

Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad

F. Guarner

Unidad de Investigación de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

Resumen

El término “microflora” o “microbiota” intestinal hace referencia al ecosistema microbiano que coloniza el tracto gastrointestinal. Los instrumentos de biología molecular desarrollados recientemente sugieren que todavía se ha de describir una parte sustancial de las comunidades bacterianas del intestino humano. No obstante, están bien documentados la relevancia y el impacto de las bacterias residentes en la fisiología y la patología del huésped. Las principales funciones de la microflora intestinal incluyen (1) actividades metabólicas que se traducen en recuperación de energía y nutrientes, y (2) protección del huésped frente a invasión por microorganismos extraños. Las bacterias intestinales desempeñan un papel esencial en el desarrollo y la homeostasis del sistema inmunitario. Los folículos linfoides de la mucosa intestinal son áreas principales para la inducción y la regulación del sistema inmune. Por otra parte, se dispone de evidencias que implican a la microbiota intestinal en ciertos procesos patológicos, incluyendo el fallo multi-orgánico, el cáncer de colon y la enfermedad inflamatoria intestinal.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:14-9)

Palabras clave: *Microflora. Microbiota. Flora intestinal.*

Introducción

El tracto gastrointestinal constituye la principal superficie de intercambio y comunicación entre el medio externo y el medio interno. En el individuo adulto la mucosa gastrointestinal alcanza una superficie de 300 a 400 metros cuadrados (considerando la superficie total, con las vellosidades desplegadas), y está dotada de estructuras y funciones (sensores, receptores, glándulas, secreciones, actividad mecánica, etc.) específicamente adaptadas al reconocimiento analítico y bio-

Correspondencia: Francisco Guarner.
Unidad de Investigación de Aparato Digestivo.
Hospital Universitari Vall d'Hebron.
Passeig Vall d'Hebron, 119-129.
08035 Barcelona.
E-mail: fguarner@vhebron.net

Recibido: 01-II-2007.
Aceptado: 13-III-2007.

ROLE OF INTESTINAL FLORA IN HEALTH AND DISEASE

Abstract

The terms intestinal “microflora” or “microbiota” refer to the microbial ecosystem colonizing the gastrointestinal tract. Recently developed molecular biology instruments suggest that a substantial part of bacterial communities within the human gut still have to be described. The relevance and impact of resident bacteria on the host physiology and pathology are, however, well documented. The main functions of intestinal microflora include (1) metabolic activities translating into energy and nutrients uptake, and (2) host protection against invasion by foreign microorganisms. Intestinal bacteria play an essential role in the development and homeostasis of the immune system. Lymphoid follicles within the intestinal mucosa are the main areas for immune system induction and regulation. On the other hand, there is evidence implicating intestinal microbiota in certain pathological processes including multi-organ failure, colon cancer, and inflammatory bowel disease.

(*Nutr Hosp.* 2007;22:14-9)

Key words: *Microflora. Microbiota. Intestinal flora.*

químico de las sustancias que transitan por el tubo digestivo. Como resultado de la actividad del tracto gastrointestinal, el individuo obtiene dos importantes beneficios: *nutrición*, por la digestión y absorción de nutrientes; y también *defensa*, por reconocimiento de elementos foráneos y desarrollo de sistemas de prevención y rechazo de posibles agresiones desde el mundo exterior.

En años recientes se han adquirido suficientes conocimientos para poder afirmar con rotundidad que ambas funciones dependen no sólo de las estructuras propias del tubo digestivo (barrera mucosa, glándulas secretoras, sistema inmune de las mucosas) sino también de la presencia y actividad de las comunidades microbianas que colonizan el intestino¹. La microflora intestinal es un órgano más, perfectamente integrado en la fisiología del individuo². Los dos elementos funcionales (tubo digestivo y microflora) son interdependientes y su equilibrio condiciona la homeostasis del individuo dentro de su entorno ambiental.

