

## REVISIÓN

# Caracterización, influencia y manipulación de la microbiota gastrointestinal en salud y enfermedad

José F. García-Mazcorro<sup>a,b,\*</sup>, Elvira Garza-González<sup>c</sup>,  
Alicia G. Marroquín-Cardona<sup>a,b,d</sup> y José L. Tamayo<sup>e</sup>



CrossMark

<sup>a</sup> Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Nuevo León, General Escobedo, Nuevo León, México

<sup>b</sup> Grupo de investigación Ecobiología Médica, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Nuevo León, General Escobedo, Nuevo León, México

<sup>c</sup> Servicio de Gastroenterología y Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario «Dr. José Eleuterio González», Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México

<sup>d</sup> Departamento de Fisiología, Farmacología y Toxicología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Autónoma de Nuevo León, General Escobedo, Nuevo León, México

<sup>e</sup> Centro de Investigación y Docencia en Ciencias de la Salud, Hospital Civil de Culiacán, Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, Sinaloa, México

Recibido el 29 de noviembre de 2014; aceptado el 26 de enero de 2015

## PALABRAS CLAVE

Microbiota  
gastrointestinal;  
ARN ribosomal;  
Subunidad 16S;  
Secuenciación  
masiva;  
Enfermedad  
inflamatoria  
intestinal;  
Probióticos;  
Prebióticos;  
Obesidad;  
*Helicobacter pylori*;  
Trasplante fecal

**Resumen** El tracto gastrointestinal abriga trillones de microorganismos, los cuales son indispensables para la salud. La microbiota gastrointestinal puede ser estudiada usando métodos de cultivo y moleculares. Las técnicas de secuenciación masiva tienen cada vez mayor aplicación debido a su alto rendimiento, costos cada vez más accesibles y la disponibilidad de software gratuito para el análisis de los datos generados. En este trabajo se revisan a detalle un gran número de artículos acerca de la microbiota gastrointestinal y su influencia en salud humana; en particular, se enfatiza la evidencia que sugiere una relación entre el ecosistema microbiano gastrointestinal y diversos procesos inmunes/inflamatorios y fisiológicos. Los trabajos analizados se discuten combinando un enfoque médico y conceptos actuales de ecología molecular microbiana. Es nuestro deseo que la presente revisión sea útil para los interesados en la microbiota gastrointestinal y su posible alteración para mantener, re-establecer y fortalecer la salud en el hospedero humano.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. y AEEH y AEG. Todos los derechos reservados.

\* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: [jose.garciamzc@uanl.edu.mx](mailto:jose.garciamzc@uanl.edu.mx), [josegarcia\\_mex@hotmail.com](mailto:josegarcia_mex@hotmail.com) (J.F. García-Mazcorro).

**KEYWORDS**

Gastrointestinal microbiota; Ribosomal RNA; Subunit 16S; Massive sequencing; Inflammatory bowel disease; Probiotics; Prebiotics; Obesity; *Helicobacter pylori*; Fecal transplantation

**Characterization, influence and manipulation of the gastrointestinal microbiota in health and disease**

**Abstract** The gastrointestinal tract harbors trillions of microorganisms that are indispensable for health. The gastrointestinal microbiota can be studied using culture and molecular methods. The applications of massive sequencing are constantly increasing, due to their high yield, increasingly accessible costs, and the availability of free software for data analysis. The present article provides a detailed review of a large number of studies on the gastrointestinal microbiota and its influence on human health; particular emphasis is placed on the evidence suggesting a relationship between the gastrointestinal microbial ecosystem and diverse physiological and immune/inflammatory processes. Discussion of the articles analyzed combines a medical approach and current concepts of microbial molecular ecology. The present revision aims to be useful to those interested in the gastrointestinal microbiota and its possible alteration to maintain, re-establish and enhance health in the human host.

© 2015 Elsevier España, S.L.U. and AEEH y AEG. All rights reserved.

## Introducción

El tracto gastrointestinal (GI) de los seres humanos y otros mamíferos es un órgano complejo cuya función principal consiste en extraer y asimilar los nutrientes contenidos en los alimentos, así como proteger de amenazas biológicas y no biológicas provenientes del exterior. Desde la boca hasta el ano, más de 10 trillones ( $> 10^{13}$ ) de microorganismos habitan normalmente en el tracto GI de cada ser humano<sup>1</sup>. Estos microorganismos GI se diferencian evolutivamente en 3 dominios principales: Bacteria ( $> 90\%$ ), Eukarya y Archaea. La microbiota GI bacteriana aporta indirectamente más de 9 millones de genes al hospedero humano<sup>2</sup>, proporcionando así características funcionales únicas a nuestro sistema inmune y digestivo.

El tracto GI posee una microbiota autóctona que varía más entre individuos que dentro de un mismo sujeto a lo largo del tiempo<sup>3</sup>. Esta variación depende de la región anatómica específica y puede ser afectada por la edad<sup>4</sup>, la alimentación<sup>5</sup> y el consumo de antibióticos<sup>6</sup>. A lo largo del tracto GI existe variación en la cantidad y diversidad de la microbiota. La cavidad oral de humanos contiene más de 600 especies de bacterias pertenecientes a más de 10 filos<sup>7</sup>, mientras que el estómago contiene al menos 5 diferentes filos, decenas de familias y cerca de 200 especies de bacterias<sup>8</sup>, incluyendo *Helicobacter pylori*, la cual es considerada como carcinógeno del grupo I y agente causal de cáncer, úlceras gástricas y duodenales<sup>9,10</sup>. El intestino delgado contiene una microbiota diversa pero poco abundante<sup>11</sup>, mientras que el intestino grueso contiene el mayor número y la mayor diversidad de grupos bacterianos de todo el tracto GI<sup>12</sup>. Desde un punto de vista fisiológico y evolutivo, es razonable encontrar una mayor diversidad y cantidad de especies bacterianas en un ambiente prácticamente estable de humedad, temperatura, y rico en nutrientes, tal y como el intestino grueso.

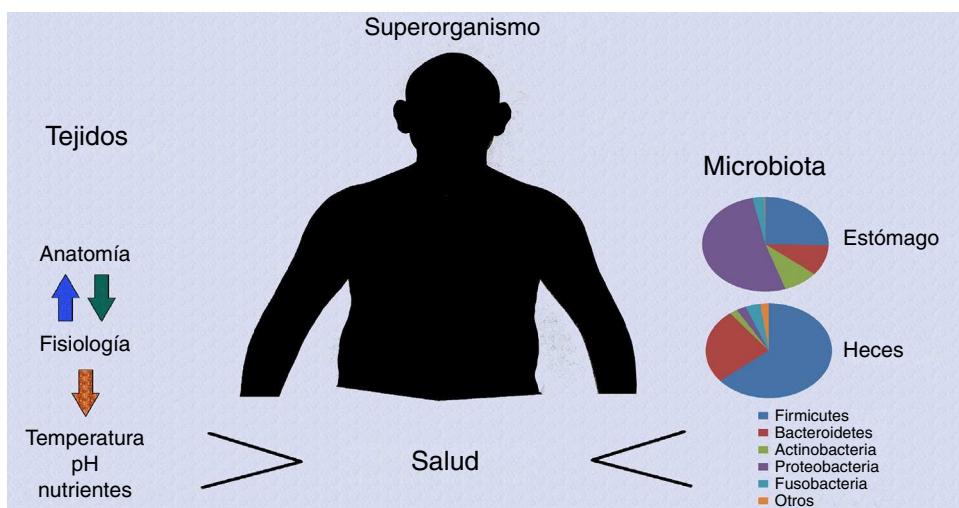
La presencia de formas de vida microscópicas en mucosas internas y externas se asocia a procesos de cooperación evolutiva: a lo largo del tiempo la asociación entre el hospedero humano y su microbiota asociada debió haber otorgado

a ambos una ventaja en el ambiente, lo que permitió el éxito de su supervivencia como organismos simbiontes. Debido a que las bacterias aparecieron en la Tierra millones de años antes que cualquier célula animal o vegetal, se cree que el tracto GI de humanos y otros animales fue colonizado progresivamente por microorganismos ambientales<sup>13</sup>. Hoy en día, la microbiota GI se considera como otro sistema biológico dentro del cuerpo humano, impulsando a algunos investigadores a utilizar el término «superorganismo» (fig. 1) para definir la sólida asociación entre nuestros tejidos y los millones de virus, bacterias, archaeas y otros eucariotas microscópicos que cohabitan en ellos.

No existe duda de la gran influencia que ejerce la microbiota GI en la salud humana. Sin embargo, la información disponible acerca de este tema está dispersa en cientos de artículos científicos publicados en revistas con diversos criterios de publicación. Por otro lado, son pocos los artículos de revisión multidisciplinarios que contemplan aspectos tanto clínicos como microbiológicos de los microorganismos del tracto GI y su influencia en la salud. En vista de un creciente número de trastornos del tracto GI, hoy más que nunca la comunidad médica podría beneficiarse de una revisión de calidad con información concisa, actual y pertinente. Por lo tanto, el objetivo de este artículo de revisión fue revisar y discutir literatura pertinente acerca de la microbiota GI y su influencia en salud humana.

## Caracterización de la microbiota gastrointestinal

Desde hace décadas se sabe que solo una pequeña proporción de los microorganismos del tracto GI se pueden cultivar *in vitro*<sup>15</sup>. Esto se debe principalmente a la incapacidad de simular con precisión las condiciones de vida de los microorganismos en su hábitat natural. Una de las grandes desventajas de las técnicas de cultivo es que es imposible asegurar que el comportamiento fenotípico de un microorganismo en el laboratorio sea idéntico a su comportamiento *in vivo*, debido en parte a procesos de cooperación



**Figura 1** Superorganismo. El cuerpo humano (superorganismo, centro) está conformado por sus tejidos constituyentes (izquierda), cuyas características como temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes están determinadas por la interrelación entre su anatomía y fisiología, y trillones de microorganismos (microbiota, derecha), cuya abundancia numérica supera por mucho la abundancia numérica de todas las células eucariotas que forman su hospedero. La estructura taxonómica y la actividad metabólica de la microbiota gastrointestinal varían grandemente dependiendo de la región anatómica donde habitan y de otros factores asociados con su hospedero. La salud del superorganismo depende de la homeostasis de sus tejidos y de su equilibrio con su microbiota. Las gráficas de pastel muestran la abundancia de filos bacterianos basados en Bik et al., 2006<sup>8</sup> (estómago) y Lozupone et al., 2012<sup>14</sup> (heces).

metabólica entre los microorganismos. Algunos investigadores han intentado cultivar a la mayoría de los microorganismos usando «culturómica», un término relativamente nuevo para describir la caracterización de microorganismos en gran escala usando métodos de cultivo<sup>16,17</sup>. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos por estudiar a los microorganismos desde un punto de vista fenotípico, el uso de técnicas moleculares (ver abajo) permite caracterizar de manera más comprensiva a las comunidades microbianas en el tracto GI, así como en otros ambientes naturales<sup>18</sup>.

La principal diferencia entre los métodos tradicionales de cultivo y los métodos moleculares radica en la manera de caracterizar o identificar a los microorganismos. Mientras que los primeros intentan recrear las condiciones de vida naturales del microorganismo para que este pueda crecer *in vitro* y así poder estudiar su fenotipo, los métodos moleculares buscan la identificación de los organismos en base a similitudes genéticas, más comúnmente en el gen que codifica para la subunidad 16S del ARN ribosomal (gen 16S ARNr; ver Baker et al., 2003)<sup>19</sup>. Esto es posible debido a que este gen, de aproximadamente 1.542 nucleótidos de longitud<sup>19</sup>, ha cambiado relativamente poco a lo largo de la evolución, presumiblemente debido a su importancia para la supervivencia de las bacterias en relación con la producción de proteínas. A lo largo del tiempo, diferentes procesos evolutivos sobre la subunidad 16S del ARNr han originado la presencia de regiones conservadas (secuencias de nucleótidos idénticas en casi todos los tipos bacterianos) y regiones variables e hipervariables (secuencias de nucleótidos que varían entre diferentes grupos de bacterias), las cuales sirven para identificar y catalogar microorganismos en diferentes linajes filogenéticos, permitiendo así su estudio y análisis, por ejemplo, en procesos de salud y enfermedad. Otros genes que se han utilizado para

catalogar a la microbiota GI incluyen genes que codifican para chaperoninas<sup>20</sup> y la subunidad β de la ARN polimerasa<sup>21</sup>.

El desarrollo de técnicas de secuenciación masiva ha impulsado el descubrimiento de una diversidad de asociaciones entre microorganismos nunca antes imaginadas. Sin embargo, es importante recordar que la información evolutiva contenida en el gen 16S ARNr puede no ser representativa de la información evolutiva disponible en otras partes del genoma. En otras palabras, el patrón de sustitución de nucleótidos que ha sufrido el gen 16S ARNr puede ser diferente en otros genes (por ejemplo, chaperoninas) y por lo tanto su análisis puede arrojar resultados diferentes<sup>22</sup>. Aun así, una publicación reciente sugiere que los resultados obtenidos del gen 16S ARNr pueden extrapolarse al genoma completo y por lo tanto al perfil metabólico del microorganismo<sup>23</sup>. Independientemente del gen que se utilice para establecer relaciones evolutivas y taxonómicas entre las bacterias, las bases actuales de taxonomía microbiana dependen en gran parte de análisis filogenéticos moleculares, los cuales dependen de regiones conservadas de nucleótidos para lograr un alineamiento de secuencias no ambiguo. Esta es la razón principal de usar el gen 16S ARNr o cualquier otro gen conservado en el genoma.

