



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Efectos de la nutrición en el desarrollo de la microbiota intestinal en la infancia

Paola Elizabeth Quishpe Riera

Grau de Bioquímica

Any acadèmic 2017-18

Treball tutelat per Dra. Juana Sánchez Roig
Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
		x		x

Paraules clau del treball:
Microbiota intestinal, infante, dieta, lactancia, prebióticos.

INDICE

ABSTRACT	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. OBJETIVOS	6
3. MATERIALES Y MÉTODOS	6
3.1. Estrategias de búsqueda	6
3.2. Selección de artículos	8
4. DESARROLLO	9
4.1. Comunidad microbiana en el tracto gastrointestinal	9
4.2. Desarrollo de la microbiota intestinal	10
4.2.1. Etapa prenatal	10
4.2.2. Etapa Postnatal	12
4.3. Factores no nutricionales implicados en el desarrollo de la microbiota infantil	13
4.3.1. Microbiota materna	13
4.3.2. Edad gestacional	13
4.3.3. Tipo de parto	14
4.3.4. Antibióticos	15
4.3.5. Otros factores	15
4.4. Factores nutricionales y sus efectos en el desarrollo de la microbiota intestinal infantil	15
4.4.1. Leche materna	16
4.4.2. Introducción de alimentos sólidos	21
4.4.3. Estrategias dietéticas: prebióticos y probióticos	24
4.5. Implicaciones de la microbiota en la salud infantil	25
5. CONCLUSIONES	27
6. AGRADECIMIENTOS	28
7. REFERENCIAS	29

ABSTRACT

Neonatal period is crucial for establishment of intestinal microbiota, and its composition, in the first years of the infant's life, is influenced by such factors as mode of delivery, environment, diet and others, which is important in development of the gastrointestinal tract and immune system of the infant. This work aims to present and analyse the effects of diet on the development of microbiota during infancy.

Diet has a substantial impact in shaping the composition and activity of intestinal microbiota, affecting the future health of new-borns. Infant nutrition can influence the microbial profiles acquired by infants and may have lifelong consequences through microbial modulation of immune system. Understanding the effects of diet on the gut microbiota could promote the development of prebiotic and probiotic, and functional foods strategies for the future programming of this microbiota.

RESUMEN

El período neonatal es crucial para el establecimiento de la microbiota intestinal, y su composición, en los primeros años de vida, está influenciada por factores tales como el tipo de parto, el medio ambiente, la dieta, entre otros, la cual tiene importante en el desarrollo del tracto gastrointestinal y el sistema inmunitario del infante. Este trabajo tiene como objetivo presentar y analizar los efectos de la dieta que afectan al desarrollo de la microbiota durante los primeros años de la vida.

La dieta tiene un impacto sustancial en la conformación de la composición y actividad de la microbiota intestinal, afectando la salud futura del neonato. La nutrición infantil puede influir en los perfiles microbianos que adquiere el infante pudiendo tener consecuencias de por vida a través de la modulación microbiana del sistema inmune. La comprensión de los efectos de la dieta en la microbiota intestinal podría promover el desarrollo de estrategias prebióticas y probióticas y alimentos funcionales para la programación futura de esta microbiota.

1. INTRODUCCIÓN

Los seres humanos son organismos complejos capaces de autorregularse, nutrirse y reproducirse. Tradicionalmente, se han considerado como una entidad independiente, pero gracias al Proyecto del Genoma Humano y Proyecto del Microbioma Humano, emerge la visión de considerar a los humanos como 'supra-organismos', una especie de "híbrido humano-microbio", ya que albergan tanto en sus superficies externas como internas un gran número de microorganismos, conocidos como microbiota o microflora normal, estableciendo una simbiosis ^[1].

La microbiota humana comprende principalmente bacterias; no obstante, virus, hongos, protozoos, archaeas, también se incluyen. Nuestra microbiota contiene hasta 100 billones de células bacterianas, diez veces más que el número de células somáticas y germinales que constituyen el cuerpo humano y codifican 100 veces más genes que nuestro propio genoma ^[2]. Estos microorganismos están distribuidos principalmente en la piel, y en superficies mucosas como la boca y el intestino. Estas ubicaciones anatómicas les proporcionan las condiciones adecuadas para su crecimiento y proliferación. La mayoría de las bacterias comensales son simbióticas y el tipo de bacteria depende fundamentalmente de donde se encuentren anatómicamente ^[3,4].

La piel, considerado el mayor órgano humano, y la cavidad oral son ecosistemas que albergan un gran número de especies bacterianas (1×10^{11} y 1×10^{12} respectivamente), que interactúan con otros microorganismos y células humanas protegiendo al cuerpo contra las condiciones ambientales extremas, agentes químicos y patógenos, aunque la parte del cuerpo humano donde reside el mayor número de células bacterianas es el tracto gastrointestinal, concretamente el intestino ^[5,6].

La microbiota intestinal humana es muy compleja, diversa y dinámica, y mantiene una relación simbiótica con el huésped. Esta microbiota varía a lo largo del desarrollo de un individuo, siendo estable y madura en adultos sanos, pero en las etapas iniciales de la infancia sufre una serie de sucesiones y remplazos bacterianos, hasta alcanzar un patrón de microbiota adulta más compleja y estable ^[3,4,7]. La primera infancia parece representar una ventana de edad crucial en la colonización intestinal para la prevención de enfermedades, ya que es cuando se produce la diversificación y maduración de la microbiota ^[7]. Esta microbiota comensal juega un papel importante en el desarrollo del huésped/infante, ya que suministran energía mediante la metabolización de compuestos no digeribles, síntesis de nutrientes esenciales y protección frente a patógenos oportunistas ^[8].

Por otra parte, numerosas evidencias científicas han revelado que perturbaciones en la composición microbiana (disbiosis) y una diversidad reducida pueden promover la susceptibilidad y la recurrencia de diferentes enfermedades, incluyendo la obesidad, la enfermedad inflamatoria del intestino, el síndrome del intestino irritable y alergias ^[8]. Por lo que una mejor comprensión de los procesos de

colonización y desarrollo de la microbiota intestinal son cruciales para prevenir estas enfermedades y desarrollar nuevas estrategias tanto alimentarias como de estilo de vida para controlar y regular el desarrollo de una microbiota beneficiosa.

2. OBJETIVOS

Este Trabajo de Fin de Grado tiene como objetivo general realizar una revisión bibliográfica de los efectos principales de compuestos bioactivos y funcionales de la dieta en la colonización y desarrollo de la microbiota intestinal en la infancia, centrándose sobre todo en la etapa de lactancia y la posterior introducción de alimentos sólidos. Concretamente, antes de todo, se realizará una búsqueda y recopilación bibliográfica para proporcionar una visión general sobre: la composición de la microbiota intestinal de neonatos en etapas iniciales del desarrollo, factores que pueden afectar la adquisición de esta microbiota y su papel o implicaciones en la salud, ya que se ha visto que está relacionada con una gran variedad de enfermedades metabólicas, autoinmunes y alérgicas, debido a que modulan diferentes procesos celulares y metabólicos del organismo. Finalmente se procederá a analizar los efectos que pueden tener las diferentes estrategias alimentarias en la composición y diversidad de la microbiota intestinal de los neonatos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Estrategias de búsqueda

La búsqueda bibliográfica del trabajo se llevó a cabo utilizando principalmente dos bases de datos on-line: PubMed/ MEDLINE (Bethesda, MD, EEUU) y ScienceDirect/Elsevier (Ámsterdam, Países Bajos), con el fin de buscar y recopilar artículos científicos de revisión o investigación que ayuden a cumplir los objetivos marcados en este trabajo. PubMed es una base de datos gratuita que comprende más de 28 millones de citas de literatura biomédica de MEDLINE, revistas de ciencias de la vida y libros en línea, desarrollada por el Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI), de la Biblioteca Nacional de Medicina (NLM) de los Estados Unidos ^[9]. ScienceDirect, es una base de datos de la editorial Elsevier que alberga artículos científicos de más de 3.800 revistas y 37.000 libros electrónicos ^[10].

Para la selección de los artículos, primero se realizó una búsqueda general en las bases de datos y de esta manera tener una idea de la situación actual del tema del trabajo (Figura 1). A continuación, se fue acotando cada vez la búsqueda para ir seleccionando artículos de mayor utilidad, con las palabras

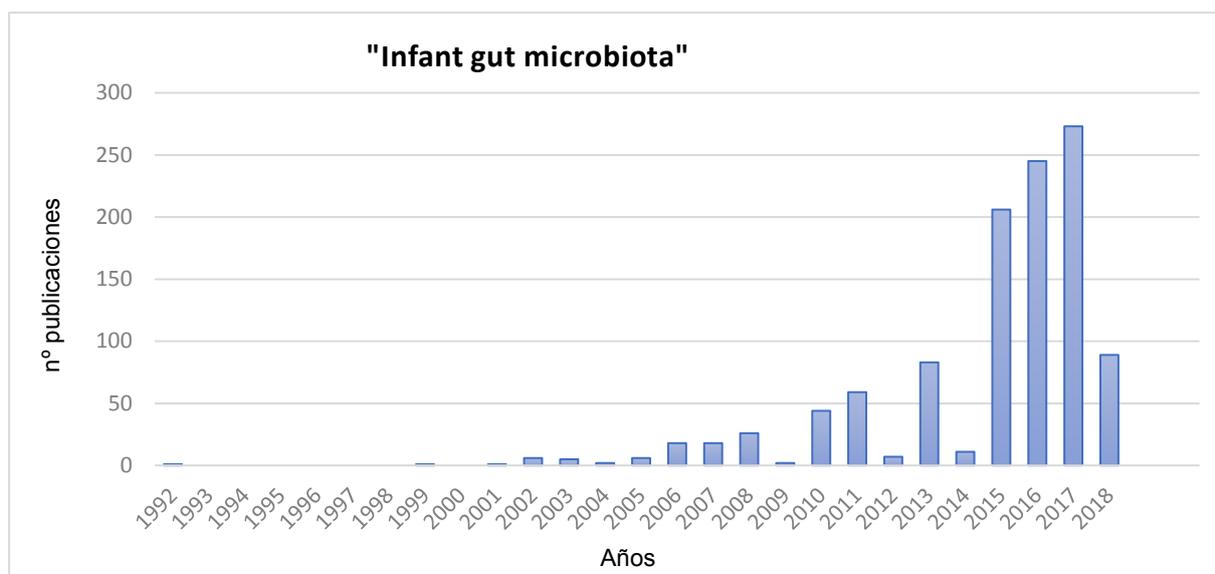


Figura 1. **Artículos registrados en PubMed por año, desde el 1992 hasta el 2018.** En la gráfica se representa el número de artículos que se han registrado por año en la base de datos PubMed para la búsqueda "Infant gut microbiota". Se puede apreciar una clara subida del número de publicaciones en los últimos 4 años, que es considerablemente superior respecto a años anteriores al 2010, cuadruplicando el promedio de los años comprendidos del 2005 al 2010 y triplicando a los promedios de 2010 a 2014.

clave (en inglés), como microbiota intestinal, microbiota intestinal infantil, microbiota intestinal temprana, microbiota intestinal infantil y nutrición y efectos de la nutrición en el desarrollo de la microbiota intestinal infantil (Tabla 1). Seguidamente la estrategia aplicada para ir acotando cada vez la búsqueda es aplicar "filtros" como el tipo de artículo (*review*) y el año de publicación (últimos 15 años).

