

Microbioma perinatal: nuevos horizontes de la vida

Drs. Pedro Faneite Antique*, Josmery Faneite Campos**

*Profesor Titular de la Universidad de Carabobo, Venezuela. Miembro Correspondiente Nacional de la Academia de Medicina de la Venezuela. **Profesor Universidad de Carabobo, Unidad de Perinatología, Departamento Clínico Integral de la Costa, Puerto Cabello, Estado Carabobo.

e-mail: faneitep@hotmail.com

RESUMEN

Actualmente, el término microbioma se refiere al número total de microorganismos y su material genético en el cuerpo humano, se usa en contraposición al término microbiota, que es la población microbiana presente en los diferentes ecosistemas. Los microbiotas más destacados son: el intestinal, el cual es el mayor, la piel y sus diversas regiones, orofaringe, genitourinario, entre otros. Están representados fundamentalmente por bacterias, pero no hay que olvidar a los hongos, virus y protozoos. Los conocimientos del microbioma humano se han desarrollado principalmente en la última década. Se estima van a transformar la medicina tradicional. En vista de la importancia y trascendencia de este campo emergente de la medicina, nos hemos propuesto revisar y mostrar los aspectos más destacados del área perinatal. Lo que sucede relativo al proceso maravilloso de la reproducción y generación de nuestra especie lo hemos denominado el microbioma perinatal, el cual está constituido por la microbiota vaginal, microbiota placentaria y microbiota de la leche materna. Mostraremos los conceptos actuales que con toda seguridad servirán de base para estudios futuros en beneficio de la salud materno-infantil.

“Las Meditaciones del Quijote”, constituyen el primer libro del filósofo español José Ortega y Gasset, publicado en 1914. En este libro expresó: “yo soy yo y mi circunstancias”. Quizá hoy podríamos añadir: “...y mi microbioma”.

Palabras clave: Microbioma perinatal. Microbiota vaginal. Placentaria y leche materna

SUMMARY

Currently, the term microbiome refers to the total number of microorganisms and their genetic material in the human body. It is used in contraposition to the term microbiota, which is the microbial population present in the various ecosystems. The most outstanding microbiota among others are: the intestinal (gut) which is the most prominent, the skin and its various regions, the oropharynx and the genitourinary microbiota. They are represented primarily by bacteria, but fungi, viruses and protozoa cannot be overlooked. Human Microbiome knowledge has been developed mainly in the last decade. The belief is that they will overturn traditional medicine. Because of the importance and significance of this emerging field of medicine, we intend to review and show the highlights on perinatal area. What happens on the wonderful process of reproduction and generation of our specie we have called Perinatal Microbiome, which consists of the vaginal microbiota, placental microbiota and breast-milk microbiota. We'll show the current concepts that we are confident will serve as a basis for future studies to benefit mothers and children wellness.

Keywords: Perinatal microbiome. Microbiota vaginal. Placental and breast-milk

“Quixote meditations”, constitute the first book of the spanish philosopher Jose Ortega y Gasset, published in 1914. In this book he said: “I am myself and my circumstances.” Maybe today we could add: “... and my microbiome”.

INTRODUCCIÓN

Al referirse a los microbios en diversos ambientes la correlación usual es enfermedad e infección; en cierto grado, los microbios, las bacterias y los virus, son los responsables de muchas de nuestras enfermedades. Es lo que se conoce como el lado oscuro de los microbios; las enfermedades infecciosas siguen siendo la primera causa de muerte en países en vías de desarrollo, también se conoce que algunos tipos de cáncer están causados por ellos. Sin embargo, debemos enfatizar que los microbios dañinos, los patógenos, los que producen enfermedades, son minoría; la inmensa mayoría de los microorganismos son seres vivos beneficiosos y esenciales para nuestra vida.

Actualmente, el término microbioma se refiere al número total de microorganismos y su material genético en el cuerpo humano, se usa en contraposición al término microbiota, que es la población microbiana presente en los diferentes ecosistemas. Los microbiotas más destacados son: el intestinal, el cual es el mayor, la piel y sus diversas regiones, orofaringe, genitourinario, entre otros. Están representados fundamentalmente por bacterias, pero no hay que olvidar a los hongos, virus y protozoos (1-3).

El microbioma humano comprende solo el 1 % a 3 % de la masa corporal total de una persona, este pequeño porcentaje representa más de 100 billones de células microbianas, superando en número a las células humanas en proporción de 10 a 1 y añaden más de 8 millones de genes en nuestro conjunto de 22 000 (4,5). Esta complejidad establece una red de interacciones entre el genoma del huésped y su microbioma que abarca diversos aspectos, así tenemos: el desarrollo intestinal (6), la digestión (7,8), el desarrollo de células inmunes (9-11), la salud dental, y la resistencia a los patógenos (14,15). Estudios recientes han proporcionado una mayor comprensión de cómo la composición de la microbiota suele cambiar en un individuo a lo largo de su desarrollo, especialmente durante el primer año de vida (6,16).

Hasta fecha cercana se ha mantenido como dogma general que la barrera placentaria mantiene el ambiente intra-uterino estéril durante todo el embarazo; resulta que surgieron evidencias sobre una inoculación de gérmenes que pueden ser proporcionados por la madre antes del nacimiento (17-21), esto se complementa con microbios maternos a través del parto (22), la lactancia materna (23,24) y otros procesos.

Si bien la transmisión materna de los microbios en los seres humanos ha atraído considerable atención en los últimos años, el valor de la investigación de casi un siglo, está disponible en la transmisión vertical de simbioses en invertebrados (25). Al igual que las bacterias intestinales en los humanos que ayudan a la ingesta de nutrientes, muchas bacterias de insectos asociados funcionan como simbioses nutricionales que complementan la dieta pobre en nutrientes de su anfitrión con vitaminas esenciales o con aminoácidos (26,27). Dado que estos simbioses indispensables no pueden vivir fuera de las células huésped, no pueden ser adquiridos del medio ambiente y se transfieren fielmente de la madre a su descendencia (25,28). Estamos ante una medicina comparada en el linaje animal.

Estos conocimientos del microbioma humano se han desarrollado principalmente en la última década, se estima van a dar un gran aporte a la medicina actual. En vista de la importancia y trascendencia de este campo de la medicina nos hemos propuesto revisar y mostrar los aspectos más destacados del área perinatal. Lo que está sucediendo, relativo al proceso maravilloso de la reproducción y generación de nuestra especie, lo agrupamos en lo que hemos denominado el microbioma perinatal, el cual está constituido por la microbiota vaginal, microbiota placentaria y microbiota de la leche materna. Mostraremos los conceptos actuales que con toda seguridad servirán de base para estudios futuros en beneficio de la salud materno-infantil.