Actualmente la caracterización de la microbiota GI se lleva a cabo en gran parte empleando técnicas moleculares. A continuación se describen brevemente las técnicas moleculares más utilizadas. Es importante notar que el término «especie» es controversial en la microbiología molecular moderna<sup>24</sup>, pero aun así es utilizado a lo largo de este trabajo para referirse a grupos relativamente emparentados de microorganismos. Por otro lado, el concepto de unidad taxonómica operacional (OTU, por sus siglas en inglés) se refiere a la asignación de secuencias (por ejemplo del 16S) a unidades taxonómicas específicas (por ejemplo familias,

géneros y especies) basado en porcentajes de similitud entre secuencias de nucleótidos. El uso más común del concepto de OTU son aquellas secuencias del 16S que comparten el 97% o más de similitud con otra secuencia de referencia, las cuales son asignadas a la misma especie de microorganismos (OTU al 97%). Prácticamente todas las publicaciones donde se emplean secuencias de 16S de microorganismos utilizan el concepto de OTU, aunque su uso es controversial en taxonomía microbiana molecular.

## Técnicas moleculares

### Reacción en cadena de la polimerasa

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) utiliza la enzima ADN polimerasa para añadir nucleótidos complementarios en hebras simples de ADN y por lo tanto replicar una secuencia específica de ADN. La acción de la polimerasa ocurre de manera sucesiva y exponencial, por lo que se tienen como resultado millones de copias del fragmento genético de interés (por ejemplo, una región semi-conservada del gen 16S). Los fragmentos amplificados de ADN pueden ser visualizados en geles de agarosa. Este tipo de PCR es conocido como PCR de punto final y su resultado es cualitativo, ya que indica la presencia o ausencia del fragmento de ADN. A pesar del gran número de microorganismos presentes en el tracto GI, la cantidad de ADN de cada grupo bacteriano es muy poca para su detección y análisis posterior, por lo que el PCR es una técnica conveniente para generar copias de ADN en cantidades suficientes que permitan el estudio de la microbiota GI.

### PCR tiempo-real

El PCR tiempo-real es una técnica basada en el principio de amplificación exponencial como la PCR de punto final; sin embargo, la técnica de PCR tiempo-real permite cuantificar la presencia de fragmentos genéticos en las muestras. Esto se debe a la incorporación de moléculas fluorescentes en la reacción de PCR capaces de medir la amplificación de ADN en tiempo real<sup>25</sup>. Una desventaja de esta técnica es que el resultado que se obtiene son copias de ADN amplificadas, y se ha demostrado que las bacterias tienen diferente número de copias del gen 16S ARNr a nivel de cepa<sup>26</sup>. Además, estas copias del gen 16S dentro de un mismo genoma no necesariamente poseen la misma composición de nucleótidos<sup>27</sup>. Esto se traduce en la posibilidad de cuantificar incorrectamente el número de microorganismos usando PCR tiempo-real porque los resultados no pueden ser directamente extrapolados al número de organismos presentes en la muestra.

### Hibridación fluorescente *in situ*

La hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés) se utiliza para el estudio de la microbiota GI desde la década de 1990<sup>28,29</sup>. A diferencia de la PCR tiempo-real, la técnica de FISH, aunque técnicamente más laboriosa, permite obtener una mejor estimación de los números reales de microorganismos y así ayudar a determinar con más precisión el papel que tienen los mismos en procesos de salud y enfermedad<sup>30</sup>.

### Técnicas basadas en patrón de bandas

El resultado de utilizar la técnica de PCR usando una muestra de contenido intestinal son millones de copias de ADN provenientes de diferentes grupos microbianos. Estos productos de PCR (por ejemplo, del gen 16S ARNr) difieren entre ellos en su composición específica de nucleótidos. Estas diferencias en nucleótidos pueden ser distinguidas usando desnaturizadores de ADN: a diferencia de las cadenas con un porcentaje mayor de adeninas y timinas, las cadenas con mayor porcentaje de guaninas y citocinas necesitan concentraciones más altas del agente desnaturizador o más temperatura para desnaturizarse. Dos técnicas basadas en este principio son la electroforesis en gel con gradiente de agente desnaturizador y con gradiente de temperatura (DGGE y TGGE, por sus siglas en inglés, respectivamente). Aunque actualmente el uso de DGGE y/o TGGE no es recomendable debido a la incapacidad de estas técnicas para separar con precisión los productos de PCR<sup>31</sup>, diversos estudios han demostrado su utilidad en el área de probióticos<sup>32</sup> y enfermedad inflamatoria intestinal<sup>33</sup> (EII).

### Microarreglos

La secuenciación de genes provenientes de microorganismos del tracto GI ha originado una gran cantidad de secuencias genéticas disponibles para la comunidad científica. Esta información puede ser usada para diseñar oligonucleótidos capaces de hibridar al gen 16S ARNr, por ejemplo en la identificación de grupos microbianos específicos por medio de PCR. De manera similar, la información genética puede ser usada para diseñar oligonucleótidos capaces de ser hibridados por secuencias desconocidas presentes en una muestra biológica. Las placas de microarreglos consisten en un grupo de oligonucleótidos conocidos adheridos a una superficie sólida, los cuales son capaces de hibridar con secuencias en la muestra de interés. Esta técnica se ha usado en varias aplicaciones y su uso es común en el estudio de la ecología microbiana del tracto GI de humanos<sup>34,35</sup>. La principal desventaja de los microarreglos radica en el número y en los tipos de oligonucleótidos contenidos en la placa, ya que las secuencias que no se encuentren representadas en el microarreglo no podrán ser detectadas en la muestra. Esto es particularmente relevante para organismos con gran potencial para modular salud intestinal pero que históricamente han sido catalogados como desconocidos, tales como *Christensenella minuta*<sup>36,37</sup>. Sin embargo, algunos estudios han mostrado que los microarreglos y algunos tipos de secuenciación masiva ofrecen perfiles taxonómicos similares<sup>35</sup>.

### Secuenciación clásica

La fuente principal de información acerca de los microorganismos está resguardada en el orden de los nucleótidos de sus genes. Actualmente se conoce el orden de nucleótidos del gen del 16S ARNr en diferentes grupos bacterianos, los cuales se encuentran disponibles en bases de datos públicas, gratuitas y de gran calidad (por ejemplo, la Ribosomal Database Project, GreenGenes y Silva). La técnica de Sanger fue una de las primeras tecnologías usadas para descifrar el orden de nucleótidos en una secuencia genética<sup>38</sup>, y aún es utilizada en muchos laboratorios.

### Biblioteca de clonas

Para secuenciar por la técnica de Sanger, generalmente se crean bibliotecas o grupos de clones donde cada clon acarrea un tipo de secuencia proveniente de un tipo de microorganismo. La construcción de estas bibliotecas involucra la inserción de un plásmido contenido el fragmento genético de interés (por ejemplo, el gen 16S ARNr) en células de *Escherichia coli* de tal manera que cada célula bacteriana adquiera solamente un plásmido. Al crecer las *E. coli* en medio de cultivo semisintético, cada colonia poseerá una copia del gen en cuestión. En parte debido a las nuevas técnicas disponibles y al gran número de grupos microbianos, las bibliotecas de clonas se han utilizado menos frecuentemente en los últimos años. Sin embargo, esta técnica sigue siendo una buena alternativa para aquellos interesados en secuenciar los ~1.500 nucleótidos del gen 16S ARN ribosomal.

### Secuenciación masiva

Durante los últimos años se han desarrollado varias tecnologías de secuenciación masiva para hacer más eficiente y menos costoso el uso de la secuenciación<sup>39</sup>. Entre las técnicas de secuenciación masiva más utilizadas y con mayor potencial de uso se encuentran Illumina<sup>40</sup> e Ion Torrent<sup>41</sup>. Los datos generados, que pueden ser miles o millones de secuencias, se pueden analizar con paquetes computacionales gratuitos, como QIIME<sup>42</sup> y Mothur<sup>43</sup>.

### Otras tecnologías

Otras tecnologías moleculares disponibles para estudiar a la microbiota GI incluyen la metaproteómica<sup>44</sup>, el uso de isótopos estables para estudiar la utilización microbiana de sustratos específicos<sup>45</sup>, la citometría de flujo<sup>46</sup> y el análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción<sup>47</sup>. Es importante recordar que las conclusiones y la relevancia de los diferentes estudios acerca de la microbiota GI (ver abajo) están determinadas por la naturaleza de los métodos utilizados.

## Microbiota gastrointestinal y su influencia en la salud y la enfermedad humana

Las siguientes tablas presentan un resumen de las publicaciones revisadas de mayor relevancia. La tabla 1 resume artículos de revisión principalmente acerca de la relación entre la microbiota intestinal y la salud del ser humano; la tabla 2 se enfoca en estudios clínicos de pacientes con EII o padecimientos similares, y la tabla 3 muestra otros aspectos importantes de interés clínico. A continuación se presenta un extracto de las ideas fundamentales mostradas en las tablas.

### Procesos inflamatorios

Entre 1960 y 1980 se publicaron varios artículos importantes con respecto al ecosistema microbiano GI, en los cuales se discute la posible relación entre el metabolismo microbiano intestinal y la salud del ser humano<sup>15,136,137</sup>. Sin embargo, no fue sino hasta principios de la década de 1990 cuando algunos investigadores comenzaron a estudiar en detalle la relación entre los microorganismos y la inflamación en el

tracto GI<sup>138</sup>. Los autores de este artículo discuten la relación entre los ácidos grasos volátiles, el mantenimiento de la integridad de la mucosa intestinal y la fermentación bacteriana en el colon. A partir de esta y otras contribuciones, una cantidad considerable de publicaciones han mostrado que la microbiota intestinal tiene un papel importante en la fisiopatología de la inflamación intestinal, en particular la EII, un proceso autoinflamatorio de alta frecuencia en países industrializados<sup>65</sup>, y síndrome de intestino irritable<sup>139</sup> (tablas 1-3).

La relación entre la microbiota GI y los procesos inflamatorios del aparato GI es de gran importancia. No obstante, es importante mencionar que la mayoría de los estudios han utilizado solamente muestras fecales (tabla 2), y existe evidencia que sugiere que la microbiota puede ser diferente a lo largo del intestino grueso, así como entre la mucosa y la luz intestinal<sup>12,88,140-144</sup>. Aun a pesar de los inconvenientes de utilizar muestras fecales para demostrar una relación entre la microbiota intestinal y la salud del hospedero, cientos de estudios han mostrado su utilidad para estudiar el ecosistema microbiano en el intestino grueso en estados de salud y enfermedad (tabla 2).

La relación entre la microbiota intestinal y la inflamación en el tracto GI es compleja debido al gran número de moléculas involucradas<sup>145</sup>. Por un lado, las bacterias son capaces de sintetizar cientos de metabolitos<sup>146</sup>, cada uno con el potencial de modular la relación microorganismo-microorganismo y microorganismo-hospedero. Por otro lado, el hospedero humano sintetiza inmunoglobulinas, interleucinas, factores de necrosis tumoral, interferones, reguladores de transcripción de ADN y otras moléculas del sistema inmune, las cuales han sido implicadas en la aparición y/o desarrollo de la EII<sup>65,147</sup>. Una de las hipótesis para explicar el desarrollo de la EII es que el cuerpo reacciona inmunológicamente en contra de su propia microbiota<sup>148</sup>, una idea que ha generado un amplio número de investigaciones (tabla 1).

Uno de los objetivos fundamentales de los estudios de la relación de la EII y la microbiota GI es encontrar algún microorganismo o grupo de microorganismos que difieran notablemente en comparación con personas sin EII (tabla 2). La comprensión de estos cambios ayudaría a diseñar tratamientos enfocados a re-establecer el equilibrio perdido. Sin embargo, los artículos publicados han utilizado diferentes técnicas y se han enfocado en aspectos específicos de la EII y sus diferentes manifestaciones (tabla 2), por lo que ha sido difícil definir con claridad una microbiota específica de la EII. En un esfuerzo por re-establecer el balance en la microbiota intestinal, algunos probióticos y prebióticos se han utilizado como tratamiento de la EII (tablas 1 y 3); sin embargo, la mayoría de los clínicos continúan utilizando medicamentos para contener la inflamación en el hospedero<sup>149</sup>. Desafortunadamente poco se sabe acerca del efecto de estos medicamentos en la microbiota GI, pero artículos recientes han hecho progreso en el área<sup>150</sup>.