Por otro lado, hay que destacar que la bibliografía se almacena en el programa para la gestión de referencias bibliográficas Mendeley, que ha resultado muy útil a la hora de guardar referencias y organizar la bibliografía.

Palabras clave	Artículos PubMed/ MEDLINE	Artículos ScienceDirect/Elsevier
Gut microbiota	18335	22462
Gut microbiota (últimos 15 años)	18121	21729
Gut microbiota <i>review</i> (15 últimos años)	5488	4328
Gut microbiota development <i>review</i> (15 últimos años)	2010	1
Infant gut microbiota (últimos 15 años)	1261	4003
Infant gut microbiota <i>review</i> (últimos 15 años)	370	1084
Infant gut microbiota development (últimos 15 años)	661	2
Infant gut microbiota development <i>review</i> (últimos 15 años)	233	0
Gut microbiota AND early life	750	8221
Gut microbiota AND early life (últimos 15 años)	745	7925
Gut microbiota AND early life <i>review</i> (últimos 15 años)	261	2434
Infant gut microbiota AND early life (últimos 15 años)	280	0
Infant gut microbiota AND early life <i>review</i> (últimos 15 años)	101	0
Infant gut microbiota AND nutrition (últimos 15 años)	361	2407
Infant gut microbiota AND nutrition <i>review</i> (últimos 15 años)	132	674
Efects nutrition infant gut microbiota development (últimos 15 años)	149	0
Efects nutrition infant gut microbiota development <i>review</i> (últimos 15 años)	55	0

Tabla 1. **Palabras clave en la búsqueda de información en las bases de datos.** Se indica el número de artículos que se obtuvo en PubMed en el momento de la búsqueda y que han servido para la elaboración del trabajo; en la base de datos ScienceDirect se utilizaron las mismas palabras clave.

3.2. Selección de artículos.

Los resultados obtenidos de la búsqueda bibliográfica se desarrollan a lo largo de este apartado. Como se puede ver en la Gráfica 1, los artículos publicados relacionados con la microbiota intestinal infantil aumentan en los últimos 4 años, siendo más de la mitad del total de estudios registrados en PubMed, esto nos da una idea del reciente y gran interés de las implicaciones de la microbiota intestinal infantil.

Atendiendo a la gran cantidad de artículos obtenidos mediante las búsquedas realizadas en las bases de datos mediante palabras clave (Tabla 1), es necesario seleccionar aquellos artículos que se consideren importantes y que resulten de utilidad para el presente trabajo. Como estrategia de selección es necesario aplicar diferentes criterios de selección: aquellos cuyo título se ajusta más a la búsqueda y a los intereses del trabajo y a continuación aquellos 'abstract' que se consideren útiles.

Cabe decir también que dentro de las 'reviews' se encontraron referencias útiles sobre artículos experimentales que también han contribuido al trabajo. Además, gracias a la herramienta de PubMed, que sugiere artículos por similitud, he podido acceder a varios artículos de la misma temática para poder desarrollar y comprender mejor los puntos.

Gracias a este procedimiento de búsqueda y selección se consiguieron un total de 145 artículos, de los cuáles 63 de ellos fueron útiles para extraer la información que se ve reflejada en este trabajo, los restantes se descartaron al tener un contenido bastante similar a otros artículos empleados.

4. DESARROLLO

4.1. Comunidad microbiana en el tracto gastrointestinal

La microbiota intestinal es un ecosistema complejo y dinámico que alberga más de 1000 especies con aproximadamente 700 cepas. La distribución microbiana varía a lo largo del tracto gastrointestinal, y su diversidad y concentración aumenta desde el estómago hasta el colon ^[2]. El estómago y el yeyuno albergan aproximadamente 1×10^7 bacterias. Sin embargo, la densidad bacteriana aumenta en el intestino delgado distal (1×10^8 - 1×10^9), y en el intestino grueso aumenta a 1×10^{14} bacterias por gramo de contenido colónico, lo que contribuye al 60% de la masa fecal ^[5].

La microbiota intestinal incluye tanto especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal como una serie variable de microorganismos que solo lo hacen de manera transitoria ^[2]. Los dos principales filos (*phyla*) bacterianos predominantes en el intestino son los *Firmicutes* (representado principalmente por los géneros *Clostridium*, *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Ruminococcus* y *Lactobacillus*) y los *Bacteroidetes* (*Bacteroides* y *Prevotella*). Otros filos como *Actinobacteria* (*Bifidobacterium*), *Proteobacteria* (*Gamma*proteobacteria y *Enterobacteriaceae*) o *Verrucomicrobia* (*Akkermansia*) están presentes pero en un número relativamente menor ^[2,3]. A su vez, las proporciones relativas de cada uno de estos taxones varían entre individuos e incluso en el mismo individuo a lo largo de su vida ^[2].

En general estos taxones están implicados en el establecimiento de esta relación mutualista con el huésped puesto que una microbiota sana y estable cumple con diferentes funciones útiles para el individuo. La adquisición de una microbiota saludable es esencial para nuestra fisiología y metabolismo. Además, ejerce de barrera de protección contra patógenos y está implicada en el desarrollo del sistema inmune del huésped ^[4,11].

4.2. Desarrollo de la microbiota intestinal

4.2.1. Etapa prenatal

Tradicionalmente, gracias a los estudios pioneros de H. Tiesser, se ha considerado que el entorno intrauterino y el tracto gastrointestinal del recién nacido son estériles hasta el momento del parto ^[12,13], momento en el que adquieren su primer inóculo bacteriano por microorganismos que residen en el canal de parto, debido a la contaminación cruzada con bacterias fecales y vaginales maternas durante el nacimiento ^[3,12]. Sin embargo, estudios recientes han detectado bacterias presentes en la sangre del cordón umbilical, el líquido amniótico, membranas fetales y placenta en embarazos a término saludables después del parto vaginal o cesárea, desafiando esta creencia ^[4,13,14]. Además, gracias a diferentes análisis, se han detectado microorganismos en el meconio y el líquido amniótico considerados estériles en condiciones normales, y se ha podido demostrar experimentalmente la transmisión bacteriana de la madre al feto en modelos murinos ^[13,15].

Estudios realizados por Gosalbes caracterizaron molecularmente la microbiota del meconio en recién nacidos a término y han establecido la presencia de bacterias vivas en el meconio ^[16]. El meconio es la primera secreción intestinal del recién nacido, y representa el material ingerido (líquido amniótico, células epiteliales y moco) que se encuentran en el tracto gastrointestinal del feto, y no es estéril como comúnmente se creía, sino que parece que alberga una microbiota representada por la familia *Enterobacteriaceae* (como *Escherichia coli*) y bacterias del *phylum Firmicutes* (como *Enterococcus faecium* y *Staphylococcus epidermidis*) ^[3,4,15,16]. Estas comunidades bacterianas difieren de la microbiota de las heces, vagina o de la piel de la madre gestante, pero sí presentan una similitud con la microbiota del líquido amniótico, lo que sugiere que la colonización del meconio se origina en el útero de la madre y podría ser producto de la translocación de bacterias intestinales maternas a través del torrente sanguíneo al tracto gastrointestinal fetal ^[4,16].

Por otro lado, otro estudio, liderado por Jiménez ^[13], también sugirió que puede existir una translocación de bacterias comensales prenatales de la madre al feto. Para ello se investigó en primer lugar si el meconio era estéril o si, por el contrario, contenía bacterias. En segundo lugar si la administración oral una cepa bacteriana (*Enterococcus fecium*) previamente marcada, a ratones gestantes puede conducir a su presencia en el meconio fetal ^[13]. De las muestras de meconio de 21 recién nacidos sanos por parto vaginal o por cesárea se identificaron dos géneros predominantes *Enterococcus* (*Enterococcus. faecalis*) y *Staphylococcus* (*Staphylococcus epidermidis*). Y el tercer grupo predominante fue *Escherichia coli* y *Enterobacter spp.*. Por otro lado, se observó que la administración oral de esta cepa a ratones preñados condujo a su presencia en el meconio, debido a que las bacterias del tracto digestivo pueden alcanzar el líquido amniótico a través del torrente sanguíneo ^[13,17]. De esta manera se explica que al contrario de lo que se tradicionalmente se pensaba, el meconio no puede ser estéril, que las bacterias pueden aislarse del meconio del recién

nacido y que estas podrían estar asociadas con la microbiota de la boca y/o intestino de la madre, sugiriendo la existencia de una ruta interna para el transporte de bacterias maternas al tracto intestinal fetal. Dicha ruta procedería a través del torrente sanguíneo a la placenta, desde donde las bacterias podrían transferirse a la circulación fetal o al líquido amniótico ^[15,18]. Por consiguiente, todas estas investigaciones proporcionan una evidencia clara de la transmisión microbiana materna en mamíferos ^[13,17,18] (Figura 2).