Ecología Intestinal

El intestino humano es el hábitat natural de una población numerosa, diversa y dinámica de microorganismos, principalmente bacterias, que se han adaptado a la vida en las superficies mucosas o en la luz del intestino^{3,4}. El término "microflora" o "microbiota" hace referencia a la comunidad de microorganismos vivos reunidos en un nicho ecológico determinado. El ecosistema microbiano del intestino incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal y una serie variable de microorganismos vivos que transitan temporalmente por el tubo digestivo⁴. Las bacterias nativas se adquieren al nacer y durante el primer año de vida, mientras que las bacterias en tránsito se ingieren continuamente a través de alimentos, bebidas, etc.

La población microbiana del intestino humano incluye unos 100 billones de bacterias de unas 500 a 1.000 especies distintas^{5,6}. El estómago y el duodeno albergan un reducido número de microorganismos que se adhieren a la superficie mucosa o en tránsito, típicamente menos de 10^3 células bacterianas por g de contenido. Las secreciones ácidas, biliares y pancreáticas destruyen la mayor parte de microorganismos ingeridos, y la actividad motora propulsiva impide una colonización estable de la luz. El número de bacterias a lo largo del yeyuno y el íleon aumenta progresivamente, desde alrededor de 10^4 en el yeyuno hasta 10^7 unidades formadoras de colonias por g de contenido en el extremo ileal, con un predominio de aerobios Gram negativos y algunos anaerobios obligados. En comparación, el intestino grueso está densamente poblado de anaerobios y los recuentos de bacterias alcanzan densidades de alrededor de 10^{11} unidades formadoras de colonias por g de contenido luminal (concentraciones 10.000 veces mayores que en la luz ileal). En el colon el tiempo de tránsito es lento lo que brinda a los microorganismos la oportunidad de proliferar fermentando los sustratos disponibles derivados de la dieta o de las secreciones endógenas.

El análisis bacteriológico convencional de la flora fecal por aislamiento de bacterias en medios de crecimiento selectivo demuestra que las bacterias anaeróbicas estrictas superan en número a las anaeróbicas por un factor de 100 a 1.000. Los géneros predominantes son *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium* y diversos cocos grampositivos anaeróbicos. No obstante, más del 50% de las células bacterianas observadas mediante examen microscópico de muestras fecales no puede crecer en medios de cultivo⁷, y por tanto la información que han proporcionada los estudios de microbiología clásica es muy limitada. Se han establecido técnicas de biología molecular para caracterizar las bacterias no cultivables y en la actualidad se están identificando cepas no conocidas previamente^{7,8}. Estas técnicas muestran diferencias en las especies predominantes entre el tercio proximal y distal del colon, y entre las comunidades mucosa y fecal⁹.

La gran biodiversidad de especies dentro del ecosistema intestinal facilita la vida y el desarrollo del conjunto, que incluye no sólo a las comunidades bacterianas sino también al anfitrión humano. Los mamíferos criados bajo condiciones estrictas de asepsia, no adquieren su flora natural y tienen un desarrollo anormal: hay deficiencias en el aparato digestivo (pared intestinal atrófica y motilidad alterada), metabolismo de bajo grado (corazón, pulmones e hígado de bajo peso, con gasto cardíaco bajo, baja temperatura corporal y cifras elevadas de colesterol en sangre), y sistema inmune inmaduro (niveles bajos de inmunoglobulinas, sistema linfático atrófico, etc.). Se habla de simbiosis cuando la relación entre dos o más especies vivas conlleva beneficios para al menos una de ellas sin que exista perjuicio para ninguna de las otras¹⁰. La relación del anfitrión con su flora es de simbiosis: el anfitrión proporciona hábitat y nutrición, y la microbiota contribuye de modo importante a la fisiología del anfitrión.