### Obesidad

El sobrepeso y la obesidad son condiciones clínicas de gran importancia a nivel internacional. Desde un punto de vista microbiológico, es razonable pensar en que los diversos grupos bacterianos tienen capacidades diferentes para extraer

**Tabla 1** Resumen de artículos de revisión organizados por año de publicación

Primer autor (año de publicación) número de referencia	Tema revisado/discutido	Comentarios
Hill (1975) <sup>48</sup>	Ácidos biliares, bacterias intestinales y cáncer de colon	Uno de los primeros artículos que discuten la relación entre el metabolismo microbiano intestinal, los ácidos biliares y el cáncer de colon
Roediger (1980) <sup>49</sup>	Bacterias anaeróbicas y colitis	Uno de los primeros artículos que discuten la posible relación entre las bacterias anaeróbicas, el colon y la colitis
Scheppach (1997) <sup>50</sup>	Tratamiento de la mucosa inflamada del colon con ácidos grasos de cadena corta	Se discute la posibilidad de tratar pacientes con colitis usando enemas con ácidos grasos de cadena corta
Salminen (1998) <sup>51</sup>	Inocuidad de los probióticos	Algunos autores del artículo eran empleados de compañías nutracéuticas
Cook (1998) <sup>52</sup>	Ácidos grasos de cadena corta en salud y enfermedad	Los autores discuten varios trastornos intestinales, así como el metabolismo de los ácidos grasos de cadena corta
Apostolou (2001) <sup>53</sup>	Propiedades de adhesión de probióticos y riesgo de bacteriemia	Los autores discuten la posibilidad de que una mejor adhesión al moco intestinal de algunos probióticos pueda representar un riesgo de bacteriemia
Salminen (2002) <sup>54</sup>	Consumo de probióticos y bacteriemia	En Finlandia, un uso incrementado del probiótico <i>L. rhamnosus</i> cepa GG no ha originado un incremento en casos de bacteriemia causados por <i>Lactobacillus</i>
Vaarala (2003) <sup>55</sup>	Efectos inmunológicos de probióticos, especialmente <i>Lactobacillus</i> spp.	El autor ofrece una perspectiva interesante desde un punto de vista pediátrico
Mai (2004) <sup>56</sup>	Herramientas moleculares para estudiar a la microbiota intestinal	Los autores discuten diferentes técnicas y factores asociados con la microbiota desde un punto de vista molecular
Martéau (2004) <sup>57</sup>	Microbiota intestinal y EII	Los autores incluyen una tabla útil con diferentes investigaciones acerca del uso de probióticos en EII
Sartor (2004) <sup>58</sup>	Manipulación terapéutica de la microbiota intestinal en la EII	El autor incluye una tabla muy útil que resume varios estudios donde se han administrado antibióticos para tratar la EII
Tamboli (2004) <sup>59</sup>	Disbiosis (disrupción en el balance de bacterias intestinales protectoras y dañinas)	El término disbiosis es ambiguo debido a que es muy difícil determinar qué bacterias son benéficas y cuáles son malignas
Thompson-Chagoyan (2005) <sup>60</sup>	Relación entre la microbiota intestinal y el sistema inmune del intestino	Los autores ofrecen una buena perspectiva acerca de la posibilidad de una respuesta inmune anormal en contra de la microbiota intestinal

Tabla 1 (continuación)

Primer autor (año de publicación) número de referencia	Tema revisado/discutido	Comentarios
Egert (2006) <sup>61</sup>	Función metabólica de la microbiota intestinal	La función metabólica de la microbiota intestinal es fundamental para entender su papel en salud o enfermedad. Este artículo ofrece una perspectiva interesante al respecto
O'Hara (2007) <sup>62</sup> Guarner (2007) <sup>63</sup>	Potencial terapéutico de cambios en la microbiota intestinal Prebióticos y EII	El artículo hace énfasis en procesos como EII El autor ofrece una revisión concisa pero detallada del uso de prebióticos en EII
Goyette (2007) <sup>64</sup>	Patogénesis molecular de la EII	Los autores implican a la EII con regiones genómicas y genes específicos
Xavier (2007) <sup>65</sup>	Patogénesis de la EII	Los autores discuten 3 posibles tópicos responsables por la patogénesis de EII
Sheil (2007) <sup>66</sup>	Efecto de probióticos en la EII	Síntesis de los efectos de probióticos (un tópico controversial, ver Bessenlink et al. En la tabla 3) en la EII
Eckburg (2007) <sup>67</sup>	Microbiota intestinal y enfermedad de Crohn	Excelente discusión concisa acerca del posible papel de microorganismos en la enfermedad de Crohn
Peterson (2008) <sup>68</sup>	Métodos moleculares para estudiar la microbiota intestinal y definir su relación con la salud EII	Excelente trabajo de revisión acerca del uso de tecnologías moleculares para estudiar la microbiota intestinal. Los autores también incluyen una lista interesante de áreas por estudiar
Issa (2008) <sup>69</sup> Sokol (2008) <sup>70</sup>	Relación entre <i>Clostridium difficile</i> e EII Relación entre la microbiota intestinal y EII	Son pocos los artículos que hablan del tema de manera tan extensa Los autores han participado en diferentes investigaciones que han analizado comunidades microbianas en pacientes con EII
Khoshini (2008) <sup>71</sup>	Sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado (SIBO por sus siglas en inglés)	Los autores concluyen que no existen pruebas diagnósticas confiables para diagnosticar SIBO
Turroni (2008) <sup>72</sup>	Diversidad de la microbiota intestinal y su contribución al funcionamiento del intestino	Se discuten aspectos de composición y funcionalidad de la microbiota intestinal con énfasis en <i>Bifidobacterium</i> spp.
Andoh (2009) <sup>73</sup>	Tecnologías moleculares para estudiar la relación entre la microbiota intestinal y EII	Los autores discuten diferentes herramientas moleculares para estudiar microorganismos gastrointestinales en contexto de la EII
Dupont (2009) <sup>74</sup>	Efectos antidiarreicos de arcillas minerales	Los autores describen la fisiopatología de la diarrea y los posibles mecanismos de acción de las arcillas minerales para contrarrestarla en niños con diarrea aguda
Round (2009) <sup>75</sup>	Relación entre la microbiota intestinal y el sistema inmune intestinal	Se discute la posibilidad de que el sistema inmune del intestino es controlado por microorganismos, no para controlar a los microorganismos
Hill (2010) <sup>76</sup>	La influencia de las señales de la microbiota intestinal en la homeostasis del sistema inmune	Uno de los mejores y más detallados trabajos de revisión acerca del tema

**Tabla 1** (continuación)

Primer autor (año de publicación) número de referencia	Tema revisado/discutido	Comentarios
Luther (2010) <sup>77</sup>	Relación entre la presencia de <i>H. pylori</i> en el estómago y la EII	Metaanálisis y revisión de literatura. Los resultados sugieren que la presencia de <i>H. pylori</i> puede tener un efecto benéfico en contra del desarrollo de la EII
Włodarska (2010) <sup>78</sup>	Respuesta inmune y alteración de la microbiota intestinal debida a antibióticos	Los autores discuten brevemente los cambios inmunológicos que se producen por la administración de antibióticos y su efecto en la microbiota intestinal
O'Toole (2010) <sup>4</sup>	Cambios de la microbiota intestinal a lo largo de la vida de un individuo	Se discuten los cambios que sufre la microbiota intestinal desde la infancia hasta la tercera edad
Haller (2010) <sup>79</sup>	Nutriogenómica	Se discute el impacto del estudio de la nutrición y su relación con la microbiota intestinal
Nell (2010) <sup>80</sup>	Utilidad de modelos en ratones para estudiar procesos como la EII	Se discute el uso de ratones para estudiar la relación entre la microbiota intestinal y la EII
Hörmannsperger (2010) <sup>81</sup>	Relevancia clínica de la comunicación entre bacterias probióticas y el sistema inmune intestinal	El artículo es discutido en el contexto de la EII
Chassaing (2011) <sup>82</sup>	Relación entre microbiota residente y enteropatógenos en la patogénesis de EII	Los autores expanden las posibilidades de una relación entre microorganismos intestinales e EII argumentando la presencia de enteropatógenos
Fava (2011) <sup>83</sup>	Relación entre la microbiota intestinal y la patogénesis de EII	Se discute la posible relación entre la microbiota intestinal y la aparición de la EII
Manichanh (2012) <sup>84</sup>	Relación de la microbiota intestinal con EII	Se discute que los cambios en la microbiota intestinal pueden ser la causa y la consecuencia de la EII
Bushman (2013) <sup>85</sup>	Relación entre la dieta, la microbiota intestinal y la EII	Se discute brevemente la relación potencial entre la dieta, la microbiota intestinal y procesos inflamatorios como la EII
Viladomiu (2013) <sup>86</sup>	Mecanismos nutricionales con el potencial de proteger contra la inflamación intestinal	El artículo incluye el uso de probióticos y prebióticos para contrarrestar procesos inflamatorios (un tópico controversial, ver Bessenlink et al. en la tabla 3)
Sharon (2014) <sup>87</sup>	Metabolitos producidos por la microbiota GI	Excelente referencia acerca de la síntesis, absorción y efectos fisiológicos de los miles de metabolitos producidos por los microorganismos GI

EII: enfermedad inflamatoria intestinal

**Tabla 2** Resumen de las publicaciones revisadas con mayor relevancia clínica acerca de la relación entre la microbiota intestinal y diferentes manifestaciones de la enfermedad inflamatoria intestinal. Las publicaciones están organizadas por año de publicación

Primer autor (año de publicación) número de referencia	Tipo de muestras	Pacientes <sup>a</sup>	Técnica utilizada	Hallazgos principales <sup>b</sup>
Swidsinski (2005) <sup>88</sup>	Biopsias	Sanos, con EII, con IBS y con colitis auto-limitativa (20 pacientes en cada grupo)	FISH	Una biopelícula adherida a la mucosa del colon compuesta por <i>Bacteroides fragilis</i> es característica en pacientes con EII
Lepage (2005) <sup>89</sup>	Biopsias	Sanos (4), con enfermedad de Crohn (20) y con colitis ulcerativa (11)	TGGE	El análisis del patrón de bandas no sugiere una relación de la microbiota intestinal y el estado clínico del paciente
Bibiloni (2006) <sup>90</sup>	Biopsias de mucosa inflamada y no inflamada	Sanos (14), con enfermedad de Crohn (20) y con colitis ulcerativa (15)	DGGE, biblioteca de clonas y PCR (cuantitativo y cuantitativo)	No hubo diferencias en las bacterias asociadas con tejido inflamado y no inflamado. Pacientes con colitis ulcerativa tuvieron más bacterias asociadas con la mucosa que los pacientes con enfermedad de Crohn
Conte (2006) <sup>91</sup>	Biopsias	Sanos (7), con enfermedad de Crohn (12), colitis ulcerativa (7), colitis indeterminada (6) e hiperplasia linfonodular del ileon distal (10), rango de edad: 2-16 años	PCR tiempo real	Un número mayor de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas asociadas con el mucosa intestinal se encontró en pacientes con EII
Manichanh (2006) <sup>92</sup>	Heces	Sanos (6) y con enfermedad de Crohn (6)	Biblioteca de clonas y FISH	Pacientes con enfermedad de Crohn tuvieron una menor diversidad bacteriana dentro del filo Firmicutes
Sokol (2006) <sup>93</sup>	Heces	Sanos (9) y con colitis ulcerativa clínicamente activa (9)	TTGE	La diversidad de bandas en el gel fue menor en pacientes con colitis ulcerativa
Sokol (2006) <sup>94</sup>	Heces	Sanos (13), con enfermedad de Crohn activa (13), con colitis ulcerativa activa (13) y con colitis infecciosa (5)	FISH	Los grupos de <i>Clostridium coccoides</i> y <i>C. leptum</i> fueron menos abundantes en pacientes con colitis ulcerativa y enfermedad de Crohn, respectivamente, en comparación con pacientes sanos
Martinez-Medina (2006) <sup>95</sup>	Biopsias	Sanos (15) y con enfermedad de Crohn (19)	PCR-DGGE	En pacientes sanos, los amplicones de PCR obtenidos de las bandas de DGGE tuvieron una mayor proporción de <i>Faecalibacterium</i>

Tabla 2 (continuación)

Primer autor (año de publicación) número de referencia	Tipo de muestras	Pacientes <sup>a</sup>	Técnica utilizada	Hallazgos principales <sup>b</sup>
Andoh (2007) <sup>96</sup>	Heces	Sanos (46) y con colitis ulcerativa (44)	Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción	La diversidad de la microbiota intestinal fue diferente entre pacientes sanos y con colitis ulcerativa
Kassinen (2007) <sup>97</sup>	Heces	Sanos (23) y con IBS (24)	Biblioteca de clonas	La composición de la microbiota fecal fue diferente en pacientes con IBS
Gueimonde (2007) <sup>98</sup>	Tejido (no biopsias)	Pacientes con cáncer colorrectal (21), diverticulitis (9) y EII (4)	PCR y PCR tiempo real	Los autores solo midieron la abundancia de <i>Bifidobacterium</i> spp.
Frank (2007) <sup>99</sup>	Tejido (no biopsias)	Pacientes con diferentes condiciones ajenas a EII (61) y con EII (129)	Biblioteca de clonas y PCR tiempo real	Subgrupo de muestras con EII tuvieron una depleción de varios miembros de Firmicutes y Bacteroidetes
Martinez (2008) <sup>100</sup>	Heces	Sanos (8) y pacientes con colitis ulcerativa en remisión clínica y con terapia de mesalazina (16)	PCR-DGGE	La microbiota fecal con colitis ulcerativa clínicamente inactiva tuvo una menor diversidad e inestabilidad temporal
Sokol (2008) <sup>101</sup>	Tejido (no biopsias)	Un subgrupo de pacientes los cuales fueron parte de un estudio de consumo de probióticos para disminuir la recurrencia después de sufrir cirugía curativa para enfermedad de Crohn (ver Marteau 2006 en la tabla 3)	FISH	Una reducción en la abundancia de <i>F. prausnitzii</i> se asoció con un mayor riesgo de recurrencia postoperatoria
Takaishi (2008) <sup>102</sup>	Heces	Sanos (65) y con EII (96)	PCR tiempo real	La EII no fue causada por un grupo específico de especies bacterianas sino por cambios generales en la microbiota intestinal
Willing (2009) <sup>103</sup>	Biopsias	Pares de gemelos monocigotos discordantes (6 pares) o concordantes (4 pares) para enfermedad de Crohn	Ánalisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción, biblioteca de clonas y PCR tiempo real	Pacientes con enfermedad de Crohn en el ileón tuvieron una menor abundancia de <i>F. prausnitzii</i> y una mayor abundancia de <i>E. coli</i> comparados con pacientes sanos y con la enfermedad localizada en el colon
Nishikawa (2009) <sup>104</sup>	Biopsias	Sin EII (11) y con colitis ulcerativa (9)	Ánalisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción	La diversidad microbiana fue menor en pacientes con colitis ulcerativa
Sokol (2009) <sup>105</sup>	Heces	Sanos (27) y con EII (57)	PCR tiempo real	La microbiota fecal fue diferente entre individuos sanos e individuos con EII