Además, diversos estudios han correlacionado las infecciones intrauterinas con el parto prematuro debido a la cascada proinflamatoria dentro del compartimento gestacional. Estas infecciones intrauterinas y estados inflamatorios durante el embarazo pueden ser perjudiciales para el desarrollo fetal y postnatal, siendo un factor de riesgo para enfermedades como la enterocolitis necrosante neonatal asociadas con la inmadurez intestinal y la colonización bacteriana ^[12,19]. Estos hechos aportan más evidencia que el útero no es estéril y que la transferencia de la microbiota temprana al feto es importante en el desarrollo del sistema inmunitario y, por tanto, tener consecuencias relevantes para la salud infantil.

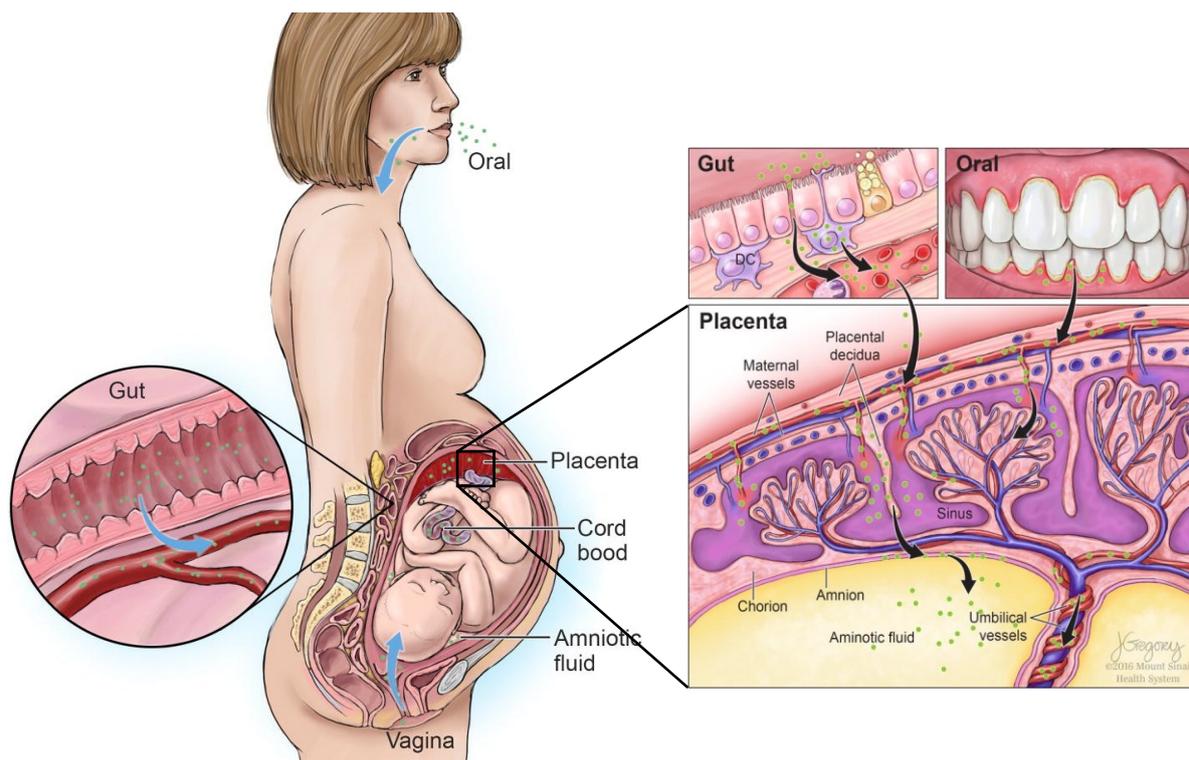


Figura 2. Mecanismo de transferencia materno-fetal de la microbiota intestinal durante el embarazo. La permeabilidad del epitelio intestinal hace posible la translocación de la microbiota a la circulación sanguínea, que posteriormente se transfiere del útero de la madre al feto mediante los vasos sanguíneos de la placenta, modificado de ^[15].

4.2.2. Etapa Postnatal

El ambiente posnatal implica una diversidad amplia de bacterias que pueden colonizar al recién nacido, reflejándose una gran diversidad intrapersonal e interpersonal en la composición de la microbiota intestinal durante el primer año de vida ^[20]. En las etapas iniciales de colonización, la microbiota es inestable y está sometida a varias fases de sucesión microbiana durante la vida.

Después del nacimiento, en los primeros días, el intestino del neonato es rápidamente colonizado por una serie de bacterias. Este rápido proceso de colonización microbiana está influida por diversos factores, entre los cuales se incluyen la edad gestacional, el tipo de parto, la dieta (leche materna vs. fórmula), el uso de antibióticos perinatales, entre otros ^[21,22]. Durante esta etapa la microbiota intestinal está colonizada transitoriamente por anaerobios facultativos, tales como *E. coli* y otros miembros pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* y *Staphylococcus* ^[4,22], creando un nuevo ambiente que promueve la posterior colonización de anaerobios estrictos como *Bacteroides*, *Clostridium* y *Bifidobacterium* en las etapas posteriores al nacimiento ^[3,21].

En los primeros días al introducir la leche materna, el intestino del neonato es colonizado por *Bifidobacterium* y algunas bacterias de ácido láctico ^[3,4,22]. Los microorganismos de la familia *Bifidobacterium*, llamada "flora Bifidus", se mantiene hasta la introducción de alimentos sólidos ^[4]. Una vez ha finalizado la lactancia, con la introducción de alimentos sólidos, la flora Bifidus es sustituida principalmente por bacterias de los géneros *Bacteroides*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, *Clostridium* y *Veillonella* que colonizan el intestino del neonato ^[4,21].

A partir del primer año de vida, el perfil microbiano es individualmente característico del bebé y empieza a aumentar tanto a nivel de complejidad, diversidad y funcionalidad, convergiéndose cada vez más hacia una microbiota similar a la de un adulto ^[23]. Aproximadamente entre los 2 y 3 años de edad (infancia temprana), y después del cese de la lactancia, la composición de la microbiota intestinal que se establece es casi completamente similar a la de un adulto. De modo que, durante los primeros 3 años su composición depende en gran parte de la alimentación complementaria. Así pues, a los 3 años de vida, el perfil microbiano intestinal del bebé empieza a convertirse en un sistema estable representado principalmente por los phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, y en menores tasas por, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia* ^[22,23]. Por lo tanto, este periodo es decisivo para el establecimiento de una microbiota intestinal saludable ya que el 60-70 % de estas bacterias intestinales permanecen inalteradas durante el transcurso de la vida ^[22].

Los períodos neonatal y de la infancia temprana son críticos para cualquier intervención dietética ya que esta microbiota establecida es vital para el crecimiento y el desarrollo infantil y cualquier alteración de la microbiota en etapas tempranas del infante puede afectar profundamente su salud y desarrollo ^[21-23].

4.3. Factores no nutricionales implicados en el desarrollo de la microbiota infantil

Como se ha comentado, el desarrollo de la microbiota intestinal es un proceso complejo y dinámico que se inicia en el útero y continúa desarrollándose hasta los 2-3 años de edad en que se estabiliza y se asemeja a la de un adulto ^[2]. Existen varios factores que influyen en el desarrollo de la microbiota intestinal infantil, entre los cuales se destacan: los factores prenatales mencionados en el punto anterior, la genética del huésped, factores perinatales como la edad gestacional y el tipo de parto, factores postnatales como el tipo de dieta, el uso de pre y probióticos, la administración de antibióticos e incluso factores ambientales como el estilo de vida y localización geográfica influyen en el proceso^[2,24]. A continuación, se desarrollarán los factores más importantes:

4.3.1. Microbiota materna

El periodo gestacional desencadena diversos cambios fisiológicos en todo organismo, cambios similares a los que ocurren en el síndrome metabólico. Además, cambios en la composición de la microbiota materna ^[3,25]. Estos cambios gestacionales alteran principalmente la microbiota gastrointestinal y vaginal de la madre, ambientes de gran importancia en la transmisión microbiana vertical de la madre al recién nacido durante el momento del parto ^[18,25].

La microbiota vaginal se caracteriza por la abundancia de *Lactobacillus* y otras especies como *pertenecientes* al orden *Clostridiales*, *Bacteriales* y *Actinomycetales*. Siendo más importante el género *Lactobacillus* (*Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* y *Lactobacillus iners*) ^[25,26]. Mientras que en la microbiota oral hay más bacterias del género *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Corynebacterium*, etc. Estas bacterias pertenecientes a estas microbiotas son los primeros colonizadores del intestino del neonato ^[3,25].

4.3.2. Edad gestacional

La edad gestacional es un factor importante que influye en gran medida en el posterior establecimiento de la microbiota intestinal del lactante, debido a la inmadurez de su sistema inmune. La composición de la microbiota intestinal de los bebés nacidos a término y de los bebés prematuros difieren de forma significativa ^[27,28]. Los bebés prematuros, al estar sometidos a una situación diferente que los bebés nacidos a término (hospitalización, exposición prolongada a antibióticos, nutrición parenteral), tienen como resultado un cambio en la composición de la microbiota intestinal^[3,27]. La microbiota de los bebés prematuros, presenta una baja diversidad bacteriana, además de un número elevado de bacterias patógenas como *Clostridium* o *Klebsiella pneumoniae* y una colonización tardía de especies beneficiosas como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, debido al retraso de la lactancia. Todas estas diferencias pueden tener implicaciones a largo plazo en la salud del recién nacido ^[3,28].