MICROBIOTA VAGINAL

La vagina humana y las comunidades bacterianas que residen en ella representan una asociación mutualista muy equilibrada (29). Desde el informe y descubrimiento del *Lactobacillus* (Döderlein Bacillus), como habitante común de la vagina humana en 1892, por Gustav Döderlein, es conocido que el *Lactobacillus* es un género que configura una piedra angular en la vagina (30-32). La presencia de las especies de *Lactobacillus* se asocian con el estado de salud y se piensa que cumplen el papel de proteger a las mujeres en edad reproductiva de gérmenes patógenos, lo hacen manteniendo un pH vaginal bajo (<4,5), a través de la producción de ácido láctico (33). La microbiota vaginal es única, sufre importantes cambios en su composición durante la edad reproductiva de la mujer (34). Se sabe muy poco acerca de la composición de la microbiota

vaginal a lo largo de estas etapas de transición, pero parece que las hormonas esteroides sexuales juegan un papel importante en el curso de la composición y la estabilidad (35).

El desarrollo de perfiles con métodos de cultivos independientes para detectar organismos agresivos o no cultivables, a través del análisis de la secuenciación de los genes marcadores, tales como el gen 16S rRNA, ha provocado una revolución en la biología y la medicina; esto se derivó de importantes proyectos del Instituto Nacional de la Salud (NIH) de Estados Unidos, en particular el Proyecto del Microbioma Humano (36), además del Proyecto Europeo METAHIT, y la creación del Consorcio Internacional del Microbioma Humano. El análisis médico basado en el cultivo microbiano se ha utilizado durante décadas y ha contribuido al conocimiento crítico sobre los microbios que habitan en el cuerpo humano, incluyendo la vagina y la comprensión de las enfermedades infecciosas que afectan el tracto genital. Sin embargo, las técnicas de cultivo son laboriosas, llevan mucho tiempo, y la microbiología cuantitativa de la infección polimicrobiana o ecosistemas complejos, es un verdadero reto cuando se trata de evaluar con precisión la contribución de cada organismo a la estructura de la población microbiana. Por otra parte, muchos organismos no pueden ser cultivados debido a que los requisitos esenciales para el crecimiento no se conocen. Los avances en las técnicas de cultivo continúan y los resultados son informados basados en consecuencia de los métodos empleados.

Más recientemente, la caracterización de los cultivos independientes de las comunidades bacterianas, se pueden obtener utilizando la amplificación y secuenciación del gen 16S rRNA (37), o enfoques metagenómicos, con esto se obtienen las secuencias de los genes de la comunidad de bacterias y sus genomas (38). En estos momentos, los perfiles de genes 16S rRNA están muy difundidos y se han estado utilizando en el descubrimiento de importantes organismos clínicamente relevantes que no se habían podido cultivar durante décadas. Este método es muy sensible, asequible y rápido, y los resultados son manejables desde un punto de vista analítico. El uso de estas técnicas de cultivo independiente moleculares ha aumentado el conocimiento sobre la complejidad del ecosistema microbiano de varios sitios del cuerpo, incluyendo la vagina humana.

La mayoría de los datos publicados hasta la fecha sobre el ecosistema microbiano vaginal humano

están centrados en las mujeres no embarazadas sanas, asintomáticas y en edad reproductiva. Estos estudios han establecido que existen al menos seis tipos de microbiota vaginal, denominados como tipos de estado de la comunidad (TEC) (39). En cuatro TEC predominan con frecuencia cuatro especies de *Lactobacillus*: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii* y *L. gasseri*; mientras que los dos restantes carecen de un número sustancial de especies de *Lactobacillus*, y se componen de un conjunto diverso de bacterias anaerobias, incluyendo especies asociadas a la vaginosis bacteriana tales como *Prevotella*, *Megasphaera*, *Gardnerella vaginalis*, *Sneathia*, *Atopobium vaginae*. Si bien estos dos estados se encuentran en mujeres asintomáticas sanas, a menudo se asocian con altos puntajes Nugent, este es un método de tinción de Gram que se utiliza en el diagnóstico de la vaginosis bacteriana en ambientes de investigación (40). Las puntuaciones Nugent altas o cambios en la microbiota vaginal, se han asociado con un mayor riesgo de infecciones de transmisión sexual, incluido el VIH, parto prematuro y resultados perinatales adversos como sepsis posaborto, abortos tempranos y tardíos, aborto recurrente, la corioamnionitis histológica y endometritis posparto (41).

El conocimiento de la microbiota vaginal durante el embarazo es escasa, y solo unos pocos estudios la han examinado en mujeres embarazadas utilizando métodos de cultivo independientes (42-44), y ninguno con muestras analizadas recogidas longitudinalmente durante todo el embarazo, en un mismo grupo, empleando el método de la secuencia de genes 16S rRNA. Verstraelen y col. (42), usando un sistema de puntuación de la tinción de Gram, con cultivo y polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción terminal (fluorescente), ha demostrado la importancia de *L. crispatus* y *L. gasseri* en el mantenimiento de la estabilidad, en una población de mujeres holandesas estudiando muestras trimestrales. El consenso de los estudios previos revelan que las especies de *Lactobacillus* predominan en la microbiota vaginal durante el embarazo; esta observación es consistente con los resultados de un estudio transversal reciente reportado por Aagaard y col. (44), basado en la secuencia del gen 16S rRNA. Ninguno de estos estudios examinó el grado de estabilidad en la microbiota vaginal durante el embarazo usando el análisis de la secuencia génica 16S rRNA. La estabilidad y resistencia de los ecosistemas son ahora reconocidas como importantes en la comprensión de la condición física de la comunidad, así como

la respuesta a las perturbaciones. Por lo tanto, los estudios de la microbiota en varios sitios del cuerpo están actualmente caracterizando la estabilidad y resistencia, así como la forma en que se relacionan con la salud y la enfermedad.

En 2014, Roberto Romero y col. (45), en un amplio estudio con apoyo de Instituto Nacional de la Salud de Estados Unidos, lograron caracterizar los cambios en la composición de la microbiota vaginal de mujeres embarazadas seguidos longitudinalmente, durante su embarazo. El grupo control consistió en mujeres no embarazadas, que fueron muestreadas con frecuencia. Emplearon el método de la secuenciación del gen 16S rRNA. Las dos conclusiones principales fueron que la composición microbiana de la microbiota vaginal en el embarazo normal es diferente de la de las mujeres no embarazadas, las diversas especies de *Lactobacillus* fueron sus miembros predominantes. Además demostraron, que la microbiota vaginal durante el embarazo es más estable que sin embarazo, es la primera investigación que señala esta característica. Estiman que estos resultados pueden servir de base para estudiar la relación entre la microbiota vaginal y resultados adversos del embarazo.