Tabla 2 (continuación)

Primer autor (año de publicación) número de referencia	Tipo de muestras	Pacientes <sup>a</sup>	Técnica utilizada	Hallazgos principales <sup>b</sup>
Codling (2010) <sup>106</sup>	Heces	Sanos (33) y con IBS (47)	DGGE	Se encontró una diferencia significativa en el patrón de bandas entre los pacientes sanos y con IBS
Kang (2010) <sup>34</sup>	Heces	Sanos (6) y con enfermedad de Crohn (6)	Microarreglos	Diferentes grupos bacterianos, incluyendo <i>F. prausnitzii</i> , fueron más abundantes en pacientes sanos <i>F. prausnitzii</i> fue menos abundante en pacientes con enfermedad de Crohn
Schwiertz (2010) <sup>107</sup>	Heces	Sanos (25) y con EII (69), edad 14 años (mediana)	PCR tiempo real	<i>F. prausnitzii</i> fue menos abundante en pacientes con enfermedad de Crohn
Willing (2010) <sup>108</sup>	Heces y biopsias	Gemelos con o sin enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa (total: 40 pares de gemelos)	Pirosecuenciación	La abundancia de poblaciones bacterianas fue diferente entre individuos con diferentes manifestaciones de enfermedad de Crohn
Mondot (2011) <sup>109</sup>	Heces	Sanos (16) y con enfermedad de Crohn (16)	PCR tiempo real y microarreglos	Un grupo de 6 especies bacterianas tienen potencial para diagnosticar enfermedad de Crohn
Walker (2011) <sup>110</sup>	Biopsias	Sanos (5), con enfermedad de Crohn (12) y colitis ulcerativa (6)	Secuenciación (Sanger)	Los autores sugieren que la disbiosis microbiana intestinal puede ser el resultado, no la causa, del fenotipo de EII
Hansen (2013) <sup>111</sup>	Biopsias	Sanos (42) y con EII (44)	Cultivo y secuenciación	Bacterias micro-aerofílicas ( <i>Helicobacter</i> y <i>Campylobacter</i> spp. y <i>Sutterella wadsworthensis</i> ) no estuvieron relacionadas con EII
Rehman (2015) <sup>112</sup>	Biopsias	Sanos (30), con enfermedad de Crohn (28) y colitis ulcerativa (30)	Pirosecuenciación	Este estudio revela importantes diferencias de microorganismos GI entre individuos sanos y enfermos de 3 diferentes países

DGGE: gel electroforesis basado en un gradiente desnaturalizador de ADN; EII: enfermedad inflamatoria intestinal; FISH: hibridación fluorescente *in situ*; IBS: síndrome del intestino irritable; TGGE: gel electroforesis basado en un gradiente de temperatura; TTGE: gel electroforesis basado en un gradiente temporal de temperatura

Por favor, revise el texto principal para más información acerca de las ventajas y desventajas de cada una de estas técnicas moleculares para estudiar el ecosistema microbiano gastrointestinal.

<sup>a</sup> El número de pacientes se incluye entre paréntesis.

<sup>b</sup> Esta columna puede también contener especulaciones de los autores basadas en los hallazgos encontrados. Por ejemplo, analizar solamente un número limitado de grupos de microorganismos y referirse a toda la microbiota. Se recomienda revisar las referencias originales para detalles específicos acerca de los hallazgos principales u otra característica del estudio.

**Tabla 3** Resumen de otros artículos de interés para la comunidad gastroenteróloga organizados por año de publicación

Número de referencia (año de publicación)	Tema	Comentarios
Roediger (1980) <sup>113</sup>	Ácidos grasos de cadena corta son fuente de energía para los colonocitos	Uno de los primeros artículos que demuestran que los ácidos grasos de cadena corta producidos por bacterias del colon sirven como fuente de energía para los colonocitos
Harig (1989) <sup>114</sup>	Tratamiento de colitis con ácidos grasos de cadena corta	La colitis puede ser mejorada clínicamente con enemas de ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato)
Steinhart (1994) <sup>115</sup>	Tratamiento de colitis ulcerativa con enemas de butirato	Enemas de butirato fueron capaces de lograr un 60% de tasa de respuesta positiva (solo 10 pacientes fueron estudiados)
Bühling (2001) <sup>116</sup>	Tratamiento contra <i>H. pylori</i>	La terapia triple con metronidazol, omeprazol y claritromicina contra <i>H. pylori</i> ejerce una influencia moderada en las comunidades bacterianas de las heces
Eckburg (2003) <sup>117</sup>	La relación entre miembros del dominio Archaea y la salud del ser humano	La gran mayoría de los estudios de la microbiota intestinal se han enfocado solo en bacterias. La relación de miembros de Archaea con salud y/o enfermedad es incierta
Wang (2004) <sup>47</sup>	Microbiota fecal en infantes (una semana de nacido hasta un año de edad)	Los autores sugieren acertadamente que la combinación de técnicas moleculares es útil para describir y comparar a la microbiota fecal
Van Nuenen (2004) <sup>118</sup>	Actividad metabólica de la microbiota intestinal	Los autores estudiaron el metabolismo de microorganismos fecales <i>in vitro</i> usando muestras de individuos sanos y con EI
Duc (2004) <sup>119</sup>	Caracterización de probióticos del género <i>Bacillus</i>	Los autores recomiendan que algunos probióticos del género <i>Bacillus</i> pueden no ser inocuos para uso humano
Land (2005) <sup>120</sup>	Probióticos y septicemia	Los autores describen 2 pacientes que recibieron probióticos del género <i>Lactobacillus</i> y desarrollaron bacteriemia atribuible a especies de <i>Lactobacillus</i>
Kühbacher (2006) <sup>121</sup>	Probióticos y pouchitis	Los autores investigaron cambios en la microbiota asociada con la mucosa en pacientes con pouchitis durante el consumo de un probiótico multi-especies. La diversidad bacteriana y fúngica fue mayor y menor, respectivamente, en pacientes en remisión mantenidos con el probiótico
Meimarakis (2006) <sup>122</sup>	<i>H. pylori</i> como indicador de mejor pronóstesis	La tasa de supervivencia a resección de adenocarcinoma gástrico fue significativamente más alta en pacientes positivos a <i>H. pylori</i> antes de realizar la cirugía. Los autores sugieren que la respuesta inmune de pacientes negativos a <i>H. pylori</i> puede ser deficiente (ver Luther et al., 2010 <sup>77</sup> en <b>tabla 1</b> )
Marteau (2006) <sup>123</sup>	Probióticos y enfermedad de Crohn	El consumo de una cepa de <i>Lactobacillus johnsonii</i> fue inefectivo como profilaxis de recurrencia postoperatoria en pacientes con enfermedad de Crohn
Besselink (2008) <sup>124</sup>	Efecto de probióticos en pacientes con pancreatitis aguda	El consumo de un probiótico compuesto de varias especies microbianas estuvo asociado con un mayor riesgo de mortalidad

Tabla 3 (continuación)

Número de referencia (año de publicación)	Tema	Comentarios
Stecher (2008) <sup>125</sup>	Relación entre la microbiota intestinal y enfermedades infecciosas	Los autores discuten mecanismos involucrados en la resistencia del hospedero a ser colonizado por potenciales patógenos
Mileti (2009) <sup>126</sup>	Propiedades inmuno-modulatorias de cepas de probióticos	Usando un modelo animal de colitis, los autores demostraron que 2 especies del mismo género bacteriano ( <i>Lactobacillus</i> ) exacerbaron la colitis y causaron la muerte de los animales de experimentación.
Pant (2009) <sup>127</sup>	Uso de inhibidores de las bombas de protones e infección por <i>Clostridium difficile</i>	Otra especie del mismo género protegió a los animales de la colitis Existe evidencia acerca de la relación entre supresores de acidez gástrica y mayor prevalencia de infecciones por <i>Clostridium difficile</i> ; sin embargo, existe mucha controversia, que los autores discuten brevemente
Wang (2009) <sup>128</sup>	Enterocolitis necrosante neonatal (NEC, por sus siglas en inglés)	Pacientes con NEC tuvieron una menor diversidad bacteriana y un incremento en la clase Gammaproteobacteria. Estos pacientes habían recibido antibióticos por mas días que los pacientes sanos sin NEC
Hill (2010) <sup>129</sup>	Cambios en la microbiota intestinal inducidos por antibióticos	El tratamiento con antibióticos (ampicilina, gentamicina, metronidazol, neomicina y vancomicina) causó cambios temporales o espaciales en grupos bacterianos propuestos en jugar un papel como causantes o posibles terapéuticos en enfermedades humanas. El consumo de antibióticos también causó alteraciones en la expresión de citocinas pro-inflamatorias
Garrett (2010) <sup>130</sup>	Papel de la microbiota intestinal en el desarrollo de colitis	Los autores usaron modelos animales con defectos en el sistema inmune innato para demostrar que miembros de la familia Enterobacteriaceae son capaces de inducir colitis espontánea capaz de ser «heredada» a las crías
Ohishi (2010) <sup>131</sup>	Probióticos y septicemia	Los autores reportan el caso de septicemia causado por <i>Bifidobacterium breve</i> en una niña recién nacida con onfalocele
Schwiertz (2010) <sup>132</sup>	Sobrepeso y obesidad	La proporción relativa del filo Bacteroidetes fue más alta en pacientes obesos y con sobrepeso
Frank (2011) <sup>133</sup>	Fenotipo y genotipo de EII y su asociación con la microbiota intestinal	Los resultados sugieren una relación entre la microbiota intestinal y el fenotipo y genotipo de la EII
Khoruts (2011) <sup>134</sup>	Trasplante de microbiota fecal	Los autores publican un excelente comentario en la revista <i>Nature</i> acerca del tema, con énfasis en la enfermedad causada por <i>Clostridium difficile</i>
Wu (2011) <sup>5</sup>	Dieta y cambios en la microbiota intestinal	Diferentes grupos bacterianos del intestino están relacionados con dietas mantenidas a largo plazo (por ejemplo, <i>Bacteroides</i> con grasa animal, y <i>Prevotella</i> con hidratos de carbono)
Biedermann (2013) <sup>135</sup>	Tabaquismo y cambios en la microbiota intestinal	Uno de los pocos estudios que investigan la relación entre tabaquismo y la microbiota intestinal

y almacenar energía de los nutrientes<sup>151,152</sup>. Ley et al. (2005)<sup>153</sup> fueron los primeros en describir esta relación mostrando una reducción del 50% en la abundancia relativa del filo Bacteroidetes en ratones obesos y un incremento proporcional en el filo Firmicutes. Estos resultados despertaron un gran interés por parte de la comunidad científica, en parte debido a conocimientos previos que asociaban a la microbiota intestinal con utilización y degradación de nutrientes<sup>154</sup>. Sin embargo, los resultados observados por Ley et al. fueron cambios al nivel de filo solamente; en este estudio no se observó ningún subgrupo específico (familias, géneros o especies) de grupos bacterianos que disminuyeron o aumentaron de manera consistente dentro de los 2 grandes filos de Firmicutes y Bacteroidetes. La disminución en Bacteroidetes en pacientes obesos ha sido confirmada por algunos estudios, mientras que otras investigaciones han arrojado resultados sin diferencias o resultados que contradicen las observaciones originales de Ley et al.<sup>155</sup>. Estas discrepancias pueden deberse al modelo animal utilizado así como también a las condiciones específicas de cada estudio en particular, incluyendo la técnica utilizada para estimar la abundancia de los microorganismos. También es importante reconocer las grandes diferencias en las comunidades microbianas intestinales entre individuos<sup>3</sup>.