4.3.3. Tipo de parto

Uno de los principales factores que influye en la colonización del intestino del lactante es el tipo de parto. Diferentes estudios han sugerido que el tipo de parto tiene gran importancia en la colonización intestinal temprana pudiendo influir en la diversidad intestinal del neonato ^[4,18,24]. El tracto gastrointestinal de los bebés nacidos por vía vaginal es colonizado por comunidades bacterianas del tracto vaginal e intestinal de la madre, y tienen mayor diversidad microbiana que los bebés nacidos por cesárea, los cuales carecen de tal exposición, y su tracto gastrointestinal es principalmente colonizado por bacterias similares a la microbiota de la piel materna ^[2,24]. La diversidad microbiana en los neonatos nacidos por parto natural es notable sobre todo durante los primeros meses de vida, aunque después estas diferencias tienden a desaparecer ^[4,18]. Concretamente, los primeros colonizadores del intestino del recién nacido de forma natural son de origen materno, al exponerse a la microbiota vaginal, fecal y cutánea de la madre ^[21,24]. La microbiota del recién nacido después del parto, se asemeja a la flora vaginal, con *Lactobacillus*, *Prevotella* o *Sneathia* entre los géneros más abundantes durante los primeros días después del parto ^[4,18,27].

Estas bacterias disminuyen el potencial de oxidación, creando un ambiente anaeróbico favorable para el crecimiento de anaerobios estrictos como *Bacteroides*, *Bifidobacterium* spp. y *Clostridium* ^[18,26,27]. Este hábitat adecuado permite prosperar a estos anaerobios estrictos para que consuman oxígeno, alteren el pH, disminuyan el potencial redox y produzcan dióxido de carbono y nutrientes ^[18,29].

En contraste, la microbiota intestinal del recién nacido por cesárea es similar a la encontrada en la piel de la madre, dominada por *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*, y se caracteriza por un retraso en la colonización por *Bacteroides* (*Bacteroides fragilis*), *Bifidobacterium* (*Bifidobacterium* spp.) y *Lactobacillus* que puede persistir durante el primer año de vida ^[2,3]. No obstante, existe un aumento del número de *Clostridium difficile* ^[2,4].

Estas diferencias iniciales entre los diferentes tipos de parto parecen tener efectos a largo plazo en la salud infantil ^[2,29]. En la mayoría de los estudios, ponen de manifiesto que la presencia de *Bacteroides* spp. tiene un papel relevante en la maduración de la respuesta inmune ^[18]. Por lo que su reducción durante el primer año de vida podría ser la responsable del riesgo de desarrollar trastornos inmunes como asma, alergias y obesidad en bebés que nacen por cesárea. Esta bajada de diversidad causada por la cesárea puede durar hasta los dos años de edad, provocando un efecto de larga duración en la composición de la microbiota infantil y a su vez en la maduración de sistema inmune ^[18,29].

4.3.4. Antibióticos

La exposición a antibióticos en los primeros años de vida tiene un gran impacto tanto en contaje bacteriano total como en la diversidad de especies y depende del espectro del antibiótico, la dosis, la duración de la terapia y la vía de administración ^[18,30]. La administración de antibióticos, sobre todo en bebés pretérmino, provoca cambios en la composición de la microbiota intestinal, incrementando las *Proteobacteria* y reduciendo la abundancia de *Actinobacteria* (en especial *Bifidobacterium*), disminuyendo así la diversidad de la microbiota del lactante y convirtiendo a algunas especies en resistentes a su acción ^[3,30]. Así mismo, también puede causar un retraso en la maduración de la microbiota, debido a la reducción de especies bacterianas como por ejemplo, *Lachnospiraceae*, los cuales ejercen efectos en la maduración del sistema inmune intestinal ^[18,21,30]. En bebés prematuros, el uso de antibióticos es común y reduce significativamente la diversidad de especies aunque este cambio también puede estar influenciado por otros factores (hospitalización y tipo de parto)^[27]. Todas estas fluctuaciones son en gran parte transitorias, no obstante una exposición repetida durante el primer año de vida puede repercutir en una disminución de la diversidad de la microbiota intestinal hasta los tres años^[18,27].

4.3.5. Otros factores

Existen otros factores menos indagados que pueden afectar la microbiota intestinal. Entre estos factores se incluyen la diferencia entre la microbiota intestinal debido al entorno familiar, como puede ser entre hermanos, diferentes sexos, región geográfica y el tipo de alimentación, siendo este último comentado más adelante ^[3].

Todos estos factores comentados son de vital importancia en el patrón de colonización microbiana del infante, por lo que tienen implicaciones en la estabilización hacia una microbiota adulta.

4.4. Factores nutricionales y sus efectos en el desarrollo de la microbiota intestinal infantil

En los últimos años, se ha visto que diferentes estrategias en la nutrición durante las primeras etapas de la vida (desde la gestación hasta la etapa neonatal) son algunos mecanismos de programación más importantes en el desarrollo de la microbiota del infante ^[31]. La nutrición tiene un papel fundamental en las diversas funciones biológicas del organismo. Además, también interviene en la configuración de una microbiota determinada, según el tipo de alimentación que tiene cada individuo, y esta configuración es crucial y crítica en etapas tempranas del desarrollo por sus implicaciones en enfermedades metabólicas e inmunológicas ^[22,32].

A continuación, se discutirán las diferentes estrategias de alimentación que afectan tanto al desarrollo de la microbiota en neonatos como a la salud de estos.

4.4.1. Leche materna

La leche materna es un fluido biológico complejo, representa normalmente la primera exposición dietética después del nacimiento y se considera la mejor opción frente a la leche de fórmula para cubrir los requerimientos nutricionales para el crecimiento y desarrollo saludable del recién nacido [18,33]. Es por esto que se recomienda su administración al menos durante los primeros 6 meses de vida, seguidamente la lactancia puede continuarse con la introducción de alimentos sólidos y/o leche de fórmula, hasta un periodo aproximado de 1 o 2 años [31,34]. La alimentación con leche tiene tres funciones potenciales para los bebés: suministro de energía, modulación del sistema inmune, y desarrollo y maduración del sistema intestinal [34,35].

- **Aspectos nutricionales**

La leche humana tiene alrededor de 6.7 a 7.8 g/dL de lactosa que representa el mayor componente de los carbohidratos, 0.9 a 1.2 g/dL de proteínas, 3 a 3.6 g/dL de grasa, y altos niveles de minerales (sobre todo sodio, calcio, fosfato y zinc.) [36]. Debido a estos componentes y otros (compuestos bioactivos y probióticos), la leche es universalmente reconocida como la opción de alimentación más óptima para los niños y para permitir un crecimiento de mineralización ósea correcto [37].

El contenido energético de la leche oscila entre 65-70 kcal/dL, debido sobre todo a su contenido en grasas, con altas concentraciones de ácido oleico, palmítico y linoleico [36,38,39]. Del mismo modo, los ácidos grasos de cadena corta (SCFA, del inglés Short-Chain Fatty Acids) también son una fuente de energía y sus productos resultantes de la hidrólisis bacteriana se ha visto que causan un aumento de colonizadores bacterianos beneficiosos como de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium spp.* [40]. Por otro lado, los ácidos grasos de cadena media y sus respectivos monoglicéridos, inactivan una gran cantidad de patógenos como *Salmonella*, *Giardia lamblia*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus* del grupo B [41]. Esto apunta a que los lípidos ejercen de un papel protector contra las infecciones y podrían tener efectos en el establecimiento de la microbiota intestinal durante las primeras etapas de vida [40].

Toda esta composición de la leche materna varía según la hora del día, la etapa de lactancia, la dieta de la madre, entre otros factores. La leche materna se clasifica en calostro, leche de transición y

leche madura, esta clasificación solo hace referencia al contenido de la leche durante el proceso de lactancia^[4,38].

La primera leche humana que se produce se llama calostro, es la que produce la madre en los primeros días después del parto, es rica sobre todo en componentes inmunológicos, como la inmunoglobulina A (IgA) y leucocitos, factores de desarrollo específicos y una alta concentración de lactoferrina pero una baja cantidad de lactosa, potasio, calcio y grasa en comparación con la leche madura, lo cual indica que su función principal es la inmunológica más que la nutricional^[18,38,42]. Cabe destacar que en el calostro presenta un alto contenido de oligosacáridos de la leche humana (HMO, de sus siglas en inglés Human Milk Oligosaccharide) , siendo un prebiótico importante, aproximadamente el doble que el que contiene la leche madura, reafirmando así su función inmunológica. Adicionalmente, de sus funciones inmunológicas y nutricionales, el calostro también contiene muchos factores de crecimiento (EGF, TGF- β , etc) que una vez más se encuentran en concentraciones más altas^[38].

A partir de los 5 días hasta las 2 semanas de parto se produce una transición en la composición de la leche materna, llamada leche de transición, que a pesar de presentar algunas características propias del calostro, su función está más destinada a cubrir las necesidades nutricionales del recién nacido^[42]. Dos semanas después del nacimiento, la composición de la leche cambia, va madurando durante el proceso de lactancia, y se considera leche madura, contiene principalmente macronutrientes como proteínas, grasas y lactosa. Asimismo, presenta numerosos factores como la inmunoglobulina A (IgA) y inmunoglobulina G (IgG) que promueven el desarrollo inmune protegiendo así al recién nacido de la inflamación e infección, y los compuestos antimicrobianos como las lisozima, lactoferrina, citoquinas reguladoras como TGF- β e interleucina 10 (IL10) y linfocitos^[4,42]. Todas estas sustancias presentes en la leche materna permiten la colonización de bacterias en el tracto gastrointestinal. Por ejemplo, las citocinas como IL-10 y TGF- β presentes en la leche materna facilitan la tolerancia del sistema inmune del huésped a las bacterias intestinales^[4,38].

- **Aspectos biológicos**

Desde un punto biológico y funcional, la leche humana se caracteriza por un alto contenido en compuestos bioactivos, prebióticos y inmunomoduladores específicos como sIgA, caseínas, lactoferrinas , lisozimas, leucocitos y factores de crecimiento que no solo aseguran una defensa adecuada del huésped contra las infecciones, sino que también modulan activamente la respuesta inmune y modifican la flora bacteriana intestinal de los neonatos^[36,39]

De estos compuestos, cabe destacar la k-caseína y lisozimas las cuales inhiben el crecimiento en el intestino de *Helicobacter pylori* y *Clostridia spp.* respectivamente^[42,43]. También se ha relacionado a

la lisozima con un aumento de las comunidades microbianas beneficiosas como *Bifidobacteriaceae* y *Lactobacillaceae* ^[43]. Asimismo, otras proteínas de la leche como la lactoferrina, la lisozima y las inmunoglobulinas presentan importantes funciones antimicrobianas evitando también la unión de patógenos a la mucosa gástrica y a su vez facilitando el progresivo desarrollo de bacterias comensales ^[42,43].