MICROBIOTA PLACENTARIA

Los seres humanos y sus microbiomas han co-evolucionado como una comunidad hermanada en el plano fisiológico y defensivo por milenios, esto se ha sucedido en distintos nichos o sitios del cuerpo, todo con fines metabólicos y diversidad antigénica. El microbioma de la placenta no se ha estudiado con firmeza a pesar de los recientes hallazgos de bacterias intracelulares. De esta manera, “el órgano olvidado”, como se le ha llamado coloquialmente, ha cobrado protagonismo en el ambiente perinatal, ya no se descarta despectivamente o con simpleza, ahora se le rinde mucha atención. Hasta el presente se ha mantenido el concepto que todo el proceso reproductivo dentro del útero se lleva bajo estrictas condiciones de asepsia. Con el recurso emergente de los estudios del Microbioma Humano se inició la investigación del canal vaginal y la placenta (36-38).

La presencia de microbios, y en particular bacterias en las membranas y placenta, se ha correlacionado con la amenaza del parto prematuro y el parto prematuro; ha sido la vía ascendente de microbios o **vía** ginecológica la más estudiada (46,47). Posteriormente, se ha incriminado la vía hematológica, en particular las infecciones a distancia, como las

infecciones urinarias y las oro-dentales (48). La metodología más empleada en la identificación de estos agentes microbianos ha sido la tinción de Gram, y el cultivo clásico.

Sin embargo, la colonización bacteriana de la placenta en situaciones no patológicas también se ha reportado, entre ellos Pettker y col. en 2007 (49), encontraron cultivos positivos de placenta en pacientes que no tenían infección del líquido amniótico o consecuencias adversas. Es importante destacar que las bacterias se pueden encontrar en la placenta de pacientes que tuvieron parto mediante cesárea electiva con riesgo de probable contaminación. Hasta aquí, los hallazgos de la investigación con metodología tradicional.

El gran empuje en investigación fue la disponibilidad de la tecnología metagenómica desarrollada con los estudios del Genoma Humano y el Proyecto Microbioma Humano (36-38), el cual incluyó la microbiota vaginal. Sus resultados han motivado la investigación para identificar y caracterizar la gran gama de microbios y en particular el bacteriano que habitan en este nicho tan vital para la reproducción.

Entre los trabajos iniciales que emplearon esta alta tecnología corresponde a Satokari y col. (50), quien el 2009, publica un estudio con 24 pacientes clínicamente sanas, analizó las bacterias intestinales de la madre y sus placentas en las mejores condiciones de asepsia; como resultado reportó que no hubo cultivo positivo para bacterias en las placentas, pero hubo hallazgo de ADN de las bacterias intestinales en la mayoría de muestras de placenta. Los resultados sugieren que puede haber transferencia horizontal de ADN bacteriano de la madre al feto a través de la placenta.

Los trabajos de investigación de mayor trascendencia escala global en el momento actual, relativo al papel de la placenta y su microbiota, son los trabajos pioneros dirigidos y elaborados por Kjersti Aagaard, Gineco-Obstetra, especializada en el campo perinatal, Profesora Asociada de la Escuela de Medicina Baylor en Houston, Estados Unidos. Hubo dos razones científicas por las cuales este grupo de investigadores se interesó en estudiar la placenta. En primer lugar, en el año 2012 habían publicado un estudio en el que evaluaron el microbioma vaginal en las mujeres que estaban embarazadas y lo compararon con las mujeres no embarazadas (44). Encontraron que el microbioma vaginal fue diferente en virtud de estar embarazada, pero ninguno de los microbios identificados en el microbioma vaginal de las embarazadas era similar a los que estaban presentes

en el intestino de los neonatos reportados en otros estudios; así, se mantenía desconocida su procedencia. Por lo que decidieron estudiar específicamente la placenta, ya que otros investigadores, como Stout y col. en 2013 (51), en la Universidad de Washington, con apoyo del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos, usando un microscopio regular, habían demostrado que alrededor de un tercio o menos de las veces, pudieron ver bacterias a nivel intracelular en la placa basal de 195 placentas normales.

En 2014, Aagaard y col. (52), dan a conocer un nuevo artículo titulado: “La placenta alberga un microbioma único”, en la prestigiosa revista científica *Science Translational Medicine*, el cual ha sido catalogado como uno de los más interesantes en este campo. Es la primera publicación que muestra las estrechas relaciones de microbiotas entre: madre, feto y placenta. Este trabajo lo comentaremos en detalle a continuación.

Ha sido una creencia común que en el útero los fetos se encuentran muy bien protegidos con una placenta estéril y que después de su nacimiento es cuando desarrollan su propio microbioma. Esto es erróneo. El grupo investigador liderado por Aagaard, en el Hospital Infantil de Texas en Houston, ha caracterizado las bacterias de 320 placentas que fueron analizadas genotípicamente. Sus deducciones indican varios hechos hasta ahora desconocidos. Los fetos en el útero no están tan protegidos del mundo exterior como se podría pensar y la placenta alberga un ecosistema único de bacterias que parece tener un sorprendente origen, ya que son muy parecidas a las existentes en la boca de la madre, los filos *Firmicutes*, *Tenericutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Fusobacteria*. Los autores sospechan que los microbios orales podrían trasladarse vía hematogena y alojarse en la placenta (52). Las bacterias no patógenas que viven en la placenta tienen importantísimas funciones fisiológicas, como las de metabolizar vitaminas y cofactores (por ejemplo, biotina y ácido fólico) en niveles adecuados para el feto en desarrollo.

Un aspecto novedoso de esa investigación es la existencia de una estrecha asociación entre la composición del microbiota placentario y la posibilidad de parto prematuro (52). Al examinar con detalle la diversidad bacteriana en especímenes de las placentas de las pacientes que habían sufrido nacimientos prematuros, los investigadores comprobaron una asociación entre la composición bacteriana de la placenta y la microbiota de los

neonatos prematuros. *Lo que aclara que estos nacen ya con un microbiota, que depende del existente en la placenta, que a su vez está muy relacionado con el bucal materno.* Las alteraciones de la comunidad bacteriana de la placenta podrían explicar por qué algunas mujeres tienen nacimientos antes de tiempo. Ya han planeado un nuevo estudio para investigar el microbioma oral y placentario de más de 500 mujeres con riesgo de parto prematuro, con el fin de saber más, respecto a los factores responsables del mismo.

Existen otras publicaciones recientes que insisten en el papel central que pudiera tener la placenta en la etiopatogenia del parto prematuro (53,54). Sin embargo, los campos descritos en estas revisiones sugieren que la placenta podría no ser estéril, incluyendo al líquido amniótico (17-21), incluso en ausencia de infección clínica. Por ello, proponen un mecanismo adicional para la colonización de la placenta y la infección: diseminación hematogena. Cuando se consideran las décadas de investigación que muestran el riesgo de la recurrencia del parto prematuro, estos estudios son ideales para aplicarlos al creciente campo de la metagenómica y sus líneas analíticas. Se discuten las implicaciones hacia la identificación de tratamientos innovadores y la prevención del parto prematuro. En suma, hay avances interesantes en la comprensión del papel del microbioma placentario y el parto prematuro en el futuro.