La relación entre la microbiota intestinal y el peso corporal parece obedecer a las características únicas de los individuos investigados. Un artículo publicado recientemente mostró resultados alentadores en el entendimiento de la relación entre la microbiota intestinal y la obesidad<sup>156</sup>. El estudio involucró el trasplante de microbiota de gemelos discordantes para obesidad (solo un gemelo sufría de obesidad) a ratones libres de microbiota. En este trabajo, los ratones inoculados con la microbiota del gemelo obeso desarrollaron mayores incrementos en masa corporal y adiposidad que los inoculados con la microbiota del gemelo no-obeso, lo cual sugiere fuertemente una asociación entre la microbiota y la condición corporal del hospedero. Estudios como este permiten estudiar más a fondo la contribución metabólica de la microbiota GI y su relación con el peso corporal del hospedero.

Con frecuencia los problemas de obesidad y sobrepeso son acompañados de varios trastornos fisiológicos como resistencia a insulina, hiperlipidemia y acumulación anormal de grasa en el hígado, conocido colectivamente como síndrome metabólico, el cual a su vez incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Un artículo demostró que los cambios metabólicos que acompañan a este síndrome se correlacionan con cambios en la composición de la microbiota GI en ratones genéticamente deficientes de receptores 5 tipo Toll, un componente del sistema inmune innato expresado en la mucosa intestinal<sup>157</sup>. Estos resultados soportan aún más la hipótesis de que la microbiota GI contribuye a la aparición, desarrollo y/o mantenimiento de la obesidad y síndrome metabólico.

### **Patologías asociadas a la infección por *Helicobacter pylori***

De todo el aparato GI en el ser humano, el estómago es quizás el ambiente más hostil para la supervivencia microbiana, con valores de pH menores de 2 y una alta concentración

de proteasas durante la digestión de los alimentos. Aun en estas condiciones inhóspitas y a diferencia de otros mamíferos como los perros<sup>158</sup>, el estómago humano abriga una gran diversidad microbiana de al menos 5 filos diferentes, incluyendo Proteobacteria y varias especies del género *Helicobacter*<sup>8</sup>. La abundancia de *H. pylori* en el estómago varía grandemente (1-99%) entre individuos, y su presencia parece no afectar la composición microbiana gástrica<sup>8</sup>. Esta bacteria es considerada como el agente causal de varios tipos de cáncer en el estómago, esófago, hígado y otros órganos, así como úlceras gástricas y duodenales<sup>9,10,159</sup>, pero su relación con la salud humana es controversial. Por ejemplo, un estudio sugiere que los pacientes negativos a *H. pylori* tienen menor probabilidad de sobrevivir a cáncer gástrico después de una resección de adenocarcinoma gástrico<sup>122</sup>, mientras que un metaanálisis reciente sugiere que esta bacteria puede tener un efecto protector en pacientes con EII<sup>77</sup>. La evidencia muestra que *H. pylori* tiene un papel importante en el desarrollo de diversas patologías gástricas y que hay participación importante de factores ambientales, tales como estatus socioeconómico o los hábitos alimentarios, además de factores bacterianos, del hospedero y de la microbiota gástrica acompañante<sup>160</sup>.

La presencia e importancia de otras especies de *Helicobacter* también es controversial, pero hay estudios que apuntan a una relación de las mismas con diferentes padecimientos como cáncer, litiasis biliar y enfermedades cardíacas<sup>161,162</sup>. Es interesante notar que *H. pylori*, y probablemente otras especies microbianas, tiene la capacidad de migrar a diferentes secciones dentro del estómago<sup>163</sup>, lo cual podría repercutir en los hallazgos y conclusiones reportadas entre los diferentes estudios.

### **Infestaciones parasitarias**

Decenas de diferentes tipos de parásitos pueden infestar el tracto GI de humanos. La relación entre la microbiota GI y los parásitos intestinales muy probablemente se originó hace millones de años, los primeros protegiendo al hospedero y los últimos intentando infestarlos. Un número cada vez mayor de publicaciones han investigado la relación de la microbiota GI con parásitos intestinales. Por ejemplo, un artículo reciente sugiere que la microbiota intestinal tiene un papel importante en el éxito de la eclosión de huevos del parásito *Trichuris muris*<sup>164</sup>. Por el otro lado, la microbiota autóctona puede también tener un papel protector como en la estimulación de células dendríticas para activar la respuesta inmune en contra de *Toxoplasma gondii*<sup>165</sup>. Sin embargo, otros han sugerido que algunos miembros de la microbiota podrían promover la infección por helmintos<sup>166</sup>. Sin duda, la microbiota intestinal juega un papel importante en la infección por estos y otros organismos (por ejemplo, *Clostridium difficile*, ver «Trasplante de microbiota fecal» abajo). Sería interesante considerar en el futuro estudios que analicen el efecto de diferentes antiparasitarios en la microbiota GI como mecanismo alterno de acción en contra de parásitos intestinales.

### **Otros trastornos y enfermedades**

La microbiota GI ha sido implicada en varias otras condiciones de interés clínico, como trastornos del espectro

autista<sup>167,168</sup>, alergias<sup>75</sup> y susceptibilidad al virus de influenza<sup>169</sup>. Sin embargo, son necesarias más investigaciones para esclarecer esta relación y sus implicaciones en el tratamiento terapéutico de los pacientes. También es importante recalcar que la causa de las enfermedades muchas veces es multifactorial y por lo tanto difícil de esclarecer completamente. Aun a pesar de las desventajas inherentes a la asociación de comunidades microbianas complejas con padecimientos clínicos específicos, los cuales también varían grandemente entre individuos, proyectos de secuenciación a gran escala como el Proyecto de Microbioma Humano<sup>170</sup> o el *American Gut Project* jugarán un papel crucial en el entendimiento de la relación microorganismos-hospedero y su repercusión en salud y enfermedad.

## Estrategias que contribuyen a mejorar la salud gastrointestinal

### Probióticos y prebióticos

Iliá Méchnikoff es famoso por su trabajo con macrófagos y otros componentes del sistema inmune, pero también fue uno de los primeros científicos que discutió la posible relación de ciertos microorganismos intestinales con la salud intestinal. En su libro clásico titulado *La prolongación de la vida*, Méchnikoff describe el uso de bacterias productoras de ácido láctico para contrarrestar la «putrefacción» intestinal<sup>171</sup>.

El término prebiótico fue usado por primera vez en 1995 por Gibson y Roberfroid para referirse a ingredientes no-digeribles en la dieta capaces de estimular el crecimiento y/o la actividad de uno o más grupos bacterianos en el intestino grueso, intentando mejorar la salud en el hospedero<sup>172</sup>. Los probióticos por el otro lado son definidos como organismos viables que cuando son administrados en cantidades adecuadas son capaces de proveer un beneficio al hospedero<sup>173</sup>. El uso y el significado de ambos términos han cambiado ligeramente debido a nuevos hallazgos clínicos, metabólicos y taxonómicos<sup>174,175</sup>.

Hoy en día, cepas específicas de grupos bacterianos como *Bifidobacterium*<sup>176</sup>, *Enterococcus*<sup>177</sup>, *Lactobacillus*<sup>178</sup>, *Streptococcus*<sup>179</sup> y *E. coli*<sup>180</sup> han sido utilizadas como probióticos. Levaduras como *Saccharomyces boulardii* también han sido utilizadas en múltiples estudios<sup>181</sup>. Además, se han propuesto algunas especies productoras de butirato como probióticos potenciales debido a su estrecha relación con la salud intestinal<sup>182</sup>. Una de las principales preocupaciones acerca del uso de los probióticos es que muchos productos comerciales no mencionan o no contienen los ingredientes descritos en las etiquetas<sup>183</sup>. Por otro lado, el uso de probióticos se ha asociado con el desarrollo de septicemia y mayor mortalidad en pacientes inmunosuprimidos o con enfermedad pancreática<sup>118,122,184</sup>, por lo que cualquier producto nutracéutico debe ser usado con cautela.

Diferentes autores han cuestionado: a) la eficacia de prebióticos, probióticos o su combinación (simbiótico); b) la eficacia de probióticos compuestos de una sola cepa, de una sola especie o de varias especies, y c) la eficacia de microorganismos aislados del mismo o de otro tipo de hospedero. En nuestro conocimiento; a) ningún artículo ha sido publicado comparando un simbiótico con sus componentes

por separado (probióticos y prebióticos), aunque se espera que juntos funcionen mejor; b) 2 artículos de revisión sugieren que la combinación de varios organismos en una misma formulación pueden ser más efectivos en promover la salud en el hospedero, pero ambos admiten desconocer los mecanismos<sup>185,186</sup>, y por último, c) la literatura indica que ciertas cepas o especies de microorganismos son capaces de mejorar la salud sin la necesidad de ser organismos autóctonos de la especie de hospedero<sup>187</sup>. De hecho, un probiótico no necesita provenir del aparato intestinal para ser efectivo clínicamente en casos de enfermedad GI<sup>181</sup> y no necesariamente tienen que haber sido aislados del tracto GI de los seres humanos para tener el potencial de proporcionar beneficios en la salud de nuestra especie.

### Trasplante de microbiota fecal

La trasplantación de microbiota fecal, terapia fecal o microbioterapia fecal consiste en la introducción de heces de un individuo sano en el tracto GI de otro individuo para curar una enfermedad específica, en particular la infección por *Clostridium difficile*<sup>188</sup>. Estudios recientes sugieren que el trasplante fecal es un procedimiento terapéutico eficiente para tratar infección recurrente por *C. difficile*<sup>189</sup>. Este procedimiento ha mostrado ser capaz de inducir la remisión en un gran porcentaje (> 90%) de pacientes con enfermedad por *C. difficile*<sup>190</sup>. Existe también evidencia del potencial de la microbioterapia fecal para curar EI y otras enfermedades<sup>189,191,192</sup>.

Actualmente se desconoce el mecanismo exacto por el cual la microbioterapia fecal es efectiva, pero algunos sugieren que ayuda a restaurar las comunidades microbianas normales<sup>193</sup>, las cuales podrían no solo proteger contra la colonización de patógenos como *C. difficile* sino también suprimir su crecimiento<sup>194</sup>. Hamilton et al. (2013)<sup>194</sup> utilizaron Illumina para estudiar la microbiota de 3 pacientes receptores de trasplante fecal a lo largo del tiempo y compararlo con la microbiota fecal del donador. A pesar de la gran similitud entre las muestras del donador y las muestras postrasplante de los receptores del trasplante, la abundancia relativa de miembros específicos de la microbiota varió considerablemente entre pacientes y entre muestras a diferentes tiempos postrasplante. Esta falta de consistencia en la abundancia de grupos microbianos específicos sugiere que el mecanismo de acción de los trasplantes fecales involucra otros aspectos de la microbiota (por ejemplo, actividad metabólica) además de un cambio en su composición taxonómica.

### Arcillas minerales

Las arcillas minerales son materiales idealmente inertes cuyo consumo tiene el potencial de provocar cambios favorables en la salud GI. Aunque la mayoría de las investigaciones con estas arcillas se han centrado en sus efectos para prevenir la intoxicación por aflatoxinas<sup>195,196</sup>, estas arcillas han demostrado su utilidad en el tratamiento de signos clínicos GI. Por ejemplo, un estudio en Italia de más de 800 niños con diarrea aguda mostró que una arcilla de tipo esmectita redujo significativamente la duración de la diarrea<sup>197</sup>. Investigaciones más recientes han confirmado

este efecto benéfico de arcillas esmectitas en controlar la diarrea en un gran número de pacientes pediátricos<sup>198</sup>. Los probables mecanismos de acción de la arcilla han sido discutidos e involucran protección de la capa de mucina, adsorción de compuestos tóxicos y modulación de la respuesta inflamatoria<sup>199-201</sup>. Esta modulación se puede dar debido a la adsorción de agentes inflamatorios intraluminales tales como interferones, interleucinas y otras citocinas. Otro posible mecanismo de acción de las arcillas en el tracto GI es modular la composición de la microbiota, pero desafortunadamente el efecto de estos compuestos en microorganismos intestinales ha sido estudiado casi exclusivamente usando métodos de cultivo<sup>200,202</sup>. Un artículo reciente utilizó Illumina (casi un millón de secuencias del gen 16S fueron generadas) para estudiar la microbiota fecal en un modelo animal de enfermedad de Crohn expuesto a ácido 2,4,6-trinitrobencenosulfónico (TNBS) con o sin arcilla esmectita<sup>201</sup>. Esfuerzos como este estudio de secuenciación masiva podrían ayudar a comprender mejor el efecto de arcillas minerales en la microbiota GI y su repercusión en la salud digestiva.

### Marcadores microbianos de salud o enfermedad gastrointestinal

La medición de la abundancia de microorganismos GI no patogénicos para diagnosticar enfermedades aún no ha sido debidamente explorada, tal y como en el caso de las bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta o bacterias degradadoras de mucinas.

#### Cuantificación de bacterías productoras de ácidos grasos de cadena corta

Los ácidos grasos de cadena corta sirven como fuente de energía para los colonocitos. Algunas bacterias intestinales son importantes productoras de estos compuestos<sup>203</sup>, por lo que varios estudios han intentado determinar su abundancia en pacientes con y sin EII (tabla 2). Por ejemplo, la bacteria *Faecalibacterium prausnitzii* fue inicialmente descubierta hace casi un siglo<sup>204</sup>, clasificada como *Fusobacterium prausnitzii*<sup>205</sup>, estudiada por estos y otros autores<sup>206</sup>, y finalmente reclasificada como *Faecalibacterium prausnitzii*<sup>207</sup>. *F. prausnitzii* es una bacteria que produce ácidos grasos de cadena corta en abundancia<sup>203</sup>, y varios estudios han mostrado una menor abundancia de esta bacteria en pacientes con EII (tabla 2). Sería interesante investigar en futuros estudios el potencial de la abundancia de esta u otras bacterias productoras de ácidos grasos de cadena corta en la detección y el diagnóstico de EII.

