organismos extraños e impiden su unión a la mucosa; al mismo tiempo, la vecindad de ambos aumenta la efectividad de los compuestos antimicrobianos que pudiera producir el mutualista.

Perjuicios achacables a la microbiota de ocupación: Son fundamentalmente dos:

Infecciones endógenas: Los microorganismos autóctonos pueden comportarse como patógenos si penetran al medio interno o si se hacen muy abundantes. Así, Bacteroides es beneficioso en el intestino grueso, pero se convierte en un patógeno muy peligroso si invade la cavidad peritoneal. Una situación de descompensación es la que conduce a la vaginitis causada por C. albicans. Esta levadura forma parte de la microbiota vaginal y en condiciones normales no es patógena, pero sí, si se hace predominante en dicha cavidad.

Generación de sustancias carcinogénicas: El metabolismo de los nutrientes y los ácidos biliares por la microbiota indígena conduce, en ocasiones, a la generación de sustancias que pueden transformar a las células intestinales en tumorales. Por eso es importante que los residuos permanezcan en el organismo poco tiempo: habrá menor oportunidad de que se generen moléculas nocivas y de que estas interaccionen con las células de la mucosa del colon.

Organismos probióticos. La Organización Mundial de la Salud los define como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio a la salud del consumidor". En principio, cualquier componente de la microbiota de ocupación podría ser candidato a convertirse en probiótico, ya que todos ellos contribuyen, potencialmente, a generar los beneficios que otorga el conjunto. Sin embargo, en la práctica pertenecen fundamentalmente a dos grupos microbianos: los **lactobacilos** y las **bifidobacterias.** La razón de esto es que son probablemente los únicos, dentro de los que colonizan nuestras mucosas, que son inocuos bajo (casi) cualquier circunstancia y que, por ello, han sido reconocidos como organismos GRAS (Generally Regarded As Safe) y QPS (Qualified Presumption of Safety) por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos y la European Food Safety Authority, respectivamente. Ahora bien, la falta de virulencia es una condición necesaria pero no suficiente para considerar a un microorganismo como probiótico. Dentro de las características deseables que deben cumplir, está la adaptación a las condiciones de la cavidad diana y una buena adherencia al epitelio que la recubre (por eso se prefieren organismos con ese mismo origen), la generación de sustancias antimicrobianas, la ausencia de resistencias transmisibles a antibióticos y, sobre todo, que existan ensayos clínicos que certifiquen que las expectativas derivadas de sus buenas propiedades in vitro, se cumplen tras su administración a voluntarios, previniendo la aparición de cuadros concretos o coadyuvando a su resolución.

Beneficios asociados a la administración de organismos probióticos: Aquellos para los que hay una mayor evidencia se dividen en tres categorías:

Reversión de sintomatologías de mala digestión. El ejemplo típico es la resolución de la intolerancia a la lactosa. Los lactobacilos la degradan e impiden así que llegue sin digerir al intestino grueso y ocasione flatulencia, distensión abdominal y diarrea, entre otros síntomas.

Reposición de la microbiota después de que la residente haya sido eliminada por cualquier causa. Los casos mejor demostrados son la reversión de la diarrea causada por tratamiento con antibióticos y la de las diarreas infantiles producidas por rotavirus. En ambos casos el organismo probiótico viene a ocupar la superficie mucosa que ha quedado desierta, constituyendo así una solución de emergencia que atenúa los síntomas y facilita la recolonización por los microorganismos indígenas. En este apartado se englobaría también la prevención de recidivas de vaginosis y de vaginitis mediada por lactobacilos probióticos, administrados tras el tratamiento específico con los antibióticos apropiados.

Prevención de la mastitis durante la lactancia. La secreción de leche aumenta la hu-

medad de los conductos galactóforos y crea condiciones apropiadas para el establecimiento de organismos patógenos en ellos. Recientemente se ha demostrado de manera fehaciente que lactobacilos administrados por vía oral pueden colonizar los conductos e impedir el asentamiento de bacterias indeseables, previniendo e incluso curando, las mastitis.