Funciones de la Microbiota

Los estudios con colonización intestinal controlada han permitido identificar tres funciones primarias de la microflora intestinal: (a) *funciones de nutrición y metabolismo*, como resultado de la actividad bioquímica de la flora, que incluyen recuperación de energía en forma de ácidos grasos de cadena corta, producción de vitaminas y efectos favorables sobre la absorción de calcio y hierro en el colon; (b) *funciones de protección*, previniendo la invasión de agentes infecciosos o el sobrecrecimiento de especies residentes con potencial patógeno, y (c) *funciones tróficas* sobre la proliferación y diferenciación del epitelio intestinal, y sobre el desarrollo y modulación del sistema inmune⁸.

Funciones Metabólicas

La flora entérica metaboliza los sustratos o residuos dietéticos no digeribles, el moco endógeno y los detritus celulares. La diversidad de genes en la comunidad microbiana (microbioma) proporciona una gran variedad de enzimas y vías bioquímicas distintas de los recursos propios del anfitrión¹¹. La fermentación de hidratos de carbono no digeribles por el anfitrión tiene lugar fundamentalmente en ciego y colon derecho. Constituye una fuente de energía importante para la proliferación bacteriana, y además produce ácidos grasos de cadena corta que el anfitrión puede absorber. Esto se traduce en recuperación de energía de la dieta y favorece la absorción de iones (Ca, Mg, Fe) en el ciego. Las funciones metabólicas también incluyen la producción de vitaminas (K, B₁₂, biotina, ácido fólico y pantoténico) y la síntesis de aminoácidos a partir del amoníaco o la urea¹². El metabolismo anaeróbico de los péptidos y proteínas (putrefacción) se produce en segmentos más distales del colon, y también es fuente de ácidos grasos de cadena corta, pero, al mis-

mo tiempo, genera una serie de sustancias potencialmente tóxicas incluyendo amoníaco, aminas, fenoles, tioles e indoles^{13,14}.

Funciones de Protección

La función defensiva de la microflora incluye el efecto “barrera”, por el que las bacterias que ocupan un espacio o nicho ecológico impiden la implantación de bacterias extrañas al ecosistema. Además, la microbiota propia impide el sobrecrecimiento de bacterias oportunistas que están presentes en el intestino pero con proliferación restringida. El equilibrio entre las especies bacterianas residentes confiere estabilidad al conjunto de la población microbiana. El efecto de barrera se debe a la capacidad de ciertas bacterias para segregar sustancias antimicrobianas (bacteriocinas), que inhiben la proliferación de otras bacterias, y también a la competición entre bacterias por los recursos del sistema, ya sea nutrientes o espacios ecológicos^{15,16}.

Funciones Tróficas

Las bacterias intestinales pueden controlar la proliferación y diferenciación de las células epiteliales¹⁷. En las criptas colónicas de animales criados en condiciones de estricta asepsia se observa una disminución del “turn-over” de células epiteliales en comparación con animales control colonizados por flora convencional. La diferenciación celular en el epitelio está sumamente influida por la interacción con los microorganismos residentes como se demuestra por la expresión de una diversidad de genes en los animales mono-asociados a cepas bacterianas específicas¹⁰. Las bacterias también desempeñan un papel esencial en el desarrollo del sistema inmunitario. Los animales criados en condiciones de asepsia estricta muestran baja concentración de células linfoides en la mucosa del intestino delgado, la estructura de los folículos linfoides está atrofiada y la concentración de inmunoglobulinas circulantes es anormalmente baja. Inmediatamente después de la exposición a flora convencional, aumenta el número de linfocitos de la mucosa, los centros germinales crecen en número y tamaño, apareciendo rápidamente en los folículos linfoides y la lámina propia células productoras de inmunoglobulinas^{18,19}. Paralelamente, se observa un aumento de la concentración sérica de inmunoglobulinas.