#### Cuantificación de bacterias degradadoras de mucinas

Otro dato interesante del papel de la microbiota GI en la salud humana es la degradación de mucina por *Akkermansia muciniphila*. En 1990, investigadores ingleses mostraron una cantidad significativamente menor de mucina en biopsias de pacientes con colitis ulcerativa (10 pacientes) en comparación con biopsias de pacientes sanos (5 pacientes) o con enfermedad de Crohn (11 pacientes)<sup>208</sup>. Los autores de este artículo discuten que la destrucción de mucina tiene un gran valor diagnóstico, lo cual puede emplearse para el manejo terapéutico y definir el pronóstico del paciente. De

manera interesante, no todos los miembros de la microbiota intestinal son capaces de degradar mucinas con la misma capacidad. En 2004 se logró aislar *A. muciniphila* a partir de materia fecal de humano. Esta cepa fue capaz de crecer en un medio con mucina como la única fuente de carbono y nitrógeno<sup>209</sup>. Poco después, se encontró que esta bacteria es un miembro abundante de la microbiota intestinal<sup>210</sup>. Estos resultados han sido confirmados en un estudio reciente, donde se demostró que *A. muciniphila* es uno de los principales degradadores de mucina en un modelo animal<sup>45</sup>. Si se toma en cuenta el potencial diagnóstico de la destrucción de mucinas, y soportado por estas investigaciones, el ejemplo de *A. muciniphila* es una clara demostración de cómo el estudio de la microbiota intestinal puede tener un valor diagnóstico en la práctica clínica. En nuestro conocimiento, sin embargo, ningún estudio ha sido publicado que investigue el valor diagnóstico de la abundancia de *A. muciniphila* en heces de pacientes.

## Conclusiones

El hospedero humano y sus huéspedes microbianos han coevolucionado por millones de años hasta convertirse en un solo superorganismo. Esta relación milenaria se ve reflejada en una convivencia frecuentemente armoniosa que observamos hoy en día en millones de personas que gozan de buena salud GI. Los resultados de las investigaciones acerca de la microbiota GI dependen de las diferentes técnicas de cultivo o moleculares utilizadas, por lo que es recomendable utilizar más de una técnica para corroborar los resultados.

En resumen, la microbiota GI juega un papel vital en la salud del ser humano. A pesar de los grandes avances en el entendimiento del ecosistema microbiano GI, más investigaciones son necesarias para definir las razones detrás de las variaciones entre individuos y su repercusión en el tratamiento de patologías digestivas. Un mejor conocimiento de la microbiota y su asociación con salud y enfermedad podría en el futuro permitir modificar este ecosistema exitosamente para mantener o mejorar el bienestar de los pacientes. El presente trabajo de revisión pretende despertar un mayor interés en la microbiota GI y su posible alteración en composición numérica, taxonómica y/o funcional para fortalecer la salud en el ser humano. Para esto, es necesario comenzar a visualizar a los pacientes como superorganismos cuyo bienestar no solo depende de la homeostasis de sus tejidos, sino también de su equilibrio con sus trillones de huéspedes microbianos.

## Financiación

El presente trabajo no recibió financiamiento por ninguna compañía o laboratorio.

## Conflictos de intereses

Los autores no tienen relación con ningún laboratorio, institución de educación u otra entidad lucrativa o no lucrativa en México u otros países que pudiera haber afectado el enfoque y revisión objetiva de los artículos científicos discutidos en este trabajo.

## Agradecimientos

Los autores agradecen cordialmente al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) por soporte financiero a través del programa SNI (Sistema Nacional de Investigadores).

## Bibliografía

1. Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005;307:1915–20.
2. Yang X, Xie L, Li Y, Wei C. More than 9,000,000 unique genes in human gut bacterial community: Estimating gene numbers inside a human body. *PLoS One*. 2009;4, e6074.
3. Ursell LK, Clemente JC, Rideout JR, Gevers D, Caporaso JG, Knight R. The interpersonal and intrapersonal diversity of human-associated microbiota in key body sites. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129:1204–8.
4. O'Toole PW, Claesson MJ. Gut microbiota: Changes throughout the lifespan from infancy to elderly. *Int Dairy J*. 2010;20:281–91.
5. Wu GD, Chen J, Hoffmann C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science*. 2011;334:105–8.
6. Dethlefsen L, Huse S, Sogin ML, Relman DA. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biol*. 2008;6:e280.
7. Dewhurst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol*. 2010;192:5002–17.
8. Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, et al. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:732–7.
9. International Agency for Research on Cancer (IARC) Monographs–100B.
10. Peek RM Jr, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:28–37.
11. Booijink CCGM, el-Aidy S, Rajilić-Stojanović M, Heilig GHJ, Troost FJ, Smidt H, et al. High temporal and inter-individual variation detected in the human ileal microbiota. *Environ Microbiol*. 2010;12:3213–27.
12. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005;308:1635–8.
13. Ley RE, Hamady M, Lozupone C, Turnbaugh P, Ramey RR, Bircher JS, et al. Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*. 2008;320:1647–51.
14. Lozupone CA, Stombaugh JI, Gordon JI, Jansson JK, Knight R. Diversity, stability and resilience of the human gut microbiota. *Nature*. 2012;489:220–30.
15. Moore WEC, Holdeman LV. Discussion of current bacteriological investigations of the relationships between intestinal flora, diet, and colon cancer. *Cancer Research*. 1975;35: 3418–20.
16. Dubourg G, Lagier JC, Armougom F, Robert C, Hamad I, Brouqui P, et al. The gut microbiota of a patient with resistant tuberculosis is more comprehensively studied by culturomics than by metagenomics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32: 637–45.
17. Lagier JC, Armougom F, Million M, Hugon P, Pagnier I, Robert C, et al. Microbial culturomics: Paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:1185–93.
18. Ritz K. The plate debate: cultivable communities have no utility in contemporary environmental microbial ecology. *FEMS Microbiol Ecol*. 2007;60:358–62.
19. Baker GC, Smith JJ, Cowan DA. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *J Microbiol Methods*. 2003;55:541–55.
20. Hill JE, Penny SL, Crowell KG, Han Goh S, Hemmingsen SM. cpnDB: A chaperonin sequence database. *Genome Res*. 2004;14:1669–75.
21. Case RJ, Boucher Y, Dahllof I, Holmstrom C, Doolittle WF, Kjelleberg S. Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73:278–88.
22. Hill JE, Fernando WM, Zello GA, Tyler RT, Dahl WJ, van Kessel AG. Improvement of the representation of bifidobacteria in fecal microbiota metagenomic libraries by application of the cpn60 universal primer cocktail. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76:4550–2.
23. Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnol*. 2013;31:814–23.
24. Achtman M, Wagner M. Microbial diversity and the genetic nature of microbial species. *Nat Rev Microbiol*. 2008;6:431–40.
25. Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10:190–212.
26. Klappenbach JA, Dunbar JM, Schmidt TM. rRNA operon copy number reflects ecological strategies of bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66:1328–33.
27. Coenye T, Vandamme P. Intrageneric heterogeneity between multiple 16S ribosomal RNA operons in sequenced bacterial genomes. *FEMS Microbiol Lett*. 2013;228:45–9.
28. Franks AH, Harmsen HJ, Raangs GC, Jansen GJ, Schut F, Welling GW. Variations of bacterial populations in human feces measured by fluorescent *in situ* hybridization with group-specific 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64:3336–45.
29. Langendijk PS, Schut F, Jansen GJ, Raangs GC, Kamphuis GR, Wilkinson MH, et al. Quantitative fluorescence *in situ* hybridization of *Bifidobacterium* spp. with genus-specific 16S rRNA-targeted probes and its application in fecal samples. *Appl Environ Microbiol*. 1995;61:3069–75.
30. Rigottier-Gois L, Bourhis AG, Gramet G, Rochet V, Dore J. Fluorescent hybridisation combined with flow cytometry and hybridisation of total RNA to analyse the composition of microbial communities in human faeces using 16S rRNA probes. *FEMS Microbiol Ecol*. 2003;43:237–45.
31. Niklausz M, Sipos R, Revesz S, Szekely A, Mariáligeti K. Observation of bias associated with re-amplification of DNA isolated from denaturing gradient gels. *FEMS Microbiol Lett*. 2005;244:385–90.
32. Larsen N, Vogensen FK, Göbel R, Michaelsen KF, Al-Soud WA, Sørensen SJ, et al. Predominant genera of fecal microbiota in children with atopic dermatitis are not altered by intake of probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bi-07. *FEMS Microbiol Ecol*. 2011;75:482–96.
33. Ott SJ, Kühbacher T, Musfeldt M, Rosenstiel P, Hellwig S, Rehman A, et al. Fungi and inflammatory bowel diseases: Alterations of composition and diversity. *Scand J Gastroenterol*. 2008;43:831–41.
34. Kang S, Denman SE, Morrison M, Yu Z, Dore J, Leclerc M, et al. Dysbiosis of fecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16:2034–42.
35. Van den Bogert B, de Vos WM, Zoetendal EG, Kleerebezem M. Microarray analysis and barcoded pyrosequencing provide consistent microbial profiles depending on the source of human intestinal samples. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:2071–80.
36. Morotomi M, Nagai F, Watanabe Y. Description of *Christensenella minuta* gen. nov., sp. nov., isolated from human faeces,

- which forms a distinct branch in the order *Clostridiales*, and proposal of *Christensenellaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2012;62:144–9.
- 37. Waters J, Goodrich J, Ley R. Host phenotype effects of *Christensenella minuta*, the most strongly heritable component of the human gut microbiota, assessed in gnotobiotic mice. Presentación oral. ISME15, 29 de agosto de 2014. Seúl, Corea del Sur.
  - 38. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74:5463–7.
  - 39. Pettersson E, Lundeberg J, Ahmadian A. Generations of sequencing technologies. *Genomics*. 2009;93:105–11.
  - 40. Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, et al. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J*. 2012;6:1621–4.
  - 41. Milani C, Hevia A, Foroni E, Duranti S, Turroni F, Lugli GA, et al. Assessing the fecal microbiota: an optimized Ion Torrent 16S rRNA gene-based analysis protocol. *PLoS One*. 2013;8:e68739.
  - 42. Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*. 2010;7:335–6.
  - 43. Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, et al. Introducing Mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75:7537–41.
  - 44. Kolmeder CA, de Been M, Nikkilä J, Ritamo I, Mättö J, Valmu L, et al. Comparative metaproteomics and diversity analysis of human intestinal microbiota testifies for its temporal stability and expression of core functions. *PLoS ONE*. 2012;7:e29913.
  - 45. Berry D, Stecher B, Schintlmeister A, Reichert J, Brugiroux S, Wild B, et al. Host-compound foraging by intestinal microbiota revealed by single-cell stable isotope probing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110:4720–5.
  - 46. Fuchs BM, Wallner G, Beisker W, Schwippl I, Ludwig W, Amann R. Flow cytometric analysis of the in situ accessibility of *Escherichia coli* 16S rRNA for fluorescently labeled oligonucleotide probes. *Appl Environ Microbiol*. 1998;64:4973–82.
  - 47. Wang M, Ahrné S, Antonsson M, Molin G. T-RFLP combined with principal component analysis and 16S rRNA gene sequencing: An effective strategy for comparison of fecal microbiota in infants of different ages. *J Microbiol Meth*. 2004;59:53–69.
  - 48. Hill MJ. The role of colon anaerobes in the metabolism of bile acids and steroids, and its relation to colon cancer. *Cancer*. 1975;36:2387–400.
  - 49. Roediger WE. Anaerobic bacteria, the colon and colitis. *Aust N Z J Surg*. 1980;50:73–5.
  - 50. Scheppach W, Christl SU, Bartram HP, Richter F, Kasper H. Effects of short-chain fatty acids on the inflamed colonic mucosa. *Scand J Gastroenterol*. 1997;32:53–7.
  - 51. Salminen S, von Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, et al. Demonstration of safety of probiotics—a review. *Int J Food Microbiol*. 1998;44:93–106.
  - 52. Cook SI, Sellin JH. Review article: Short chain fatty acids in health and disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 1998;12:499–507.
  - 53. Apostolou E, Kirjavainen PV, Saxelin M, Rautelin H, Valtonen V, Salminen SJ, et al. Good adhesion properties of probiotics: A potential risk for bacteremia. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2001;31:35–9.
  - 54. 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;35:1155–60.
  - 55. Vaarala O. Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. *Clin Exp Allergy*. 2003;33:1634–40.
  - 56. Mai V, Morris JG Jr. Colonic bacterial flora: Changing understandings in the molecular age. *J Nutr*. 2004;134:459–64.
  - 57. Marteau P, Lepage P, Mangin I, Suau A, Dore J, Pochart P, et al. Review article: Gut flora and inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004;20:18–23.
  - 58. Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: Antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology*. 2004;126:1620–33.
  - 59. Tamboli CP, Neut C, Desreumaux P, Colombel JF. Dysbiosis in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2004;53:1–4.
  - 60. Thompson-Chagoyan OC, Maldonado J, Gil A. Aetiology of inflammatory bowel disease (IBD): Role of intestinal microbiota and gut-associated lymphoid tissue immune response. *Clin Nutr*. 2005;24:339–52.
  - 61. Egert M, de Graaf AA, Smidt H, de Vos WM, Venema K. Beyond diversity: Functional microbiomics of the human colon. *Trends Microbiol*. 2006;14:86–91.
  - 62. O’Hara AM, Shanahan F. Gut microbiota: mining for therapeutic potential. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007;5:274–84.
  - 63. Guarner F. Prebiotics in inflammatory bowel diseases. *Br J Nutr*. 2007;98:S85–9.
  - 64. Goyette P, Labbe C, Trinh TT, Xavier RJ, Rioux JD. Molecular pathogenesis of inflammatory bowel disease: Genotypes, phenotypes and personalized medicine. *Ann Med*. 2007;39:177–99.
  - 65. Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2007;448:427–34.
  - 66. Sheil B, Shanahan F, O’Mahony L. Probiotic effects on inflammatory bowel disease. *J Nutr*. 2007;137:819S–24S.
  - 67. Eckburg PB, Relman DA. The role of microbes in Crohn’s disease. *Clin Infect Dis*. 2007;44:256–62.
  - 68. Peterson DA, Frank DN, Pace NR, Gordon JI. Metagenomic approaches for defining the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Cell Host Microbe*. 2008;3:417–27.
  - 69. Issa M, Ananthakrishnan AN, Binion DG. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14:1432–42.
  - 70. Sokol H, Lay C, Seksik P, Tannock GW. Analysis of bacterial bowel communities of IBD patients: What has it revealed. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14:858–67.
  - 71. Khoshini R, Dai SC, Lezcano S, Pimentel M. A systematic review of diagnostic tests for small intestinal bacterial overgrowth. *Dig Dis Sci*. 2008;53:1443–54.
  - 72. Turroni F, Ribbera A, Foroni E, van Sinderen D, Ventura M. Human gut microbiota and bifidobacteria: From composition to functionality. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2008;94:35–50.
  - 73. Andoh A, Benno Y, Kanauchi O, Fujiyama Y. Recent advances in molecular approaches to gut microbiota in inflammatory bowel disease. *Curr Pharm Des*. 2009;15:2066–73.
  - 74. Dupont C, Vernisse B. Anti-diarrheal effects of diosmectite in the treatment of acute diarrhea in children—A review. *Pediatr Drugs*. 2009;11:89–99.
  - 75. Round JL, Mazmanian SK. The gut microbiota shapes intestinal immune responses during health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:313–23.
  - 76. Hill DA, Artis D. Intestinal bacteria and the regulation of immune cell homeostasis. *Annu Rev Immunol*. 2010;28:623–67.
  - 77. Luther J, Dave M, Higgins PD, Kao JY. Association between *Helicobacter pylori* infection and inflammatory bowel disease: A meta-analysis and systematic review of the literature. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16:1077–84.
  - 78. Włodarska M, Finlay BB. Host immune response to antibiotic perturbation of the microbiota. *Mucosal Immunol*. 2010;3:100–3.