MICROBIOTA DE LA LECHE MATERNA

La glándula mamaria es una glándula de la piel única del reino animal de la clase Mammalia. A pesar de su creciente comprensión del desarrollo histológico y molecular, la fisiología, sus orígenes funcionales y morfológicos han permanecido en terreno especulativo. El propósito de la glándula mamaria es proporcionar al recién nacido grandes cantidades de leche, un fluido corporal único que tiene un doble papel, la nutrición y protección inmunológica. La leche materna es reconocida como el elemento más importante en la programación metabólica e inmunológica de la salud de los recién nacidos después del parto. Los factores que influyen en el microbioma de la leche y el potencial impacto de los microbios en la salud infantil aún no se han descubierto en su totalidad.

La leche materna ganó su superioridad nutricional después de la diversidad de los mamíferos hace

millones de años (55). Este maravilloso líquido contiene varios nutrientes funcionales y de protección, que ayudan a crear el microambiente adecuado para el desarrollo del intestino y su maduración (56,57). La protección se realiza mediante componentes incluidos como las citocinas y factores reguladores del crecimiento. Adicionalmente, la leche materna contiene otros factores tales como la lisozima, lactoferrina, y los oligosacáridos, que ayudan en la prevención de infecciones y favorecen el crecimiento de bacterias beneficiosas.

Además, la leche también es una fuente continua de microbios, sus factores de crecimiento, y sus componentes regulan las interacciones huésped-microbio. Estos factores hacen hincapié en la posición clave de la lactancia materna para conferir protección durante un período crítico en la vida, cuando la leche materna es la única fuente de nutrición del lactante y las defensas inmunitarias del recién nacido, incluyendo la integridad de la barrera intestinal son inmaduras (58-61).

La lactancia materna modifica el desarrollo de la microbiota intestinal infantil (62-64), y la leche materna es reconocida como una de los elementos más importantes del posparto, es moduladora del metabolismo y de la programación inmunológica **relacionada con** la salud del niño (65).

El Proyecto Microbioma Humano (PMH) (36), una empresa importante realizada por el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos, con una misión muy simple: conocer las comunidades bacterianas que viven en y sobre el cuerpo humano, y el impacto potencial que estas comunidades pueden tener en la salud. Cientos de personas donaron todo, desde las heces hasta las secreciones nasales para su estudio. Sin embargo, un sistema clave fue ignorado: la leche humana. Así es, no se estudió el microbioma de la leche humana. Probablemente, esto tuvo que ver con el mito ampliamente aceptado de que la leche materna es estéril, lo que no justificaba estudiar algo sin bacterias. Pero, recientemente se ha confirmado que la leche humana está lejos de ser estéril. El niño promedio consume 800 mL / 27 oz de leche humana, con esto está recibiendo entre 100 000 y 10 000 000 millones de bacterias de la leche humana por día (66).

Afortunadamente, la investigación sobre el microbioma de la leche humana ha continuado a pesar de esta omisión por el PMH. Lo estudios han revelado que existen nueve unidades taxonómicas operacionales, las cuales son especies que están estrechamente relacionadas con base en

el análisis del ADN de las bacterias, ellas son muy comunes en la mayoría de las madres estudiadas hasta la fecha: *Streptococcus*, *Corynebacteria*, *Bradyrhizobiaceae*, *Staphylococcus*, *Serratia*, *Ralstonia*, *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, y *Sphingomonas*. Estos nueve grupos normalmente representan más del 50 % del total de bacterias. Las *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* también son comunes, pero menos universales (66).

La microbiota de la leche parece ser bastante estable (66), aunque algunos factores estudiados parecen intervenir en su composición. Vale la pena señalar el destacado trabajo de investigación realizado en España por Cabrera-Rubio y col. (67). Estudiaron los factores pre y posnatales que potencialmente pueden influir en las comunidades bacterianas que habitan en la leche humana, entre ellos el Índice de masa corporal (IMC), ganancia de peso y el tipo de parto. Realizaron la caracterización microbiana antes del embarazo, durante el mismo y en el posparto, emplearon tecnología de punta: pirosecuenciación y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa. Encontraron cambios del microbioma de la leche humana durante la lactancia. Los predominantes en muestras de calostro fueron *Weissella*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Lactococcus*; mientras que los gérmenes identificados al pasar un mes y los seis meses fueron los de la cavidad oral (por ejemplo, *Veillonella*, *Leptotrichia*, y *Prevotella*), los cuales aumentaron significativamente. La leche de las madres obesas tiende a contener una comunidad bacteriana diferente y menos diversa en comparación con la leche de las madres de peso normal. Las muestras de leche procedentes de pacientes con cesáreas electivas, contenía una comunidad bacteriana diferente a las muestras de leche de las personas con parto vaginal; aquellas con trabajo de parto interrumpido por cesárea, eran semejantes a las de parto vaginal. Lo que sugiere que no es la operación en sí el factor que interviene en este proceso, sino más bien la ausencia de estrés fisiológico o señales hormonales las que podrían influir en el proceso de transmisión de microbios a la leche. Sus resultados indican que las bacterias de la leche no son contaminantes y sugieren que el microbioma de la leche está influenciado por diversos factores que afectan significativamente su composición. Dado que las bacterias presentes en la leche materna se encuentran entre los primeros microbios que entran en el cuerpo humano, estos datos ponen de relieve la necesidad de entender el papel biológico que el microbioma de la leche podría

desempeñar para la salud humana; encontraron más de 700 especies de bacterias en este estudio (67).

Cada vez hay mayor evidencia de que las condiciones estresantes maternas suelen inducir a alteraciones en la microbiota intestinal, hay secreción de hormonas endógenas que modulan la repuesta de defensa e inmunidad, las cuales afectan significativamente la situación fisiológica rutinaria, estos efectos de orden transitorio pueden regresar a la línea de base después de la desaparición del estímulo estresante. Estos eventos son vías que alteran la microbiota durante la gestación o al principio de infancia. El interés en la relación entre el estrés, microbioma humano y el impacto en gestantes y su feto está presente, en particular en la faceta del neuro-desarrollo, pero todavía en una etapa incipiente (68). Los trastornos como la esquizofrenia, ansiedad, depresión y el autismo se han encontrado asociados a la exposición del estrés con fetos en el útero o principios de vida neonatal (69).