Microbiota Intestinal y Sistema Inmune

El tracto gastrointestinal constituye una interfase muy sensible para el contacto y comunicación entre el individuo y el medio externo. Para la perfecta homeostasis, el sistema tiene que distinguir claramente entre patógenos o patógenos potenciales, de un lado, y microbios comensales en simbiosis con el anfitrión, de otro. En el primer caso, el organismo debe dotarse de

elementos de defensa adecuados, mientras que en el segundo caso, el anfitrión tiene que saber tolerar para obtener el beneficio de la simbiosis. Las interacciones entre los microorganismos, el epitelio y los tejidos linfoides intestinales son múltiples, diversas en sus características y continuas, de modo que remodelan constantemente los mecanismos locales y sistémicos de la inmunidad adaptándolos al ambiente microbiano²⁰.

La célula epitelial juega un papel muy importante en la logística del sistema inmune. Su posición en primera línea y en contacto con la luz intestinal es crucial para el reconocimiento inicial de moléculas foráneas y para la generación de señales que se transmiten a las células inmunocompetentes del tejido subyacente. La activación de los mecanismos de defensa depende en primer lugar del reconocimiento rápido de riesgo a través de receptores innatos o pre-formados que detectan componentes estructurales comunes a bacterias o virus, pero ausentes en la célula eucariota. Esto se realiza en el medio extracelular mediante los Toll-like-receptors (TLR) de la membrana, y en el medio intracelular mediante las proteínas tipo NOD del citosol²¹. La activación de estos sensores por invasión bacteriana genera inmediatamente señales que convergen en la migración de factores de transcripción (NF-kappaB y otros) al núcleo celular, donde activan la expresión de genes responsables de la síntesis de proteínas proinflamatorias²², básicamente citoquinas y enzimas inducibles con capacidad para generar mediadores inflamatorios. De este modo, las células epiteliales emiten señales con capacidad de atraer y activar leucocitos, aumentar el flujo sanguíneo, incrementar la permeabilidad capilar, etc. Los enterocitos pueden actuar como células presentadoras de antígenos, sugiriendo que su rol no se limita a la defensa innata sino que también participan en el escalón inicial de las respuestas de tipo adquirido (expansión de clones linfocitarios específicos y generación de anticuerpos)²³.

El sistema inmune de las mucosas cuenta con tres compartimentos diferenciados anatómicamente: estructuras organizadas (placas de Peyer y folículos linfoides), lámina propia y epitelio superficial²³. Las estructuras organizadas son lugares de inducción, mientras que la lamina propia y el compartimento epitelial contienen células maduras y efectoras. Las estructuras organizadas están cubiertas por epitelio especializado (células M, de morfología característica), que transporta micro-organismos o estructuras antigénicas desde la luz hasta el tejido linfoide subyacente. *La inducción de respuestas inmunes de tipo adquirido es un fenómeno que tiene lugar principalmente en las estructuras foliculares de la mucosa intestinal.* Los antígenos procesados se presentan a linfocitos T en estado “naïve”, y se activa la expansión de los clones más afines al antígeno. La expansión clonal de células T da lugar a linfocitos “helper” (células Th) de distinto fenotipo: Th1, Th2 o T reguladoras (Th3, Tr1 o células CD4-CD25). Las células T reguladoras juegan un papel central en inmunotolerancia porque segregar citoquinas re-

gadoras, de carácter antiinflamatorio (IL-10, TGF- β), en respuesta a antígenos que se reconocen como “comensales” y no patógenos^{24,25}. En condiciones normales, la mucosa intestinal contiene pocas células T activadas de fenotipo Th1, y predominan las células T reguladoras. Este contexto de inmunotolerancia permite la exposición continua a una carga antigénica abrumadora (bacterias de la flora, comida), sin que por ello se desencadenen reacciones inflamatorias que lesionarían al tejido intestinal propio (fig. 1).