79. Haller D. Nutrigenomics and IBD: The intestinal microbiota at the cross-road between inflammation and metabolism. *J Clin Gastroenterol.* 2010;44:S6–9.
80. Nell S, Suerbaum S, Josenhans C. The impact of the microbiota on the pathogenesis of IBD: Lessons from mouse infection models. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8:564–77.
81. Hörmannsperger G, Haller D. Molecular crosstalk of probiotic bacteria with the intestinal immune system: Clinical relevance in the context of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol.* 2010;300:63–73.
82. Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology.* 2011;140:1720–8.
83. Fava F, Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: Friend or foe. *World J Gastroenterol.* 2011;17:557–66.
84. Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2012;9:599–608.
85. Bushman FD, Lewis JD, Wu GD. Diet, the human gut microbiota, and IBD. *Anaerobe.* 2013;24:117–20.
86. Viladomiu M, Hontecillas R, Yuan L, Lu P, Bassaganya-Riera J. Nutritional protective mechanisms against gut inflammation. *J Nutr Biochem.* 2013;24:929–39.
87. Sharon G, Garg N, Debelius J, Knight R, Dorrestein PC, Mamanian SK. Specialized metabolites from the microbiome in health and disease. *Cell Metab.* 2014;20:719–30.
88. Swidsinski A, Weber J, Loening-Baucke V, Hale LP, Lochs H. Spatial organization and composition of the mucosal flora in patients with inflammatory bowel disease. *J Clin Microbiol.* 2005;43:3380–9.
89. Lepage P, Seksik P, Sutren M, de la Cochetiere MF, Jian R, Marteau P, et al. Biodiversity of the mucosa-associated microbiota is stable along the distal digestive tract in healthy individuals and patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis.* 2005;11:473–80.
90. Bibiloni R, Mangold M, Madsen KL, Fedorak RN, Tannock GW. The bacteriology of biopsies differs between newly diagnosed, untreated, Crohn's disease and ulcerative colitis patients. *J Med Microbiol.* 2006;55:1141–9.
91. Conte MP, Schippan S, Zamboni I, Penta M, Chiarini F, Seganti L, et al. Gut-associated bacterial microbiota in paediatric patients with inflammatory bowel disease. *Gut.* 2006;55:1760–7.
92. Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, Gloux K, Pelletier E, Frangeul, et al. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn's disease revealed by a metagenomic approach. *Gut.* 2006;55:205–11.
93. Sokol H, Lepage P, Seksik P, Dore J, Marteau P. Temperature gradient gel electrophoresis of fecal 16S rRNA reveals active *Escherichia coli* in the microbiota of patients with ulcerative colitis. *J Clin Microbiol.* 2006;44:3172–7.
94. Sokol H, Seksik P, Rigottier-Gois L, Lay C, Lepage P, Podglajen I, et al. Specificities of the fecal microbiota in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12:106–11.
95. Martinez-Medina M, Aldeguer X, Gonzalez-Huix F, Acero D, Garcia-Gil LJ. Abnormal microbiota composition in the ileo-colonic mucosa of Crohn's disease patients as revealed by polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis. *Inflamm Bowel Dis.* 2006;12:1136–45.
96. Andoh A, Sakata S, Koizumi Y, Mitsuyama K, Fujiyama Y, Benno Y. Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of the diversity of fecal microbiota in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13:955–62.
97. Kassinen A, Krogjus-Kurikka L, Mäki vuokko H, Rinttilä T, Paulin L, Corander J, et al. The fecal microbiota of irritable bowel syndrome patients differs significantly from that of healthy subjects. *Gastroenterology.* 2007;133:24–33.
98. Gueimonde M, Ouwehand A, Huhtinen H, Salminen E, Salminen S. Qualitative and quantitative analyses of the bifidobacterial microbiota in the colonic mucosa of patients with colorectal cancer, diverticulitis and inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2007;13:3985–9.
99. Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:13780–5.
100. Martinez C, Antolin M, Santos J, Torrejon A, Casellas F, Borruel N, et al. Unstable composition of the fecal microbiota in ulcerative colitis during clinical remission. *Am J Gastroenterol.* 2008;103:643–8.
101. Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105:16731–6.
102. Takaishi H, Matsuki T, Nakazawa A, Takada T, Kado S, Asahara T, et al. Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol.* 2008;298:463–72.
103. Willing B, Halfvarson J, Dicksved J, Rosenquist M, Järnerot G, Engstrand L, et al. Twin studies reveal specific imbalances in the mucosa-associated microbiota of patients with ileal Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:653–60.
104. Nishikawa J, Kudo T, Sakata S, Benno Y, Sugiyama T. Diversity of mucosa-associated microbiota in active and inactive ulcerative colitis. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44:180–6.
105. Sokol H, Seksik P, Furet JP, Firmesse O, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, et al. Low counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. *Inflamm Bowel Dis.* 2009;15:1183–9.
106. Codling C, O'Mahony L, Shanahan F, Quigley EM, Marchesi JR. A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci.* 2010;55:392–7.
107. Schwertz A, Jacobi M, Frick JS, Richter M, Rusch K, Kohler H. Microbiota in pediatric inflammatory bowel disease. *J Pediatr.* 2010;157:240–4.
108. Willing BP, Dicksved J, Halfvarson J, Andersson AF, Lucio M, Zheng Z, et al. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. *Gastroenterology.* 2010;139:1844–54.
109. Mondot S, Kang S, Furet JP, Aguirre de Carder D, McSweeney C, Morrison M, et al. Highlighting new phylogenetic specificities of Crohn's disease microbiota. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:185–92.
110. Walker AW, Sanderson JD, Churcher C, Parkes GC, Hudspith BN, Rayment N, et al. High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. *BMC Microbiol.* 2011;11:7.
111. Hansen R, Berry SH, Mukhopadhyay I, Thomson JM, Saunders KA, Nicholl CE, et al. The microaerophilic microbiota of *de-novo* paediatric inflammatory bowel disease: The BISCUIT Study. *PLoS One.* 2013;8:e58825.
112. Rehman A, Rausch P, Wang J, Skieciwicene J, Kiudelis G, Bhagatia K, et al. Geographical patterns of the standing and active human gut microbiome in health and IBD. *Gut.* 2015;0:1–11, <http://dx.doi.org/10.1136/gutnl-2014-308341>.
113. Roediger WE. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut.* 1980;21:793–8.
114. Havig JM, Soergel KH, Komorowski RA, Wood CM. Treatment of diversion colitis with short-chain-fatty acid irrigation. *N Engl J Med.* 1989;320:23–8.
115. Steinhart AH, Brzezinski A, Baker JP. Treatment of refractory ulcerative proctosigmoiditis with butyrate enemas. *Am J Gastroenterol.* 1994;89:179–83.
116. Bühlung A, Radun D, Müller WA, Malfertheiner P. Influence of anti-*Helicobacter* triple-therapy with metronidazole,

- omeprazole and clarithromycin on intestinal microflora. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001;15:1445–52.
117. Eckburg PB, Lepp PW, Relman DA. Archaea and their potential role in human disease. *Infect Immun.* 2003;71:591–6.
  118. Van Nuenen MH, Venema K, van der Woude JC, Kuipers EJ. The metabolic activity of fecal microbiota from healthy individuals and patients with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2004;49:485–91.
  119. Duc LH, Hong HA, Barbosa TM, Henriques AO, Cutting SM. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70:2161–71.
  120. Land MH, Rouster-Stevens K, Woods CR, Cannon ML, Cnota J, Shetty AK. *Lactobacillus* sepsis associated with probiotic therapy. *Pediatrics.* 2005;115:178–81.
  121. Kühhbacher T, Ott SJ, Helwig U, Mimura T, Rizzello F, Kleessen B, et al. Bacterial and fungal microbiota in relation to probiotic therapy (VSL#3) in pouchitis. *Gut.* 2006;55:833–41.
  122. Meimarakis G, Winter H, Assmann I, Kopp R, Lehn N, Kist M, et al. *Helicobacter pylori* as a prognostic indicator after curative resection of gastric carcinoma: A prospective study. *Lancet Oncol.* 2006;7:211–22.
  123. Marteau P, Lémann M, Seksik P, Laharie D, Colombel JF, Bouhnik Y, et al. Ineffectiveness of *Lactobacillus johnsonii* LA1 for prophylaxis of postoperative recurrence in Crohn's disease: A randomised, double blind, placebo controlled GETAID trial. *Gut.* 2006;55:842–7.
  124. 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;371:651–9.
  125. Stecher B, Hardt WD. The role of microbiota in infectious disease. *Trends Microbiol.* 2008;16:107–14.
  126. Miletí E, Matteoli G, Iliev ID, Rescigno M. Comparison of the immunomodulatory properties of three probiotic strains of *Lactobacilli* using complex culture systems: Prediction for *in vivo* efficacy. *PLoS One.* 2009;4:e7056.
  127. Pant C, Madonia P, Minocha A. Does PPI therapy predispose to *Clostridium difficile* infection. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009;6:555–7.
  128. Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Peetrof EO, Sun J, et al. 16S rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J.* 2009;3:944–54.
  129. Hill DA, Hoffmann C, Abt MC, Du Y, Kobuley D, Kirn TJ, et al. Metagenomic analyses reveal antibiotic-induced temporal and spatial changes in intestinal microbiota with associated alterations in immune cell homeostasis. *Mucosal Immunol.* 2010;3:148–58.
  130. Garrett WS, Gallini CA, Yatsunenko T, Michaud M, DuBois A, Delaney ML, et al. Enterobacteriaceae act in concert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe.* 2010;8:292–300.
  131. Ohishi A, Takahashi S, Ito Y, Ohishi Y, Tsukamoto K, Nanba Y, et al. *Bifidobacterium* septicemia associated with postoperative probiotic therapy in a neonate with omphalocele. *J Pediatr.* 2010;156:679–81.
  132. Schwietz A, Taras D, Schäfer K, Beijer S, Bos NA, Donus C, et al. Microbiota and SCFA in lean and overweight healthy subjects. *Obesity.* 2010;18:190–5.
  133. Frank DN, Robertson CE, Hamm CM, Kpadeh Z, Zhang T, Chen H, et al. Disease phenotype and genotype are associated with shifts in intestinal-associated microbiota in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis.* 2011;17:179–84.
  134. Khoruts A, Sadowsky MJ. Therapeutic transplantation of the distal gut microbiota. *Mucosal Immunol.* 2011;4:4–7.
  135. Biedermann L, Zeitz J, Mwinyi J, Sutter-Minder E, Rehman A, Ott SJ, et al. Smoking cessation induces profound changes in the composition of the intestinal microbiota in humans. *PLoS One.* 2013;8:e59260.
  136. Haenel H. Some rules in the ecology of the intestinal microflora of man. *J Appl Bacteriol.* 1961;24:242–51.
  137. Savage DC. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu Rev Microbiol.* 1977;31:107–33.
  138. Cummings JH, Macfarlane GT. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J Appl Bacteriol.* 1991;70:443–59.
  139. DuPont HL. Review article: evidence for the role of gut microbiota in irritable bowel syndrome and its potential influence on therapeutic targets. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39:1033–42.
  140. Marteau P, Pochart P, Dore J, Bera-Maillet C, Bernalier A, Corthier G. Comparative study of bacterial groups within the human cecal and fecal microbiota. *Appl Environ Microbiol.* 2001;67:4939–42.
  141. Zoetendal EG, von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans AD, de Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol.* 2002;68:3401–7.
  142. Wang X, Heazlewood SP, Krause DO, Florin TH. Molecular characterization of the microbial species that colonize human ileal and colonic mucosa by using 16S rDNA sequence analysis. *J Appl Microbiol.* 2003;95:508–20.
  143. Wang M, Ahrné S, Jeppsson B, Molin G. Comparison of bacterial diversity along the human intestinal tract by direct cloning and sequencing of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiol Ecol.* 2005;54:219–31.
  144. Suchodolski JS, Camacho J, Steiner JM. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol.* 2008;66:567–78.
  145. Nicholson JK, Holmes E, Kinross J, Burcelin R, Gibson G, Jia W, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science.* 2012;336:1262–7.
  146. Lee WJ, Hase K. Gut microbiota-generated metabolites in animal health and disease. *Nat Chem Biol.* 2014;10:416–24.
  147. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med.* 2002;347:417–29.
  148. Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Rev Immunol.* 2010;10:159–69.
  149. Bosques-Padilla FJ, Galindo SL, Yamamoto-Furusho JK. Conceptos actuales acerca del tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal mediante terapia biológica. *Rev Gastroenterol Mex.* 2008;73:217–30.
  150. Rajca S, Grondin V, Louis E, Vernier-Massouille G, Grimaud JC, Buhnik Y, et al. Alterations in the intestinal microbiome (dysbiosis) as a predictor of relapse after infliximab withdrawal in Chron's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2014;20:978–86.
  151. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Young-Koh G, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:15718–23.
  152. Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006;444:1027–31.
  153. Ley RE, Bäckhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:11070–5.
  154. Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett.* 2002;217:133–9.
  155. Delzenne NM, Cani PD. Interaction between obesity and the gut microbiota: Relevance in nutrition. *Annu Rev Nutr.* 2011;31:15–31.

156. Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science*. 2013;341:1, <http://dx.doi.org/10.1126/science.1241214>.
157. Vijay-Kumar M, Aitken JD, Carvalho FA, Cullender TC, Mwangi S, Srinivasan S, et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking toll-like receptor 5. *Science*. 2010;328:228–31.
158. Garcia-Mazcorro JF, Suchodolski JS, Jones KR, Clark-Price SC, Dowd SE, Minamoto Y, et al. Effect of the proton pump inhibitor omeprazole on the gastrointestinal bacterial microbiota of healthy dogs. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;80:624–36.
159. Alzahrani S, Lina TT, Gonzalez J, Pinchuk IV, Beswick EJ, Reyes VE. Effect of *Helicobacter pylori* on gastric epithelial cells. *World J Gastroenterol*. 2014;20:12767–80.
160. Aviles-Jimenez F, Vazquez-Jimenez F, Medrano-Guzman R, Mantilla A, Torres J. Stomach microbiota composition varies between patients with non-atrophic gastritis and patients with intestinal type of gastric cancer. *Sci Rep*. 2014;4:4202.
161. Krüttgen A, Horz HP, Weber-Heynemann J, Vucur M, Trautwein C, Haase G, et al. Study on the association of *Helicobacter* species with viral hepatitis-induced hepatocellular carcinoma. *Gut Microbes*. 2012;3:228–33.
162. Rossi M, Hänninen ML. *Helicobacter* spp other than *H. pylori*. *Helicobacter*. 2013;17:56–61.
163. Logan RPH, Walker MM, Misiewicz JJ, Gummell PA, Karim QN, Baron JH. Changes in the intragastric distribution of *Helicobacter pylori* during treatment with omeprazole. *Gut*. 1995;36:12–6.
164. Hayes KS, Bancroft AJ, Goldrick M, Portsmouth C, Roberts IS, Grincis RK. Exploitation of the intestinal microflora by the parasitic nematode *Trichuris muris*. *Science*. 2010;328:1391–4.
165. Benson A, Pifer R, Behrendt CL, Hooper LV, Yarovinsky F. Gut commensal bacteria direct a protective immune response against the human pathogen *Toxoplasma gondii*. *Cell Host Microbe*. 2009;6:187–96.
166. Reynolds LA, Smith KA, Filbey KJ, Harcus Y, Hewitson JP, Redpath SA, et al. Commensal-pathogen interactions in the intestinal tract: *Lactobacilli* promote infection with, and are promoted by, helminth parasites. *Gut Microbes*. 2014;5:522–32.
167. De Theije CGM, Wopereis H, Ramadan M, van Eijndthoven T, Lambert J, Knol J, et al. Altered gut microbiota and activity in a murine model of autism spectrum disorders. *Brain Behav Immun*. 2014;37:197–206.
168. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, et al. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated with neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2013;155:1451–63.
169. Ichinohe T, Pang IK, Kumamoto Y, Peaper DR, Ho JH, Murray TS, et al. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108:5354–9.
170. Peterson J, Garges S, Giovanni M, McInnes P, Wang L, Schloss JA, et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res*. 2009;19:2317–23.
171. Méchnikoff E. Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. En: Méchnikoff E (Chalmers Mitchell P, ed.). The prolongation of life: optimistic studies. The English Translation. G.P. Putnam's sons, New York & London. The Knickerbocker Press; 1908. p. 161–183.
172. Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J Nutr*. 1995;125:1401–12.
173. FAO/WHO. Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002. FAO/WHO, London, ON.
174. Blatchford P, Ansell J, de Godoy MRC, Fahey G, Garcia-Mazcorro JF, Gibson GR, et al. Prebiotic mechanisms, functions and applications—a review. *Int J Probiotics Prebiotics*. 2013;8:109–32.
175. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. 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;11:506–14.
176. Mohan R, Koebnick C, Schildt J, Schmidt S, Mueller M, Possner M, et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on intestinal microbiota of preterm infants: A double-blind, placebo-controlled, randomized study. *J Clin Microbiol*. 2006;44:4025–31.
177. Ogier JC, Serror P. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiol*. 2008;126:291–301.
178. Reid G. The scientific basis for probiotic strains of *Lactobacillus*. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65:3763–6.
179. Venturi A, Gionchetti P, Rizzello F, Johansson R, Zucconi E, Brigidi P, et al. Impact on the composition of the faecal flora by a new probiotic preparation: Preliminary data on maintenance treatment of patients with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 1999;13:1103–8.
180. Gronbach K, Eberle U, Müller M, Ölschläger TA, Dobrindt U, Leithäuser F, et al. Safety of probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 depends on intestinal microbiota and adaptive immunity of the host. *Infect Immun*. 2010;78:3036–46.
181. Czerucka D, Piche T, Rampal P. Review article: Yeast as probiotics—*Saccharomyces boulardii*. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;26:767–78.
182. Van Immerseel F, Ducatelle R, de Vos M, Boon N, van De Wiele T, Verbeke K, et al. Butyric acid-producing anaerobic bacteria as a novel probiotic treatment approach for inflammatory bowel disease. *J Med Microbiol*. 2010;59:141–3.
183. Drago L, Rodighiero V, Celeste T, Rovetto L, de Vecchi E. Microbiological evaluation of commercial probiotic products available in the USA in 2009. *J Chemother*. 2010;22:373–7.
184. Ligaarden SC, Axelsson L, Naterstad K, Lydersen S, Farup PG. A candidate probiotic with unfavourable effects in subjects with irritable bowel syndrome: A randomised controlled trial. *BMC Gastroenterol*. 2010;10:16.
185. Chapman CMC, Gibson GR, Rowland I. Health benefits of probiotics: Are mixtures more effective than single strains? *Eur J Nutr*. 2011;50:1–7.
186. Timmerman HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC. Monostrain, multistain and multispecies probiotics—A comparison of functionality and efficacy. *Int J Food Microbiol*. 2004;96:219–33.
187. Rinkinen M, Westermarck E, Salminen S, Ouwehand AC. Absence of host specificity for *in vitro* adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus. *Vet Microbiol*. 2003;97:55–61.
188. Brandt LJ, Aroniadis OC. An overview of fecal microbiota transplantation: Techniques, indications, and outcomes. *Gastrointest Endosc*. 2013;78:240–9.
189. Hamilton MJ, Weingarten AR, Sadowsky MJ, Khoruts A. Standardized frozen preparation for transplantation of fecal microbiota for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Am J Gastroenterol*. 2012;107:761–7.
190. Aroniadis OC, Brandt LJ. Intestinal microbiota and the efficacy of fecal microbiota transplantation in gastrointestinal disease. *Gastroenterol Hepatol*. 2014;10:230–7.
191. Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: Faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;36:503–16.
192. Sha S, Liang J, Chen M, Xu B, Liang C, Wu K. Systematic review: Faecal microbiota transplantation therapy for digestive and

- nondigestive disorders in adults and children. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014;39:1003–32.
193. Seekatz AM, Aas J, Gessert CE, Rubin TA, Saman DM, Bakken JS, et al. Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation. *mBio.* 2015;5:e00893–914.
194. Hamilton MJ, Weingarden AR, Unno T, Khoruts A, Sadowsky MJ. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. *Gut Microbes.* 2013;4:125–35.
195. Marroquin-Cardona AG, Johnson NM, Phillips TD, Hayes AW. Mycotoxins in a changing global environment—a review. *Food Chem Toxicol.* 2014;69:220–30.
196. Phillips TD. Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. *Toxicol Sci.* 1999;52:118–26.
197. Guarino A, Bisceglia M, Castellucci G, Iacono G, Gobio-Casali L, Bruzzese E, et al. Smectite in the treatment of acute diarrhea: A nationwide randomized controlled study of the Italian Society of Pediatric Gastroenterology and Hepatology (SIGEP) in collaboration with primary care pediatricians. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2001;32:71–5.
198. Dupont C, Kok-Foo JL, Garnier P, Moore N, Mathiex-Fortunet H, Salazar-Lindo E. Oral diosmectite reduces stool output and diarrhea duration in children with acute watery diarrhea. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2009;7:456–62.
199. González R, Sanchez de Medina F, Martinez-Augustin O, Nieto A, Galvez J, Risco S, et al. Anti-inflammatory effect of diosmectite in hapten-induced colitis in the rat. *Br J Pharmacol.* 2004;141:951–60.
200. Williams LB, Haydel SE. Evaluation of the medicinal use of clay minerals as antibacterial agents. *Int Geol Rev.* 2010;52:745–70.
201. Zychowski KE, Elmore SE, Rychlik KA, Ly HJ, Pierzan F, Pierzan F, et al. Mitigation of colitis with NovaSil clay therapy. *Dig Dis Sci.* 2014;60:382–92.
202. Xia MS, Hu CH, Xu ZR. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Sci.* 2004;83:1868–75.
203. Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett.* 2009;294:1–8.
204. Cato EP, Salmon CW, Moore WEC. *Fusobacterium prausnitzii* (Hauduroy et al.) Moore and Holdeman: Emended description and designation of neotype strain. *Int J Syst Bacteriol.* 1974;24:225–9.
205. Moore WEC, Holdeman LV. New names and combinations in the genera *Bacteroides* Castellani and Chalmers, *Fusobacterium* Knorr, *Eubacterium* Prevot, *Propionibacterium* Delwiche, and *Lactobacillus* Orla-Jensen. *Int J Syst Bacteriol.* 1973;23:69–74.
206. Wang RF, Cao WW, Cerniglia CE. Phylogenetic analysis of *Fusobacterium prausnitzii* based upon the 16S rRNA gene sequence and PCR confirmation. *Int J Syst Bacteriol.* 1996;46:341–3.
207. Duncan SH, Hold GL, Harmsen HJ, Stewart CS, Flint HJ. Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2002;52:2141–6.
208. McCormick DA, Horton LW, Mee AS. Mucin depletion in inflammatory bowel disease. *J Clin Pathol.* 1990;43:143–6.
209. Derrien M, Vaughan EE, Plugge CM, de Vos WM. *Akkermansia muciniphila* gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2004;54:1469–76.
210. Derrien M, Collado MC, Ben-Amor K, Salminen S, de Vos WM. The mucin degrader *Akkermansia muciniphila* is an abundant resident of the human intestinal tract. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74:1646–8.