Otro de los compuestos bioactivos principales en la leche humana es el oligosacárido de leche humana (HMO) que, actúa como un factor bioactivo implicados tanto en la protección intestinal y como nutriente para la microbiota gastrointestinal del infante. ^[36,38].

Los oligosacáridos de leche humana (HMO) son un componente importante de la leche materna y, constituye el tercer componente más abundante en concentración (10-15 g/L) después de la lactosa y los lípidos en la leche humana madura, siendo mucho más abundante en el calostro ^[32,44]. Los HMO son azúcares complejos (glucanos) de los cuales se han identificados hasta más de 200 moléculas distintas ^[45]. Los HMO no son digeribles por el recién nacido, son resistentes a la hidrólisis enzimática y pasan intactos hasta a través del estómago y el tracto gastrointestinal superior hasta que llegan al intestino grueso, y aunque no es nutritivo para el bebé, los HMO presentan una función protectora, protegen al neonato contra bacterias patógenas, gracias a que actúan como receptores solubles “señuelo”, impidiendo que estos patógenos puedan unirse a las superficie de las células epiteliales y causar infecciones ^[44]. Por ejemplo, bloquean la unión de *Campylobacter jejuni*, la causa más común de diarrea bacteriana en infantes ^[46]. Además, los HMO también ejercen un efecto prebiótico, estimulan el crecimiento y/ o colonización de una microbiota comensal beneficiosa ^[32,36], al ser una fuente de carbono (nutriente) para varias especies bacterianas que están presentes en el intestino grueso de los de los bebés alimentados con leche materna, como *Bifidobacterium* (*B. infantis*, *B. bifidum*, *B. breve* y *B. longum*), por ejemplo, *B. infantis* es una cepa experta en consumir HMO y algunas especies de bacteroides comunes en el tracto gastrointestinal infantil ^[36,47]. Esto sugiere que leche materna proporciona HMO, que asegura la presencia de estas bacterias comensales en el intestino, adaptando la microbiota intestinal hacia la transición a una dieta posterior, en la cual se empieza a introducir alimentos sólidos después del destete, momento en el cual se requieren de especies bacterianas como *Bacteroides* implicados en la degradación de la fibra alimentaria. Por tanto, los HMO de la leche materna ejerce un papel beneficioso tanto como un agente protector como en la modulación de la colonización bacteriana durante las primeras etapas de la vida infantil ^[45].

- **Microbiota de la leche humana**

Más allá de sus propiedades nutricionales, la leche humana contiene varias especies bacterianas que constituyen un inóculo natural para la colonización intestinal del neonato, aunque, tradicionalmente, la leche se ha considerada un fluido estéril ^[33].

La leche materna puede contener hasta más de 600 especies bacterianas diferentes y normalmente un lactante ingiere alrededor de 800mL de leche diarios proporcionando 10^3 a 10^4 UFC/mL, por lo que puede llegar a ingerir una cantidad 105 a 107 bacterias diarias, constituyendo una de las principales fuentes de bacterias para el intestino del lactante ^[4,33]. Cabe destacar que la microbiota que se encuentra en la leche materna influye directamente en la composición bacteriana del intestino de los lactantes. Por otro lado, como se ha comentado anteriormente, la leche contiene importantes cantidades de los HMO, que son hidrolizados por enzimas de la microbiota intestinal ejerciendo un efecto prebiótico, modulando la diversidad de esta microbiota intestinal ^[45,48].

El origen de las bacterias de la leche materna es poco conocido, pero se propone que la microbiota de la leche humana podría derivar de la piel de la madre, de la cavidad oral del bebe durante la succión mamaria o del intestino de la madre vía entero-mamaria. Incluso se sugiere que existen bacterias en el tejido mamario que podrían también ser un origen más a conocer ^[35].

La presencia de las bacterias en la leche materna se detectó mediante estudios de cultivo utilizando muestras frescas de madres sanas. Las bacterias que se detectaron mediante estas técnicas mayoritariamente pertenecen a los géneros de *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium spp.*, los cuales se transfieren generalmente de la madre al hijo a través de la leche materna ^[33,35].

En la últimas décadas, gracias a la aplicación de técnicas moleculares, sobre todo las basadas en los genes 16S rRNA, han permitido la confirmación de la presencia de esas bacterias, además de revelar la presencia de otras bacterias sobre todo Gram-negativas como *Serratia*, *Pseudomonas* y especies bacterianas de la cavidad oral como *Veillonella*, *Leptotrichia*, y *Prevotella* ^[40]. Esto sugiere que hay una transferencia de bacterias desde la leche materna al tracto gastrointestinal neonatal, lo cual se ha respaldado por estudios de cultivo donde se observa que la composición microbiana de la leche materna es similar a la encontrada en las heces de los neonatos ^[32].

Esta microbiota de la leche materna puede ser modulada por la influencia de muchos factores, entre los cuales están el período de lactancia, los hábitos dietéticos y el estado nutricional de la madre, el tipo de parto, la edad gestacional, la ubicación geográfica y el uso de antibióticos.

Al inicio de la lactancia, la microbiota de leche materna está representada por los géneros bacterianos como *Weissella*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Lactococcus spp.*. Más adelante, la microbiota de leche va adquiriendo altos niveles de *Veillonella*, *Prevotella*, *Leptotrichia*, *Lactobacillus*, *Streptococcus spp.* y concentraciones de *Bifidobacterium* y *Enterococcus spp.* ^[35]. Entre

los filotipos más abundantes en muestras de calostro y leche madura están los *Streptococcus*. También filotipos bacterianos de la piel como *Staphylococcus*, *Corynebacteria* y *Propionibacteria*, son comunes en la leche humana, esto implica que la piel también contribuye a modular la microbiota intestinal que adquiere el lactante ^[33].

De igual forma, la edad gestacional también modula esta composición microbiana de la leche materna. Se han observado que existen diferencias bacterianas, niveles bajos *Enterococcus spp.* y niveles alto de *Bifidobacterium spp.* en la leche de madres a término en comparación con las madres pretérmino. Otro factor importante es el tipo de parto, después del parto vaginal hay un incremento de la diversidad microbiana y altos niveles de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus spp.* en el calostro y la leche madura, en comparación con el parto por cesarí que no presenta el mismo perfil ^[48].

Incluso el estado fisiológico de la madre, como por ejemplo la obesidad, la enfermedad celiaca, o el estado positivo del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) puede generar cambios en la composición de la microbiota láctea ^[18].

- **Leche humana vs leche de formula**

Otra posibilidad de lactancia para el recién nacido es la leche de fórmula, influyendo de forma diferente en el desarrollo de la microbiota ^[3].

La microbiota de los neonatos alimentados con leche materna está dominada por elevadas tasas de *Bifidobacteria* y *Lactobacillus* (*Actinobacteria* y *Firmicutes*) y menores recuentos de *Bacteroides*, grupo *Clostridium coccoides*, *Staphylococcus* y *Enterobacteriaceae* en comparación con los lactantes alimentados con leche de fórmula ^[3,22]. La microbiota intestinal de los neonatos alimentados con leche de fórmula presenta mayores cantidades de *Bacteroides*, *Enterobacteriaceae*, incluyendo *Klebsiella*, *Atopobium* y *Clostridium* y niveles más bajos de *Bifidobacterium* ^[3,22]. No obstante la diferencia más significativa recae en las proporciones de *Bifidobacterium*, que son más abundantes en los lactantes amamantados en comparación con los lactantes alimentados con leche de fórmula ^[27,49].

Las diferencias en la composición microbiana intestinal entre lactantes amamantados y los alimentados con leche de formula se debe a la gran variedad de especies bacterianas que contiene la leche materna, como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroidetes*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Lactobacillus*, y *Bifidobacterium*, que pueden colonizar el intestino del lactante, además de oligosacáridos de la leche humana ^[22,27]. Los HMO presentan efectos prebióticos, promueven el crecimiento de grupos de bacterias específicos, como *Bifidobacterium* y *Bacteroidetes* en el intestino del infante ^[27]. Los *Bifidobacterium* son importantes para la protección frente a patógenos, modulando así la función inmune. Por tanto, la sinergia de todos los componentes de la leche materna proporciona a los neonatos amamantados una microbiota

intestinal mucho más estable en comparación con los que han sido alimentados con leche de fórmula^[26,49].

4.4.2. Introducción de alimentos sólidos

La transición desde una dieta basada en la leche materna a la introducción de alimentos sólidos expone a los bebés a una alimentación constituida principalmente por carbohidratos no digeribles, proteínas animales y grasas que suministran nuevos sustratos para la perduración y dominio de especies bacterianas que no son proporcionadas durante la lactancia ya sea por la leche materna y/o la leche de fórmula. De esta manera, la microbiota del infante progresa hacia una microbiota más adulta, ejerciendo efectos tanto en la nutrición como en la salud posterior del infante^[50].

El impacto de la transición hacia una microbiota más adulta no solo se ve influenciada por la inducción de alimentos sólidos sino también por la continuidad de la lactancia (leche materna y/o leche de fórmula) durante este proceso y finalmente el destete (cese de la lactancia materna)^[47]. Se ha observado que en bebés alimentados previamente con leche materna, la introducción de alimentos sólidos condujo a un incremento de especies bacterianas como *Eggerthella*, *Blautia*, *Neisseria*, *Peptostreptococaceae* y *Bacteroidetes* y posteriormente después del destete dio lugar a una abundancia de *Lactobacillus* y *Ruminococcaceae*. Por otro lado, los lactantes de leche de fórmula como aquellos que se alimentaban de manera mixta (leche materna + leche de fórmula) tuvieron aumentos importantes en *Actinobacteria*, en concreto de especies como *Bifidobacterium*, *Ruminococcaceae* y *Blautia* durante la introducción de sólidos, además presentaron mayores tasas de *Faecalibacterium*, *Eubacterium* y *Blautia* después del destete en comparación con los bebés que habían sido amamantados solo con leche materna. No obstante, la mayor diversidad de la microbiota intestinal aumenta después del destete y con la introducción de alimentos sólidos, debido a que la microbiota intestinal del bebé no adquiere su completa funcionalidad hasta que no deja de ser amamantado^[37,47].