La interacción con el mundo microbiano en la luz intestinal parece ser un mecanismo primario en la conformación del estado de inmunotolerancia activa mediado por células T reguladoras²⁵. Algunas anomalías en el desarrollo del sistema inmune podrían deberse a defectos en la interacción de la microbiota con los compartimientos inmuno-competentes de la mucosa. De acuerdo con la hipótesis de la higiene, en las sociedades occidentalizadas la incidencia cada vez mayor de atopias (eczema, asma, rinitis, alergias), enfermedad inflamatoria intestinal y trastornos autoinmunes (esclerosis múltiple, diabetes tipo I) podría explicarse por una disminución de la carga microbiana en los primeros meses de vida. Hay evidencias que sugieren que la exposición a microorganismos no patógenos, incluyendo helmintos, transmitidos por los alimentos y por vía orofecal ejerce un impacto homeostático²⁶.

Disfunciones de la Microbiota Intestinal

Diversos procesos se asocian con cambios en la composición o función metabólica de la flora entéri-

ca⁴. Por ejemplo, diversas enfermedades diarreicas agudas se deben a patógenos que proliferan y tienen características invasivas o producen toxinas. La diarrea asociada a los antibióticos se debe a un desequilibrio en la composición de la flora intestinal con la proliferación de especies patógenas, como algunas cepas de *Clostridium difficile* productoras de toxinas que causan colitis pseudomembranosa. Se considera que las bacterias intestinales desempeñan un papel en la patogenia del síndrome del intestino irritable. En pacientes con este síndrome son frecuentes síntomas como distensión abdominal y flatulencia. La fermentación que tiene lugar en el colon genera un volumen variable de gas. Igualmente, la putrefacción de las proteínas por bacterias de la luz intestinal se asocia con la patogenia de la encefalopatía hepática en pacientes con insuficiencia hepática aguda o crónica.

La disfunción de la barrera mucosa puede causar una translocación bacteriana. La translocación de bacterias viables o muertas en cantidades muy pequeñas constituye un refuerzo fisiológicamente importante para el sistema inmunitario. No obstante, la disfunción de la barrera mucosa intestinal puede traducirse en la translocación de una cantidad considerable de microorganismos viables, sobre todo de género aeróbico y fenotipo Gram negativo. Después de cruzar la barrera epitelial, las bacterias pueden alcanzar áreas extraintestinales a través de los conductos linfáticos, y pueden infectar ganglios linfáticos mesentéricos, hígado y bazo. En situaciones graves, las bacterias entéricas pueden diseminarse por todo el organismo provocando septicemia, shock, y fallo multi-orgánico. La trans-