Otros: Existen otras afecciones en las que los microorganismos probióticos parecen ejercer un efecto beneficioso, aunque la evidencia no es tan sólida como en los casos ya descritos; entre ellas podemos citar por orden de mayor a menor evidencia, la enterocolitis necrotizante (una afección típica de niños prematuros que, al ser poco frecuente, dificulta la obtención de datos con significación estadística), la enfermedad inflamatoria intestinal y la colitis pseudomembranosa.

Prebióticos: Se denomina así a compuestos no digeribles, presentes en la dieta, que estimulan el crecimiento o la actividad de los microorganismos autóctonos, resultando en un beneficio para la salud. Estructuralmente son oligo o polisacáridos de fructosa (FOS e inulina respectivamente) o de galactosa (GOS). También se usa la lactulosa (un disacárido de galactosa y fructosa) y el lactitol (galactosa y un polialcohol derivado de la glucosa). Su objetivo es doble; por un lado, promover la proliferación de la microbiota indígena y, con ella, el antagonismo frente a la colonización por microorganismos foráneos y, por otro, potenciar los efectos positivos asociados al metabolismo de los glúcidos complejos. De hecho, estos compuestos ya tienen un lugar en el Vademecum, aunque su acción terapéutica no se asocie, comúnmente, con la microbiota autóctona. Así, se utilizan como agentes laxantes debido a su capacidad de aumentar el peristaltismo y en la prevención y tratamiento de la encefalopatía hepática; en este caso, los ácidos grasos derivados de su digestión neutralizan los grupos amonio resultantes de la degradación de alimentos nitrogenados, evitando su paso a la sangre y la aparición del cuadro neuropsiquiátrico asociado a dicho proceso.

Simbióticos: Se denomina así a la mezcla de uno o más organismos probióticos con uno o varios compuestos prebióticos. Su objetivo es favorecer el desarrollo/actividad de los probióticos y prebióticos componentes para potenciar sus propiedades saludables, generando un efecto sinérgico entre ellos. Esto implica que un producto solo puede ser denominado simbiótico si ha demostrado inducir un efecto beneficioso superior al de la suma de los generados, separadamente, por sus integrantes. Adicionalmente, se espera que esta mejora se acompañe de un incremento de la densidad de los probióticos componentes o de las actividades saludables a que dan lugar.

REFERENCIAS

Buccigrossi V, Nicastro E, Guarino A. 2013. Functions of intestinal microflora in children. Curr. Opin. Gastroenterol. 29:31-38.

Johnson CL, Versalovic J. 2012. The human microbiome and its potential importance to pediatrics. Pediatrics 129:950-960.

Koenig JE, Spor A, Scalfone N, Fricker AD, Stombaugh J, Knight R, Angenent LT, Ley RE. 2011. Succession of microbial consortia in the developing infant gut microbiome. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 108 Suppl 1:4578-4585.

Ringel-Kulka T. 2012. Targeting the intestinal microbiota in the pediatric population: a clinical perspective. Nutr. Clin. Pract. 27: 226-234.

Torrazza MR, Neu J. 2011. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. J. Perinatol. 31 Suppl 1:S29-34.

ORGANIZADORES

COLEGIO DE ENFERMERÍA DE CANTABRIA

ENFERMERÍA INTEGRATIVA
COLEGIO DE ENFERMERÍA DE CANTABRIA

PATROCINADORES

AYUNTAMIENTO DE SANTANDER

COLABORADORES

FAES FARMA

SOLARAY®

DIETÉTICOS INTERSA

Esential'aroms
www.esentialaroms.com

Sura Vitasan
CALIDAD CIENCIA NATURALEZA

Laboratorio Cobas S.L.
innovaciones terapéuticas

SoriaNatural®

BIODAVIDA

Dorotea & Teodoro
Un momento para ti

ECOLÓGICA GRANJA LA SIERRA

La huerta de Teresa
Eco-lógica

el Colmado

Herbolario Laurel

ESTUDIO

-Heel
Healthcare designed by nature

La Ecotienda
Santander

www.microbiotaenfermeriacantabria.com