La introducción de alimentos sólidos se ha relacionado concretamente con un incremento de la diversidad alfa, que implica un avance hacia una comunidad microbiana más compleja en el intestino del infante^[49]. Esto se ve reflejado por un incremento en los filos bacterianos como son Bacteroides (*Bacteroidetes*) y Firmicutes, específicamente especies (como *Clostridium leptum*, *Clostridium coccoides*, *Eubacterium halli* y *Roseburia*), filos productores de butirato y una disminución de *Bifidobacterias*, *Lactobacillus*, *Enterobacterias* y algunas especies de *Clostridium* como *C. difficile* y *C. perfringens*^[22,47,50].

A partir de los tres años de edad, la microbiota intestinal es más estable, incrementando en complejidad y encaminándose hacia una microbiota adulta. Básicamente esta microbiota intestinal está dominada por *Bacteroidetes*, *Firmicutes* y menores proporciones de *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Verrucomicrobia*. Este establecimiento es crucial debido a que aproximadamente el 70% de la composición de la microbiota no se alteran a lo largo de la vida ^[22].

Moviéndose más allá de todos los cambios composicionales de la microbiota intestinal asociados a la introducción de alimentos sólidos, también se producen cambios funcionales en el infante al estar expuesto a estos primeros sustratos metabólicos ^[47]. El intestino del infante adquiere genes funcionales, principalmente genes implicados en el metabolismo de carbohidratos y piruvatos, parecidos a los encontrados en el intestino adulto, lo que favorece a la obtención de energía para el infante a partir de estos sustratos.

Además, con la ingestión de alimentos sólidos también tiene lugar un incremento de especies bacterianas productoras de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y genes implicados en el metabolismo de aminoácidos, la biosíntesis de vitaminas y la degradación de xenobióticos ^[4,22,47]. Todos estos cambios inducidos por la dieta en la microbiota intestinal también pueden colaborar en el funcionamiento del metabolismo, sistema inmune, endocrino e influir en el balance energético y peso corporal de infante ^[37].

- **Metabolitos de la microbiota**

Toda esta microbiota intestinal que adquiere el infante a través de la dieta interactúa de manera positiva con el huésped y juegan un papel importante tanto en la salud como en la regulación del crecimiento normal del bebé ^[2]. Dentro de los metabolitos producidos y/o modificados por la microbiota, los más relevantes dentro de la salud infantil se incluyen en la Tabla 2 ^[2,31].

Los SCFA (acetato, propionato y butirato), son los productos finales de fermentación de los carbohidratos y fibra no digeribles en el tracto gastrointestinal, por acción de bacterias anaeróbicas como *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Faecalibacterium* y *Ruminococcus* ^[2]. Estos SCFA tienen múltiples propiedades importantes dentro del metabolismo neonatal, son fácilmente metabolizados en el epitelio intestinal, presentan un alto contenido de energía, estimulan la

Metabolito	Cepa bacteriana
Vitamina K2	<i>Bacteroides fragilis</i>
Vitamina B12	<i>Lactobacillus reuteri</i>
Ácido linoleico conjugado (CLA)	<i>Bifidobacterium breve</i> , <i>B. longum</i>
Ácido γ -aminobutírico (GABA)	<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>L. paracasei</i>
Polisacarido A (PSA)	<i>Bacteroides fragilis</i>

Tabla 2: Ejemplos de cepas bacterianas implicadas en la producción de metabolitos. Modificado de ^[31].

absorción de agua y sodio y reducen el pH (evitando el crecimiento de patógenos) y la biodisponibilidad de aminos tóxicos ^[31,51]. Todas estas propiedades influyen en mejorar la salud intestinal y el progresivo desarrollo y crecimiento del infante ^[51]. Además, los SCFA también están implicados en la secreción de hormonas, como la leptina, que tiene un papel en control del apetito, en la expresión génica mediante la acetilación de histonas por acción del butirato, entre otras. Por lo tanto, se puede observar que las tasas de producción temprana de SCFA por la microbiota intestinal del infante son importantes y podrían estar implicadas en la salud futura ^[2,51].

El ácido linoleico conjugado (CLA), es una mezcla de isómeros conjugados del ácido linoleico de ácidos grasos esenciales, que es producido por ciertas cepas de diferentes grupos bacterianos, como *Bifidobacteria*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus* y *Lactococcus* ^[2]. Presenta múltiples beneficios por sus propiedades antiadipogénicas, anticancerígenas, antidiabetogénicas y antiinflamatorias. De entre los múltiples beneficios del CLA, el poder antiinflamatorio puede ser importante para la prevención de la enterocolitis necrosante en recién nacidos pretérmino. Por tanto, CLA es otro metabolito importante tanto para la salud como para el desarrollo del neonato ^[52].

Las vitaminas pueden ser sintetizadas por bacterias de la microbiota intestinal, como la vitamina K2 y vitamina B12, esenciales para la salud neonatal ^[2]. La vitamina K2 es una vitamina lipofílica y es sintetizada por bacterias de la microbiota intestinal como *Bacteroides fragilis* ^[31,53]. La vitamina K2 es importante para salud ósea (formación ósea) y vascular, y su carencia está asociada a una baja mineralización ósea, enfermedades cardiovasculares y hemorragias en recién nacidos ^[53]. La vitamina B12 es una vitamina esencial y es sintetizada solo por bacterias y arqueas ^[54], por ejemplo, *Lactobacillus reuteri* ^[55]. La vitamina B12 es importante para la síntesis de ADN y ARN, la proliferación celular, la hematopoyesis y la función cognitiva por lo que juega un papel importante en el crecimiento y desarrollo nervioso del infante ^[56,57]. Su deficiencia en lactantes es debido a la su reducción en la dieta materna, y los bebés nacidos con esta deficiencia pueden tener mayor riesgo de padecer anemia y anomalías en el desarrollo. Por tanto, la deficiencia de vitamina B12 en el neonato puede afectar a su crecimiento, a la función neurológica y hematológica ^[57].

Los neurotransmisores también pueden ser producidos por algunas bacterias, como es el caso del ácido γ -aminobutírico (GABA), un aminoácido no proteico importante y principal neurotransmisor inhibitorio en el cerebro. Es producido por bacterias intestinales como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. A parte de tener funciones neuronales también presenta otras implicaciones, como en la hipotensión y la diuresis ^[55]. Por todo esto, la producción de neurotransmisores es otro mecanismo de acción de la microbiota intestinal y desempeña efectos sobre el desarrollo y función cerebral del infante ^[2].

Polisacáridos, como el polisacárido de superficie A (PSA), también es producido por la microbiota intestinal. *Bacteroides fragilis* produce PSA que está implicado en varias actividades

inmunomoduladoras como la tolerancia e inmunosupresión en el intestino ^[14]. Esta protección está implicada en el desarrollo de la inmunidad intestinal y solo es observable en recién nacidos y no en adultos^[14]. Por consiguiente, podemos decir que la producción temprana de metabolitos por bacterias de la microbiota intestinal es crucial durante las primeras etapas del desarrollo infantil debido a sus múltiples implicaciones ^[14,31].

4.4.3. Estrategias dietéticas: prebióticos y probióticos

Otra posible estrategia dietética para programar la microbiota es la administración de prebióticos y/o probióticos durante la alimentación infantil y /o materna. Los prebióticos son oligosacáridos no digeribles, pasan hasta el colon sin ser hidrolizados y poseen la capacidad para estimular tanto la actividad como el crecimiento de bacterias beneficiosas para la salud del huésped, como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* ^[58]. Los prebióticos más comunes son los fructooligosacáridos de cadena corta (scFOS), fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), povidex (PDX), lacto- N- neotetraosa y el oligosacárido de la leche humana (HMO) ^[51].

Como se ha comentado anteriormente, la leche humana tiene abundantes cantidades de oligosacáridos no digeribles, los HMO, que gracias a sus efectos beneficiosos sobre el crecimiento de bacterias comensales en el intestino del bebé, modulan el sistema inmune y potencian la salud del huésped ^[32,34]. Por tanto, los prebióticos se consideran uno de los sustratos más importantes para agregar a los preparados de fórmula infantiles, siendo los más habituales los FOS y GOS, estos prebióticos reducen el pH fecal y estimulan el crecimiento de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, simulando así los positivos efectos de los HMO de la leche humana ^[34,51]. Asimismo, la administración de prebióticos en la dieta materna durante el embarazo, como por ejemplo GOS, estimula la producción de metabolitos bacterianos beneficioso para la madre e hijo como el SCFA, mencionado anteriormente. De la misma manera, la introducción de inulina y GOS en la dieta materna aumentan bacterias encargadas de la síntesis de ácido fólico, aumentando su concentración en el torrente sanguíneo para el desarrollo neuronal del feto ^[32,51].

Los probióticos se definen como “microorganismos vivos” que en cantidades adecuadas proporcionan beneficios para la salud del huésped ^[58]. Los prebióticos más usados son las especies bacterianas, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, que ejercen funciones notables en el intestino, como la defensa contra patógenos intestinales, modulación del sistema inmune (aumento de IgA) y producción de compuestos antibacterianos ^[27]. Gracias a sus efectos positivos en la salud del tracto gastrointestinal, es usado como suplementos en los alimentos, por ejemplo, los lácteos. Aunque hay pocos estudios, estos sugieren que el consumo de probióticos en infantes puede prevenir infecciones

intestinales como la diarrea, mitigar los efectos de la enterocolitis necrosante, de la intolerancia a la lactosa, y prevenir enfermedades como la dermatitis atópica y las alergias alimentarias en lactantes [59]. Para la efectividad de los efectos mencionados es necesario su continua administración al bebé, ya que no persisten sus efectos si se produce un cese en su administración. Además, también pueden tener efectos beneficiosos al ser administrados durante el embarazo, podrían reducir el riesgo de partos prematuros y la preeclampsia. En definitiva, se sugiere que la suplementación de prebióticos y probióticos e incluso su acción sinérgica es potencialmente favorable tanto para la madre como para su descendencia [32,59].