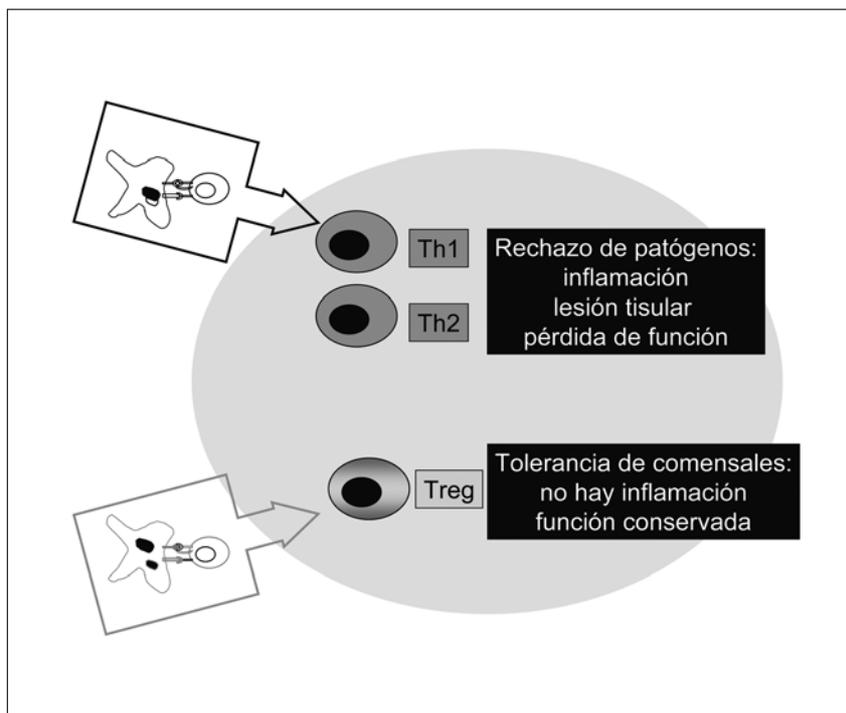


Fig. 1.—La interacción de la microbiota con las estructuras de la mucosa intestinal desempeña un papel decisivo en la formación y regulación del sistema inmune. La activación de los mecanismos de defensa naturales del huésped se basa en el rápido reconocimiento de patrones moleculares en los microorganismos por los receptores Toll-like y NOD de las células presentadoras de antígeno. Este reconocimiento de los gérmenes determina la respuesta mediada bien por citoquinas inflamatorias (patógenos) o citoquinas reguladoras (comensales no patógenos). Las citoquinas inflamatorias (TNF, IL-12) inducen expansión clonal de células T de fenotipo Th1 o Th2, muy eficaces en el rechazo del patógeno, pero causan inflamación, lesión y pérdida de función en los tejidos propios. Por el contrario, las citoquinas reguladoras (IL-10, TGF) favorecen la expansión clonal de células T reguladoras, que no rechazan al antígeno, ni causan inflamación o pérdidas funcionales. El contexto de inmunotolerancia permite la exposición continua a una carga antigénica abrumadora (microbiota comensal, alimentos), sin que por ello se desencadenen reacciones inflamatorias que lesionarían al tejido intestinal propio.

locación bacteriana grave es un fenómeno que puede producirse en situaciones de hemorragia aguda, quemaduras, traumatismos, isquemia intestinal, obstrucción intestinal, pancreatitis grave, insuficiencia hepática aguda y cirrosis²⁷. Los tres mecanismos principales que favorecen la translocación bacteriana son: (a) proliferación bacteriana en el intestino delgado; (b) aumento de la permeabilidad de la barrera mucosa intestinal, y (c) deficiencias en la defensa inmune del huésped.

En modelos experimentales se ha demostrado que las bacterias intestinales pueden desempeñar un papel en la iniciación del cáncer de colon a través de la formación de productos de carcinogénicos. Los defectos genéticos moleculares que aparecen en cáncer colorectal humano son bien conocidos, y parecen ser consecuencia de la genotoxicidad de productos generados en la luz del intestino. Los datos epidemiológicos sugieren que factores medioambientales como la dieta desempeñan un importante papel en el desarrollo de cáncer de colon. El consumo de grasa animal y carnes rojas, en particular procesadas, se asocia a riesgo más elevado, mientras que el consumo de fruta y verduras, cereales integrales, pescado y calcio se asocian a disminución del riesgo. Los factores dietéticos y genéticos interactúan en parte a través de acontecimientos que tienen lugar en la luz del intestino grueso²⁸. La influencia de la dieta en el proceso carcinogénico parece estar mediada por cambios en la actividad metabólica de la microbiota colónica.

Se dispone de pruebas que implican la flora bacteriana como factor esencial en la patogenia de la enfermedad inflamatoria intestinal. En la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa existe una activación anómala del sistema inmunitario de la mucosa frente a elementos de la microbiota entérica. Esta respuesta aberrante parece ser el acontecimiento clave que desencadena los mecanismos inflamatorios que dan lugar a la lesión intestinal²⁹. En los pacientes se detecta un aumento de la secreción mucosa de anticuerpos IgG contra las bacterias comensales³⁰ y los linfocitos T de la mucosa son hiperreactivos frente a los antígenos de la flora común, lo que sugiere la abolición de los mecanismos de tolerancia local³¹. De hecho, en pacientes con enfermedad de Crohn la derivación del flujo fecal consigue remisión de las lesiones, mientras que la re-infusión del contenido intestinal en los segmentos ileales excluidos reactiva la enfermedad³². En la colitis ulcerosa, el tratamiento a corto plazo con antibióticos de amplio espectro en comprimidos con recubrimiento entérico reduce rápidamente la actividad inflamatoria³³. Diversos factores podrían contribuir a la patogenia de la respuesta inmunitaria aberrante a la flora autóloga, incluida la susceptibilidad genética³⁴, un defecto en la función de barrera de la mucosa y un desequilibrio microbiano. Datos recientes sugieren que en pacientes con enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa la población de bacterias intestinales difiere de la de los individuos sanos³⁵.