La regulación epigenética es otro potencial mediador de los efectos del estrés sobre el desarrollo neurológico a través del microbioma, fue estudiada por Stilling y col., 2014 (70). Esto se refiere a cambios heredables en la expresión de genes, no se debe a cambios en la secuencia del ADN, es modificación epigenética, es un proceso conocido por ser especialmente sensible a las experiencias de la vida temprana. Por lo tanto, las alteraciones del microbioma en el útero y la vida temprana podrían utilizar procesos epigenéticos para ejercer cambios en el comportamiento a largo plazo, tales como el estrés psicosocial. Un creciente cuerpo de literatura apoya un papel importante de la modificación epigenética en la neurobiología de los trastornos psiquiátricos, Tsankova et al., 2007 (71). Pero, ¿cómo podría el microbioma influir en la epigenética?. Los microorganismos están implicados en la descomposición de los nutrientes, y en ese proceso elaboran metabolitos con propiedades neuroactivas, incluyendo aminoácidos y monoaminas, esto ha sido reportado por Lyte y col., 2011 (72). Por otra parte, son una fuente clave de butirato, que es una histona diacetilasa (HDAC), un paso clave en la regulación transcripcional. Queda claro que estas sustancias son capaces de hacer un impacto sustancial en el funcionamiento del sistema nervioso central, y cómo ellas podrían llegar al sistema nervioso central desde la periferia, está abierto al debate y requiere un examen más detenido. Globalmente tenemos un concepto interesante: la capacidad del microbioma para impactar el SNC en desarrollo, y el efecto del

estrés psicosocial; hay más, lo que se deriva de la susceptibilidad del uso de pre y probióticos, que tienen enormes implicaciones tanto para el neuro-desarrollo y otros resultados de salud. Si bien aún queda mucho trabajo para dilucidar estos mecanismos, es enorme la tarea e imprescindible completar, como bien lo señalan Gur TL y col., 2015 (68) y Clarke y col., 2014 (73).

Pero, ¿de dónde proceden las bacterias de la leche? En un principio, se pensó que la microbiota de la leche era realmente una contaminación de la microbiota de la piel. Sin embargo, esto no es correcto. El trabajo de Fernández y col. 2013 (66), nos aporta avances en este campo. La microbiota de la leche contiene algunas de las familias de las bacterias de la piel, pero el estudio de muestras de varios sitios de la piel mamaria y la leche reveló que estas no son de la misma especie y/o género. En cambio, parece que la microbiota de la leche proviene de varios lugares, incluyendo la microflora intestinal materna. La evidencia actual apoya a las células dendríticas como el mecanismo de transferencia probable. Estas células, junto con algunos macrófagos, pueden abrir las uniones estrechas entre las células que forman la barrera intestinal y toman las bacterias que allí viven. Estas células pueden mantener vivas las bacterias durante varios días en los ganglios linfáticos mesentéricos y luego dispersarlas por todo el cuerpo. Las células dendríticas son también exigentes con lo que toman, las bacterias muertas o perlas de látex no activan las células dendríticas inmaduras para la absorción, mientras que las especies comensales, como *Lactobacillus*, muestran altos niveles de unión. Es una ruta endógena, hematógena, denominada *entro-mamaria* (74,75).

Estos conocimientos han permitido la manipulación bucal del microbioma de la leche materna; de esta manera madres que recibieron *Lactobacillus* suplementario de tres tipos: *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. salivarius*, lograron transferencia de estas especies a la leche, esto lo resume Jiménez y col., 2008 (76). Todo lo anterior condujo al uso de estas especies en el tratamiento de la mastitis y evaluar su posible efecto benéfico. Existe la idea de que el microbioma de la leche materna es importante para la salud de la madre. La mastitis, suele causar fuerte dolor y con frecuencia se trata con antibióticos, se caracteriza por una enorme disbiosis del microbioma de la leche materna, una cepa de bacterias patógenas domina la muestra, mientras que el *Lactobacillus* desaparece lo cual fue investigado por Arroyo y col. (77), asignaron al azar 352 mujeres con mastitis en

tres grupos: uno tratado con *L. fermentum*, otro con *L. salivarius*, y un tercero con antibiótico estándar. Los recuentos bacterianos de la leche se obtuvieron para todas las madres en el día 0, es decir antes de iniciar el tratamiento. Todas las madres tenían recuentos bacterianos de 4,35 a 4,47 log₁₀ UFC (unidades formadoras de colonias), casi el doble de los recuentos bacterianos recomendados para la leche de 2,5 log₁₀ UFC. En las madres recibieron 21 días de tratamiento, y los recuentos bacterianos de leche se repitieron el día 21. Las mujeres que recibieron *L. fermentum* tenía recuentos bacterianos promedio de 2,61 log₁₀ UFC; con *L. salivarius* recuentos bacterianos de 2,33 log₁₀ UFC con alivio clínico de mastitis, todas reportaron reducción del dolor. En las demás madres que recibieron antibióticos el resultado no fue tan favorable; el recuento bacteriano promedio fue 3,28 log₁₀ UFC y las puntuaciones de dolor fueron muy superiores. Tres meses más tarde, solo el 8,8 % de las madres que recibieron *L. fermentum* o *L. salivarius* habían experimentado mastitis recurrente, mientras que el 30,1 % de las madres que recibieron antibióticos presentaron recurrencia. Hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de mastitis tratados con antibióticos y probióticos.

De esta manera, parece que la microbiota de leche materna protege a las madres, pero también hay buena evidencia de que protege a sus neonatos. Poco se sabe sobre la microbiota salival de los niños, pero en base a la evidencia preliminar, parece que, como es lógico, tiene cierta superposición a la de la leche, Nasidze y col., 2009. (78). También contribuye a la microbiota del tracto intestinal neonatal, así como el desarrollo de la función inmune en el lactante (66). Los lactantes suplementados con *Lactobacillus fermentum*, el mismo que fue utilizado para el tratamiento de la mastitis, mostraron reducciones significativas en diarreas e infecciones respiratorias en la infancia temprana en comparación con el control de otros lactantes, Maldonado y col., 2012 (79). Muchas de las bacterias de la microbiota de la leche son protectoras de infecciones de la madre y su niño, e incluso pueden estar involucrados en el desarrollo de la tolerancia inmune.

Hay más, aun cuando no lacte, la mama tiene su propio microbiota, de acuerdo con el trabajo de Gregor Reid, un microbiólogo de la Universidad de Western y Lawson Health Research Institute en Londres, Ontario; el sospecha que las bacterias en la mama podrían desempeñar un papel en las enfermedades,

como el cáncer. Un estudio reveló que los niveles de *Escherichia coli* fueron más altos en las mujeres con cáncer que en mujeres sanas. Ella se ha asociado con la promoción del cáncer en otras partes del cuerpo, pero los autores advierten que los resultados, aunque sugerentes, son todavía demasiado preliminares como para inferir una causa efecto (80). Para buscar un vínculo entre la microbiota de la mama y la salud se requiere caracterizar lo que es normal, que no es tan fácil, y en esa fase están las investigaciones actualmente en el mundo. Algo que está claro es que un microbioma saludable, ya sea en el niño o la madre, alberga una diversidad de bacterias. De manera general, parece que la diversidad es algo beneficioso, y probablemente si ella existe habrá más salud.

SUGERENCIAS A CONSIDERAR

Los diversos estudios e investigaciones sobre Microbioma Perinatal, orientan hacia ciertas conductas que deben ser analizadas y confirmadas con estudios futuros, se necesitan evidencias científicas para su implementación definitiva.