4.5. Implicaciones de la microbiota en la salud infantil

En las últimas décadas, multitud de evidencias remarcan el papel de la microbiota intestinal tanto en la salud como en la enfermedad puesto que una microbiota intestinal equilibrada y sana se considera necesaria para el desarrollo y la homeostasis del huésped. Esta asociación mutualista huésped-bacteria es plenamente beneficiosa para la salud, como en el desarrollo óptimo del sistema inmune e intestinal, punto que hemos ido abordando a lo largo de este trabajo. No obstante, no podemos olvidarnos de que su disbiosis también puede alterar de forma importante la salud, pudiendo producir diferentes enfermedades inmunes como alergias, trastornos inflamatorios y metabólicos durante la infancia, entre las cuales destacan la enterocolitis necrotizante, el síndrome del intestino irritable y la obesidad, algunas de las cuales comentaremos a continuación. [8,27].

Las enfermedades se han convertido en un importante problema en la salud infantil. La disbiosis de la microbiota intestinal, por la abundancia o la baja diversidad de especies puede dar como resultado una maduración inmune anormal y las consiguientes enfermedades durante la infancia temprana [27]. La reducción en la diversidad de la microbiota intestinal y de especies específicas debido al abuso de antibióticos, el tipo de parto e incluso a la higiene extrema sobre todo en países occidentales se ha relacionado con un aumento en el riesgo de alergias, entre las cuales destacan, la rinitis alérgica, la conjuntivitis alérgica, la anafilaxis y el asma [27,60].

En varios estudios, se ha observado que existen diferencias en la microbiota intestinal de bebés que han desarrollado o no enfermedad alérgica, aunque no se han identificado especies específicas dañinas o protectoras de la enfermedad, pero sí que hay una relación entre la reducción de especies bacterianas como *Bifidobacterium* o *Lactobacillus* durante la infancia, seguidos de un aumento de *Enterobacteriaceae* y el consiguiente desarrollo de enfermedades alérgicas [4,60]. Además de un aumento de la colonización de *Clostridium difficile* como factor de riesgo para la posterior susceptibilidad a padecer alergia [60]. Del mismo modo, el parto por cesárea se asocia a mayor

predisposición al desarrollo de alergias, debido que se produce una reducción del número y diversidad del filo *Bacteroidetes*, concretamente menor abundancia en el género *Bacteroides* ^[27,60].

De entre las enfermedades autoinmunes a destacar por su morbilidad, está la enterocolitis necrotizante (NEC), un trastorno inflamatorio intestinal que la padecen algunos bebés prematuros al nacer. Estos bebés prematuros presentan una composición menos diversa de la microbiota intestinal y un aumento de especies patógenas en comparación con los bebés nacidos a término ^[61]. El perfil de esta disbiosis es un aumento del filo *Proteobacteria* en comparación con otros filos como *Firmicutes*, *Bacteroidetes* y *Negativicutes*, lo cual conduce a una inmadurez tanto funcional como inmunitaria del intestino del neonato y el consiguiente estado inflamatorio ^[61,62].

Más allá de su papel inmunomodulador, la microbiota intestinal también está implicada en el metabolismo energético del huésped, por lo que su disbiosis puede provocar trastornos metabólicos como la obesidad, diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares, trastorno conocido como síndrome metabólico ^[21,29].

La obesidad es uno de los problemas más comunes en el mundo occidental y se asocia con la disbiosis de la microbiota gastrointestinal del huésped. Como hemos comentado, la dieta es un factor importante en la obtención de energía para el crecimiento, desarrollo y metabolismo neonatal, pero también puede influir en su disbiosis ^[6,27].

El impacto de la salud y la dieta materna tiene influencias tanto en el desarrollo como en la salud futura del feto, debido a que la microbiota materna es la que se transfiere de madre a hijo ^[2]. Por este motivo, la obesidad puede iniciarse desde el periodo fetal, por influencia materna.

Diversos estudios muestran que bebés de madres con un aumento de peso normal presentaban niveles altos de *Bifidobacterium* mientras que los recién nacidos de madres con sobrepeso tenían tasas más reducidas, pero un incremento significativo de *Bacteroides*, estos últimos están implicados en la obtención de energía por degradación de SCFA como hemos mencionado anteriormente con la introducción de alimentos, siendo importantes para el crecimiento del recién nacido. De hecho, esto se ha visto reflejado en bebés que presentaban un incremento excesivo de peso debido a las altas proporciones de *Bacteroides*, este aumento de especies bacterianas durante los primeros meses de vida se relacionan con un elevado riesgo de padecer obesidad a partir de los 3 años ^[21,63]. De la misma manera, durante la introducción de alimentos sólidos, existen cambios en la microbiota intestinal del infante, aumentan las proporciones de los filos *Bacteroides* (*Bacteroidetes*) y *Firmicutes*, implicados en la producción de metabolitos bacterianos como los SCFA, los cuales proporcionan acetato, butirato y propionato ^[47]. Por lo tanto, una dieta incorrecta, además de proporcionar un exceso de energía, también puede alterar la microbiota infantil incrementando el riesgo de padecer obesidad. Esto se ha corroborado en modelos murinos donde se ha visto que un

aumento excesivo de acetato desencadena varios efectos como, un aumento de células beta pancreáticas y secreción de insulina, lo que conduce a la resistencia a la insulina, obesidad, entre otros efectos relacionados con el síndrome metabólico. Por todo esto, la dieta es un factor muy relevante en la salud futura.

Una alternativa para reducir este riesgo de obesidad es mediante la administración de prebióticos y/o probióticos tanto en madres como en niños. Estudios en modelos murinos reafirman estos beneficios ^[63]. La administración de fibra a murinos obesos dio como resultado un aumento de especies como *Firmicutes* y especies beneficiosas como *Bifidobacteria spp.* y *Lactobacillus spp.* y una disminución de *Bacteroidetes*. Esta composición de la microbiana concuerda con el perfil de un animal con un peso normal. Por tanto, el uso de prebióticos y/o probióticos puede contrarrestar las múltiples alteraciones provocadas durante la infancia. Sin embargo, la nutrición y la salud materna sigue siendo sumamente importante para la salud temprana y futura del infante ^[63].

5. CONCLUSIONES

La microbiota intestinal es compleja y dinámica, se considerada un componente importante del organismo humano, ya que desempeña un papel en el mantenimiento de la salud. La colonización microbiana es clave en la maduración y regulación sistema inmune y el tracto gastrointestinal.

En el primer año de vida, la microbiota intestinal del neonato se caracteriza por fluctuaciones rápidas y dramáticas en la comunidad microbiana, por una baja diversidad, dominada principalmente por las *phyla Proteobacteria* y *Actinobacteria*. Luego va evolucionando hacia una microbiota más diversa con el aumento de las *phyla Firmicutes* y *Bacteroidetes*, semejándose más a la microbiota de un adulto en términos de composición y diversidad. Por lo tanto, en estas etapas tempranas (hasta los primeros 3 años), representan el período más crítico para las intervenciones dietéticas, destinadas a programar la colonización intestinal por una microbiota con potencial para mejorar el crecimiento y el desarrollo infantil.

La microbiota intestinal de los neonatos es adquirida principalmente a partir del contacto con el canal del parto y de la leche humana, dos de los factores más importante en el desarrollo de una microbiota específica y sana, aunque con el tiempo, el medio ambiente y la dieta adquieren más importancia, pudiendo modular de forma beneficiosa la diversidad y la función microbiana.

Diversas estrategias alimentarias tienen un papel clave en la adquisición y desarrollo de la microbiota intestinal del neonato y el consecuente impacto en su composición. La leche humana contiene

diversos prebióticos y probióticos con actividad bioactiva para el tracto gastrointestinal, por lo que el uso de estos componentes en forma de suplementación o añadidos a la leche de fórmula pueden mimetizar estos efectos beneficiosos. Por otro lado, la introducción de alimentos sólidos, provoca una diversidad microbiana que progresa hacia una microbiota más madura, similar a la de un adulto.

Cambios en la microbiota, que provocan un desequilibrio en la homeostasis (disbiosis) debidas a la disminución de la microbiota sana y al aumento de patógenos, se ha asociado con diversas enfermedades autoinmunes y metabólicas como la obesidad y alergias, entre otras. Gracias a los avances actuales, se pueden prevenir algunas de estas afecciones clínicas, mediante la introducción de prebióticos y probióticos en la alimentación.

6. AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en primer lugar a mi tutora, la Dra. Juana Sánchez Roig, por confiar en mí para elaborar el Trabajo de Fin de Grado propuesto por ella, además del tiempo dedicado para poder enseñar y guiarme en la realización de este proyecto.

Por otro lado, me gustaría agradecer de forma especial a mis dos compañeros de carrera, Youssef Ahmiane y Claudia Almaraz, por su apoyo incondicional, por sus consejos y, sin duda alguna, por su compañía a lo largo de estos años. No puedo olvidarme del Sr. Alexander Cortès Mayol y el Sr. Hugo Hortelano, a quienes agradezco su ayuda y sus consejos lingüísticos para la redacción del presente documento.

Por último, y no menos importante, me gustaría agradecer a mi familia por apoyar y animar la decisión de dedicarme a la ciencia y estudiar Bioquímica, por el gran esfuerzo realizado durante estos años por parte de mis padres, Germán Quishpe Toapanta y Jannet Riera Ulloa.

7. REFERENCIAS

1. Turnbaugh, P. J. *et al.* The Human Microbiome Project. *Nature* **449**, 804–810 (2007).
2. Castanys-Muñoz, E., Martín, M. J. & Vazquez, E. Building a Beneficial Microbiome from Birth. *Adv. Nutr.* **7**, 323–30 (2016).
3. Matamoros, S., Gras-Leguen, C., Le Vacon, F., Potel, G. & de La Cochetiere, M.-F. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol.* **21**, 167–173 (2013).
4. Tanaka, M. & Nakayama, J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol. Int.* **66**, 515–522 (2017).
5. Sender, R., Fuchs, S. & Milo, R. Revised Estimates for the Number of Human and Bacteria Cells in the Body. *PLOS Biol.* **14**, e1002533 (2016).
6. Tlaskalová-Hogenová, H. *et al.* The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell. Mol. Immunol.* **8**, 110–20 (2011).
7. Palmer, C., Bik, E. M., DiGiulio, D. B., Relman, D. A. & Brown, P. O. Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol.* **5**, e177 (2007).
8. Wang, B., Yao, M., Lv, L., Ling, Z. & Li, L. The Human Microbiota in Health and Disease. *Engineering* **3**, 71–82 (2017).
9. Home - PubMed - NCBI. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. (Accessed: 27th May 2015)
10. ScienceDirect.com | Science, health and medical journals, full text articles and books. Available at: <https://www.sciencedirect.com/>. (Accessed: 20th February 2018)
11. Jahnsen, F. L., Bækkevold, E. S., Hov, J. R. & Landsverk, O. J. Do Long-Lived Plasma Cells Maintain a Healthy Microbiota in the Gut? *Trends Immunol.* **39**, 196–208 (2018).
12. Funkhouser, L. J. & Bordenstein, S. R. Mom Knows Best: The Universality of Maternal Microbial Transmission. *PLoS Biol.* **11**, e1001631 (2013).
13. Jiménez, E. *et al.* Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res. Microbiol.* **159**, 187–193 (2008).
14. Tamburini, S., Shen, N., Wu, H. C. & Clemente, J. C. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat. Med.* **22**, 713–722 (2016).

15. Walker, R. W., Clemente, J. C., Peter, I. & Loos, R. J. F. The prenatal gut microbiome: are we colonized with bacteria in utero? *Pediatr. Obes.* **12 Suppl 1**, 3–17 (2017).
16. Gosalbes, M. J. *et al.* Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clin. Exp. Allergy* **43**, 198–211 (2013).
17. Jiménez, E. *et al.* Isolation of Commensal Bacteria from Umbilical Cord Blood of Healthy Neonates Born by Cesarean Section. *Curr. Microbiol.* **51**, 270–274 (2005).
18. Ximenez, C. & Torres, J. Development of Microbiota in Infants and its Role in Maturation of Gut Mucosa and Immune System. *Arch. Med. Res.* **48**, 666–680 (2017).
19. Lu, L. & Claud, E. C. Intrauterine Inflammation, Epigenetics, and Microbiome Influences on Preterm Infant Health. *Curr. Pathobiol. Rep.* **6**, 15–21 (2018).
20. Yatsunenkov, T. *et al.* Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature* **486**, 222–7 (2012).
21. Rodríguez, J. M. *et al.* The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. *Microb. Ecol. Health Dis.* **26**, 26050 (2015).
22. Kashtanova, D. A. *et al.* Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. *Nutrition* **32**, 620–627 (2016).
23. Nogacka, A. M. *et al.* Early microbiota, antibiotics and health. *Cell. Mol. Life Sci.* **75**, 83–91 (2018).
24. Ranucci, G., Buccigrossi, V., de Freitas, M. B., Guarino, A. & Giannattasio, A. Early-Life Intestine Microbiota and Lung Health in Children. *J. Immunol. Res.* **2017**, 8450496 (2017).
25. Nuriel-Ohayon, M., Neuman, H. & Koren, O. Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front. Microbiol.* **7**, 1031 (2016).
26. Mueller, N. T., Bakacs, E., Combellick, J., Grigoryan, Z. & Dominguez-Bello, M. G. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol. Med.* **21**, 109–117 (2015).
27. Wang, M., Monaco, M. H. & Donovan, S. M. Impact of early gut microbiota on immune and metabolic development and function. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **21**, 380–387 (2016).
28. Arboleya, S. *et al.* Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates. *FEMS Microbiol. Ecol.* **79**, 763–772 (2012).
29. Mulligan, C. M. & Friedman, J. E. Maternal modifiers of the infant gut microbiota: metabolic consequences. *J. Endocrinol.* **235**, R1–R12 (2017).
30. Tanaka, S. *et al.* Influence of antibiotic exposure in the early postnatal period on the development of intestinal microbiota. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **56**, 80–87 (2009).
31. Marques, T. M. *et al.* Programming infant gut microbiota: influence of dietary and environmental factors. *Curr. Opin. Biotechnol.* **21**, 149–156 (2010).
32. Thum, C. *et al.* Can Nutritional Modulation of Maternal Intestinal Microbiota Influence the Development of the Infant Gastrointestinal Tract? *J. Nutr.* **142**, 1921–1928 (2012).
33. Fernández, L. *et al.* The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol. Res.* **69**, 1–10 (2013).
34. Nauta, A. J., Ben Amor, K., Knol, J., Garssen, J. & van der Beek, E. Relevance of pre- and postnatal nutrition to development and interplay between the microbiota and metabolic and immune systems. *Am. J. Clin. Nutr.* **98**, 586S–593S (2013).
35. Gomez-Gallego, C., Garcia-Mantrana, I., Salminen, S. & Collado, M. C. The human milk microbiome and factors influencing its composition and activity. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **21**, 400–405 (2016).

36. Ballard, O. & Morrow, A. L. Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatr. Clin. North Am.* **60**, 49–74 (2013).
37. Thompson, A. L., Monteagudo-Mera, A., Cadenas, M. B., Lampl, M. L. & Azcarate-Peril, M. A. Milk- and solid-feeding practices and daycare attendance are associated with differences in bacterial diversity, predominant communities, and metabolic and immune function of the infant gut microbiome. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **5**, 3 (2015).
38. Andreas, N. J., Kampmann, B. & Mehring Le-Doare, K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum. Dev.* **91**, 629–635 (2015).
39. Menon, G. & Williams, T. C. Human milk for preterm infants: why, what, when and how? *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **98**, F559-62 (2013).
40. Cabrera-Rubio, R. *et al.* The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am. J. Clin. Nutr.* **96**, 544–551 (2012).
41. Isaacs, C. E. Human Milk Inactivates Pathogens Individually, Additively, and Synergistically. *J. Nutr.* **135**, 1286–1288 (2005).
42. Toscano, M., De Grandi, R., Grossi, E. & Drago, L. Role of the Human Breast Milk-Associated Microbiota on the Newborns' Immune System: A Mini Review. *Front. Microbiol.* **8**, 2100 (2017).
43. Maga, E. A., Weimer, B. C. & Murray, J. D. Dissecting the role of milk components on gut microbiota composition. *Gut Microbes* **4**, 136–139 (2013).
44. Bode, L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum. Dev.* **91**, 619–622 (2015).
45. Marcobal, A. & Sonnenburg, J. L. Human milk oligosaccharide consumption by intestinal microbiota. *Clin. Microbiol. Infect.* **18**, 12–15 (2012).
46. Petherick, A. Development: Mother's milk: A rich opportunity. *Nature* **468**, S5–S7 (2010).
47. Davis, E. C., Wang, M. & Donovan, S. M. The role of early life nutrition in the establishment of gastrointestinal microbial composition and function. *Gut Microbes* **8**, 143–171 (2017).
48. Jeurink, P. V. *et al.* Human milk: a source of more life than we imagine. *Benef. Microbes* **4**, 17–30 (2013).
49. Pekmez, C. T., Dragsted, L. O. & Brahe, L. K. Gut microbiota alterations and dietary modulation in childhood malnutrition – The role of short chain fatty acids. *Clin. Nutr.* (2018). doi:10.1016/J.CLNU.2018.02.014
50. Fallani, M. *et al.* Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology* **157**, 1385–1392 (2011).
51. Jacobi, S. K. & Odle, J. Nutritional Factors Influencing Intestinal Health of the Neonate. *Adv. Nutr.* **3**, 687–696 (2012).
52. Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J. & Fernandes, G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J. Nutr. Biochem.* **17**, 789–810 (2006).
53. Akbari, S. & Rasouli-Ghahroudi, A. A. Vitamin K and Bone Metabolism: A Review of the Latest Evidence in Preclinical Studies. *Biomed Res. Int.* **2018**, 4629383 (2018).
54. Fang, H., Kang, J. & Zhang, D. Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives. *Microb. Cell Fact.* **16**, 15 (2017).
55. Patterson, E. *et al.* Gut microbiota, the pharmabiotics they produce and host health. *Proc. Nutr. Soc.* **73**, 477–489 (2014).
56. Ulak, M. *et al.* Cobalamin and Folate Status in 6 to 35 Months Old Children Presenting with Acute Diarrhea in Bhaktapur, Nepal. *PLoS One* **9**, e90079 (2014).

57. Finkelstein, J. L., Layden, A. J. & Stover, P. J. Vitamin B-12 and Perinatal Health. *Adv. Nutr.* **6**, 552–563 (2015).
58. Roberfroid, M. Prebiotics: The Concept Revisited. *J. Nutr.* **137**, 830S–837S (2007).
59. Wolvers, D. *et al.* Guidance for Substantiating the Evidence for Beneficial Effects of Probiotics: Prevention and Management of Infections by Probiotics. *J. Nutr.* **140**, 698S–712S (2010).
60. Lynch, S. V. Gut Microbiota and Allergic Disease. New Insights. *Ann. Am. Thorac. Soc.* **13 Suppl 1**, S51-4 (2016).
61. Neu, J. & Pammi, M. Necrotizing enterocolitis: the intestinal microbiome, metabolome and inflammatory mediators. *Semin. Fetal Neonatal Med.* (2018). doi:10.1016/J.SINY.2018.08.001
62. Warner, B. B. & Tarr, P. I. Necrotizing enterocolitis and preterm infant gut bacteria. *Semin. Fetal Neonatal Med.* **21**, 394–399 (2016).
63. DiBaise, J. K., Frank, D. N. & Mathur, R. Impact of the Gut Microbiota on the Development of Obesity: Current Concepts. *Am. J. Gastroenterol. Suppl.* **1**, (2012).