Entre ellas tenemos: en *el período pre-concepción y el embarazo*: aquí se cumple el dicho popular de que “somos lo que comemos”, y en consecuencia “la microbiota que usted alimenta”. Además tiene importancia el peso inicial adecuado de la madre y su incremento durante la gestación. En vista de la importancia central de la microbiota intestinal en diversos procesos inmunológicos; su desequilibrio o disbiosis, se ha incriminado en enfermedades durante toda la vida, lo ideal, es que las futuras gestantes necesitan ir al embarazo con una microbiota sana y luego mantenerla, conservando una alimentación saludable. Por supuesto, deben evitar o minimizar situaciones de estrés, consumo de tabaco, uso excesivo de microbicidas de la piel, antibioterapia, y considerar empleo de probióticos con orientación facultativa.

Durante *el período de parto*: existen diferencias del microbioma del neonato según si el parto es vaginal o cesárea, además de los cambios que se pueden suceder con el uso de antibióticos profilácticos o terapéuticos. En consecuencia, se sugiere procurar el parto vaginal de ser posible, disminuir el contacto con ambientes externos hospitalarios y con personal de esos centros, alentar precozmente el contacto materno y la lactancia. Se estudia actualmente la inoculación del neonato con hisopos untados con microbiota vaginal materna.

En el período neonatal: la formación de la

microbiota del neonato continúa a través del contacto con el medio ambiente y la lactancia. Existen diferencias significativas en la microbiota de los lactantes alimentados con leche materna en comparación con los alimentados con fórmulas lácteas. En vista de esto, se sugiere: lactancia exclusiva materna, contacto de piel materna frecuente, manipulación mínima, evitar personal extraño, así como bañar al neonato durante las primeras 24 horas después del nacimiento; evitar uso de antibioterapia, y considerar uso facultativo de probióticos en casos especiales.

A MANERA DE CONCLUSIÓN

Sin tener una evidencia científica definitiva actual y con los resultados previos referidos, se puede plantear, provisionalmente, algunos hechos que conducen a la formación del microbioma humano el cual se inicia con una programación intrauterina y otra extrauterina. En la fase intra-uterina el feto se desarrolla en un entorno íntimo al microbioma materno y sus diversos microbiotas. Es factible que, progresivamente, va adquiriendo una carga microbiana a medida que avanza la gestación y marcha hacia el desarrollo de su capacitación inmunológica defensiva, se están formando sus microbiotas. Los órganos del embarazo: placenta, líquido amniótico y cordón no son estériles (17-21,52,81), es factible que la vía hematogena y deglución de líquido amniótico sea utilizada. En la fase extra-uterina al nacer, continúa el proceso formativo, intervienen las vías de nacimiento (parto-cesárea), el contacto directo materno y tipo de lactancia, el medio ambiente lo complementará. Al finalizar el primer año la microbiota intestinal tiene un perfil característico tipo adulto. En su vida futura, irá formando su propio microbioma, el cual será semejante al de sus padres y su entorno.

Es conveniente recordar que existe la transmisión vertical de simbioses en invertebrados, los cuales aportan funciones vitales (25-28), este evento puede guardar similitud con los seres humanos. En fecha reciente hay publicaciones que revelan adicionalmente dos regiones fetales que manifiestan no ser estériles, utilizaron metodología metagenómica. El primer análisis estudió el meconio obtenido dentro de las 48 horas del nacimiento, estableció que el tracto gastrointestinal de la mayoría de los recién nacidos contiene una gran variedad de especies bacterianas (82). El segundo, analizó aspirados traqueales

inmediatamente después del nacimiento en neonatos prematuros, mostrando microorganismos (83). Pareciera que la vida intrauterina no está alejada del mundo microbiano. Es fascinante, que esta idea sea corroborada en el futuro.

La civilización moderna se enfrenta a un aumento progresivo de los problemas de salud mediados por procesos inmunes o inflamatorios, tales como enfermedad alérgica, trastornos autoinmunes y obesidad. Existe una amplia versión de hipótesis en salud, se ha introducido para enfatizar la interrelación íntima entre la dieta, sistema inmunológico, microbioma, y los orígenes de las enfermedades humanas. El infante actualmente, en especial cuando el parto es por cesárea y sin la recomendación de solo lactancia materna, puede carecer de la suficiente estimulación del sistema inmune de la mucosa intestinal para generar un medio inmune tolero-génico y además ser propensos a desarrollar afecciones inflamatorias crónicas. Estas desviaciones pueden tomar la forma de la enfermedad alérgica o autoinmune, o predisponer al niño a una mayor ganancia de peso y la obesidad. Por otra parte, la evidencia apoya el papel de los primeros contactos microbianos con la promoción y el mantenimiento de una respuesta inmune equilibrada en la vida temprana y los hallazgos recientes sugieren que el contacto microbiano comienza antes del nacimiento y está conformado por el microbioma perinatal. Este microbioma puede llegar a ser un objeto seguro y eficaz para las intervenciones que disminuyan el riesgo de enfermedades alérgicas y otras no transmisibles en las generaciones futuras. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la interacción temprana con los microbios podría ofrecer una estrategia aplicable a prevenir las enfermedades, Collado y col., 2015 (84).

Estamos en la fase descriptiva del microbioma humano, es un campo emergente y donde quedan muchas preguntas, se ha planteado el microbioma perinatal, constituido por las comunidades microbianas de la placenta, la vagina y la leche materna, las cuales son importantes para el desarrollo materno, fetal e infantil (85,86).

Aunque los beneficios de los microbios no eran desconocidos para la ciencia, la importancia del microbioma humano y la salud humana, es una idea que está tomando importancia y genera un exceso de preguntas. En los últimos años, el estudio del microbioma se ha multiplicado, ya que los investigadores exploran con entusiasmo que hacen estas enormes poblaciones de microbios dentro y sobre

nuestros cuerpos, y cómo pueden ser manipuladas para promover la salud y combatir la enfermedad.

Dejamos constancia que toda la información contenida en esta revisión es una selección de los trabajos de investigación más relevantes de acuerdo a nuestros criterios. Con toda seguridad, están por devenir prontamente nuevas y trascendentes investigaciones en este apasionante campo de la medicina del siglo XXI, en la cual se está avizorando solo la “punta de iceberg”.

REFERENCIAS

- Sahil Khanna, Pritish K. A Clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc.* 2014;89(1):107-114.
- Ursell L, Metcalf J, Wegener L, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev.* 2012;70(Suppl 1):38-44.
- Backhed F, Fraser CM, Ringel Y. Defining a healthy human gut microbiome: Current concepts, future directions, and clinical applications. *Cell Host Microbe.* 2012;12(5):611-622.
- Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science.* 2006;312:1355-1359.
- Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95:6578-6583.
- Murgas Torrazza R, Neu J. The developing intestinal microbiome and its relationship to health and disease in the neonate. *J Perinatol.* 2011;31(Suppl 1):29-34.
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JI. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006;444:1022-1023.
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature.* 2006;444:1027-1031.
- Round JL, Lee SM, Li J, Tran G, Jabri B. The Toll-like receptor 2 pathway establishes colonization by a commensal of the human microbiota. *Science.* 2011;332:974-977.
- Ivanov II, Frutos R de L, Manel N, Yoshinaga K, Rifkin DB. Specific microbiota direct the differentiation of IL-17-producing T-helper cells in the mucosa of the small intestine. *Cell Host Microbe.* 2008;4:337-349.
- Ivanov II, Atarashi K, Manel N, Brodie EL, Shima T. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell.* 2009;139:485-498.
- Ling Z, Kong J, Jia P, Wei C, Wang Y. Analysis of oral microbiota in children with dental caries by PCR-DGGE and barcoded pyrosequencing. *Microb Ecol.* 2010;60:677-690.
- Colombo AV, Silva CM, Haffajee A, Colombo AP. Identification of oral bacteria associated with crevicular epithelial cells from chronic periodontitis lesions. *J Med Microbiol.* 2006;55:609-615.
- Candela M, Perna F, Carnevali P, Vitali B, Ciati R. Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: Adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production. *Int J Food Microbiol.* 2008;125:286-292.
- Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature.* 2011;469:543-547.
- Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol.* 2007;5:e177.
- Bearfield C, Davenport ES, Sivapathasundaram V, Allaker RP. Possible association between amniotic fluid micro-organism infection and microflora in the mouth. *BJOG.* 2002;109:527-533.
- Di Giulio DB, Romero R, Amogan HP, Kusanovic JP, Bik EM. Microbial prevalence, diversity and abundance in amniotic fluid during preterm labor: A molecular and culture-based investigation. *PLoS ONE.* 2008;3:e3056.
- Di Giulio DB. Diversity of microbes in amniotic fluid. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2012;17:2-11.
- Jiménez E, Fernández L, Marín ML, Martín R, Odriozola JM. Isolation of commensal bacteria from umbilical cord blood of healthy neonates born by cesarean section. *Curr Microbiol.* 2005;51:270-274.
- Jiménez E, Marín ML, Martín R, Odriozola JM, Olivares M. Is meconium from healthy newborns actually sterile? *Res Microbiol.* 2008;159:187-193.
- Domínguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:11971-11975.
- Gronlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Gronroos T. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy.* 2007;37:1764-1772.
- Martin V, Maldonado-Barragan A, Moles L, Rodríguez-Banos M, Campo RD. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J Hum Lact.* 2012;28:36-44.

MICROBIOTA PERINATAL

25. Buchner P. Endosymbiosis of animals with plant microorganisms. New York: Interscience Publishers; 1965.
26. Douglas AE. Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: Aphids and their symbiotic bacteria Buchnera. *Annu Rev Entomol.* 1998;43:17-37.
27. Feldhaar H, Gross R. Insects as hosts for mutualistic bacteria. *Int J Med Microbiol.* 2009;299:1-8.
28. Douglas AE. Mycetocyte symbiosis in insects. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1989;64:409-434.
29. Ma B, Forney LJ, Ravel J. Vaginal microbiome: Rethinking health and disease. *Annu Rev Microbiol.* 2012;66:371-389.
30. Döderlein A. Das Scheidensekret und seine Bedeutung fuerdas Puerperal fieber. Die Arten des Scheidensekretes. 1892;11:699-711.
31. Thomas S. Döderlein Bacillus: *Lactobacillus acidophilus*. *J Infect Dis.* 1928;43:218-227.
32. Rogosa M, Sharpe ME. Species differentiation of human vaginal lactobacilli. *J Gen Microbiol.* 1960;23:197-201.
33. Linhares IM, Summers PR, Larsen B, Giraldo PC, Witkin SS. Contemporary perspectives on vaginal pH and lactobacilli. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(120):e1-e5.
34. Hickey RJ, Zhou X, Pierson JD, Ravel J, Forney LJ. Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective. *Transl Res.* 2012;160:267-282.
35. Brotman RM, Ravel J, Bavoil PM, Gravitt PE, Ghanem KG. Microbiome, sex hormones, and immune responses in the reproductive tract: Challenges for vaccine development against sexually transmitted infections. *Vaccine.* 2013; Epub 2013/10/19.
36. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature;* 2007;449:804-810.
37. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson GR, Collins MD. Direct analysis of genes encoding 16S rRNA from complex communities reveals many novel molecular species within the human gut. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:4799-4807.
38. Ye Y. Identification and Quantification of Abundant Species from Pyrosequences of 16S rRNA by Consensus Alignment. *Proceedings (IEEE Int Conf Bioin Biomed).* 2011;2010:153-157.
39. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SS, McCulle SL. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2011;108(Suppl 1):4680-4687.
40. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991;29:297-301.
41. Denney JM, Culhane JF. Bacterial vaginosis: A problematic infection from both a perinatal and neonatal perspective. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2009;14:200-203.
42. Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, De Backer E, Temmerman M, Vaneechoutte M. Longitudinal analysis of the vaginal microflora in pregnancy suggests that *L. crispatus* promotes the stability of the normal vaginal microflora and that *L. gasseri* and/or *L. iners* are more conducive to the occurrence of abnormal vaginal microflora. *BMC Microbiol.* 2009;9:116.
43. Hernandez-Rodriguez C, Romero-Gonzalez R, Albani-Campanario M, Figueroa-Damian R, Meraz-Cruz N, Hernandez-Guerrero C. Vaginal microbiota of healthy pregnant Mexican women is constituted by four *Lactobacillus* species and several vaginosis-associated bacteria. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2011;2011:851485.
44. Aagaard K, Riehle K, Ma J, Segata N, Mistretta TA, Coarfa C. A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy. *PLoS One.* 2012;7:e36466.
45. Romero R, Hassan S, Gajer P, Tarca A, Douglas W, Fadrosh D. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome.* 2014;2:10. doi:10.1186/2049-2618-2-4.
46. Leitich H, Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007;21:375-390.
47. Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R, Van den Bosch T, Riphagen I. Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG.* 2009;116:1315-1324.
48. Andrews WW, Klebanoff MA, Thom EA, Hauth JC, Carey JC, Meis PJ. Midpregnancy genitourinary tract infection with *Chlamydia trachomatis*: Association with subsequent preterm delivery in women with bacterial vaginosis and *Trichomonas vaginalis*. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194:493-500.
49. Pettker CM, Buhimschi IA, Magloire LK, Sfakianaki A K, Hamar B D, Buhimschi CS. Value of placental microbial evaluation in diagnosing intra-amniotic infection. *Obstet Gynecol.* 2007;109:739-749.
50. Satokari R, Gronroos T, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E. Bifidobacterium and *Lactobacillus* DNA in the human placenta. *Letters in Applied Microbiology.* 2009;48:8-12.
51. Stout MJ, Conlon B, Landeau M, Iris Lee, Bower C, Zhao Q. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm

- gestations. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208:226.e1-7.
52. Aagaard K, Ma J, Antony K M, Ganu R, Petrosino J, Versalovic J. The placenta harbors a unique microbiome. *Sci Transl Med*. 2014;6:237ra65.
 53. Prince A, Antony K, Chu D, Aagaard K. The microbiome, parturition, and timing of birth: More questions than answers. *J Reprod Immunol*. 2014;104:12-19.
 54. Cao B, Stout M, Lee I, MD, Mysorekar I. Placental Microbiome and Its Role in Preterm Birth. *Neoreviews*. 2014;15(12):e537-e545.
 55. Oftedal OT. The mammary gland and its origin during synapsid evolution. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2002;7:225-252.
 56. Petherick A. Development: Mother's milk: A rich opportunity. *Nature*. 2010;468(Suppl):5-7.
 57. Walker A. Breast milk as the gold standard for protective nutrients. *J Pediatr*. 2010;156(Suppl):3-7.
 58. Le Bouder E, Rey-Nores JE, Raby AC, Affolter M, Vidal K, Thornton CA. Modulation of neonatal microbial recognition: TLR mediated innate immune responses are specifically and differentially modulated by human milk. *J Immunol*. 2006;176:3742-3752.
 59. Brandtzaeg P. "ABC" of mucosal immunology. *Nestle Nutr Workshop Ser Pediatr Program*. 2009;64:23-38.
 60. Stockinger S, Hornef MW, Chassin C. Establishment of intestinal homeostasis during the neonatal period. *Cell Mol Life Sci*. 2011;68:3699-3712.
 61. Hoppu U, Isolauri E, Laakso P, Matomaki J, Laitinen K. Probiotics and dietary counseling targeting maternal dietary fat intake modifies breast milk fatty acids and cytokines. *Eur J Nutr*. 2012;51:211-219.
 62. Grönlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Grönroos T, Salminen S. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy*. 2007;37:1764-1772.
 63. Martín R, Jiménez E, Heilig H, Fernández L, Marin ML, Zoetendal EG, Rodríguez JM. Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial population by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative real-time PCR. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75:965-969.
 64. Roger LC, Costabile A, Holland DT, Hoyles L, McCartney AL. Examination of faecal *Bifidobacterium* populations in breast- and formula-fed infants during the first 18 months of life. *Microbiology*. 2010;156:3329-3341.
 65. Aaltonen J, Ojala T, Laitinen K, Poussa T, Ozanne S, Isolauri E. Impact of maternal diet during pregnancy and breastfeeding on infant metabolic programming: A prospective randomized controlled study. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65:10-19.
 66. Fernández L, Langa S, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Martín R, Rodríguez JM. The human milk microbiota: Origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Research*. 2013;69(1):1-10.
 67. Cabrera-Rubio R, Collado MC, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E, Mira A. The human milk microbiome changes over lactation and is shaped by maternal weight and mode of delivery. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(3):544-551.
 68. Gur T, Baran, Worly B, Bailey MT. Stress and the Commensal. Microbiota: Importance in parturition and infant neurodevelopment. *Front Psychiatry*. 2015;6:5. doi:10.3389/fpsy.2015.00005.
 69. Bale T L, Baram T Z, Brown A S, Goldstein J M, Insel T R, McC. Early life programming and neurodevelopmental disorders. *Biol Psychiatry*. 2010;68:314-319.
 70. Stilling R M, Dinan T G, Cryan J F. Microbial genes, brain & behavior —epigenetic regulation of the gut— brain axis. *Genes Brain Behav*. 2014;13:69-86.
 71. Tsankova N, Renthal, Kumar, A, Nestler E J. Epigenetic regulation in psychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci*. 2007;8:355-367.
 72. Lyte M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays*. 2011;33:574-581.
 73. Clarke G, Stilling RM, Kennedy PJ, Stanton C, Cryan JF, Dinan TG. Minireview: Gut microbiota: The neglected endocrine organ. *Mol Endocrinol*. 2014;28(8):1221-1238.
 74. Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, Francolín M, Rotta G, Bonasio R. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria. *Nature Immunology*. 2001;2:361-267.
 75. Collado M, Cernada M, Bätüerl Ch, Vento M, G. Microbial ecology and host-microbiota interactions during early life stages. *Gut Microbes*. 2012;3(4):352-365.
 76. Jiménez E, Fernández L, Maldonado A, Martín R, Olivares M, Xaus J. Oral administration of lactobacilli strains isolated from breast milk as an alternative for the treatment of infectious mastitis during lactation. *Applied and Environment Microbiology*. 2008;74:4650-4655.
 77. Arroyo R, Martín V, Maldonado A, Jiménez E, Fernández L, Rodríguez JM. Treatment of infectious mastitis during lactation: Antibiotics versus oral administration of lactobacilli isolated from breast milk. *Clinical Infectious Diseases*. 2010;50:1551-1558.
 78. Nasidze I, Li J, Quinque D, Tang K, Stoneking M. Global diversity in the human salivary microbiome. *Genome Research*. 2009;19:636-643.

MICROBIOTA PERINATAL

79. Maldonado J, Canabate F, Sempere L, Vela F, Sánchez AR, Narbona E. Human milk probiotic *Lactobacillus fermentum* CECT5716 reduces the incidence of gastrointestinal and upper respiratory tract infections in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54:55-61.
80. Urbaniak C, Cummins J, Brackstone M, Macklaim JM, Gloor G B, Baban. Bacterial microbiota of human breast tissue. *Appl Environ Microbiol*. March 2014, doi: 10.1128/AEM.00242-14.
81. Faneite P. El Microbioma Humano. *Microbiota placentaria*. *Rev Col Salud Libre*. 2014;9(2):41-47.
82. Ardisson AN, de la Cruz DM, Davis-Richardson AG, Rechcigl KT, Li N, Drew JC. Meconium microbiome analysis identifies bacteria correlated with premature birth. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e90784
83. Lohmann P, Luna R, Hollister E, Devaraj S, Mistretta T, Stephen E. W. The airway microbiome of intubated premature infants: Characteristics and changes that predict the development of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Research*. 2014;76:294-301.
84. Collado M, Rautava S, Isolauri E, Salminen S. Gut microbiota: A source of novel tools to reduce the risk of human disease? *Pediatr Res*. 2015;77(1-2):182-188.
85. Payne M, Bayatibojakhi S. Exploring preterm birth as a polymicrobial disease: An overview of the uterine microbiome. *Frontiers in Immunology*. www.frontiersin.org. 2014;5(595):1-15.
86. Kerry Grens. The maternal microbiome. *The Scientist*. [Consultada 7 febrero 2015]. Disponible en: <http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/40038/title/The-Maternal-Microbiome/>