Conclusiones

El intestino humano alberga una comunidad diversa de bacterias comensales, en una relación de simbiosis con el anfitrión, de modo que influye permanentemente en su fisiología. Hay evidencia clara de que las interacciones bacteria-anfitrión en la mucosa del intestino desempeñan un papel muy importante en el desarrollo y regulación del sistema inmune. Si esta interacción no es adecuada, la homeostasis entre la carga antigénica ambiental y la respuesta del individuo puede fallar. Ello puede repercutir en el desarrollo de patologías de disregulación inmunitaria frente a estructuras antigénicas propias (autoinmunidad), incluyendo la propia microflora (enfermedad inflamatoria intestinal), o estructuras antigénicas del ambiente (atopia).

Referencias

1. Bourlioux P, Braesco V, Koletzko B, Guarner F. The intestine and its microflora are partners for the protection of the host. *Am J Clin Nutr* 2003; 78:675-83.
2. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307:1915-1920.
3. Ley RE, Peterson DA, Gordon JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell* 2006; 124:837-848.
4. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361:512-519.
5. Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science* 2005; 308:1635-1638.
6. Tannock GW. What immunologists should know about bacterial communities of the human bowel. *Semin Immunol* 2006; doi:10.1016/j.smim.2006.09.001
7. Suau A, Bonnet R, Sutren M, Godon JJ, Gibson G, Collins MD, Dore J. Direct rDNA community analysis reveals a myriad of novel bacterial lineages within the human gut. *Appl Environ Microbiol* 1999; 65:4.799-4.807.
8. Zoetendal EG, Collier CT, Koike S, Mackie RI, Gaskins HR. Molecular ecological analysis of the gastrointestinal microbiota: a review. *J Nutr* 2004; 134:465-472.
9. Zoetendal EG, Von Wright A, Vilpponen-Salmela T, Ben-Amor K, Akkermans ADL, De Vos WM. Mucosa-associated bacteria in the human gastrointestinal tract are uniformly distributed along the colon and differ from the community recovered from feces. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68:3401-3407.
10. Hooper LV, Wong MH, Thelin A, Hansson L, Falk PG, Gordon JI. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science* 2001; 291:881-884.
11. Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science* 2006; 312:1355-1359.
12. Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annu Rev Nutr* 2002; 22:283-307.
13. MacFarlane GT, Cummings JH, Allison C. Protein degradation by human intestinal bacteria. *J Gen Microbiol* 1986; 132:1647-1656.
14. Smith EA, MacFarlane GT. Enumeration of human colonic bacteria producing phenolic and indolic compounds: effects of pH, carbohydrate availability and retention time on dissimilatory aromatic amino acid metabolism. *J Appl Bacteriol* 1996; 81:288-302.
15. Brook I. Bacterial interference. *Crit Rev Microbiol* 1999; 25:155-172.

16. Lievin V, Peiffer I, Hudault S, Rochat F, Brassart D, Neeser JR, Servin AL. Bifidobacterial strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity. *Gut* 2000; 47:646-652.
17. Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62:1157-1170.
18. Yamanaka T, Helgeland L, Farstad IN, Fukushima H, Midtvedt T, Brandtzaeg P. Microbial colonization drives lymphocyte accumulation and differentiation in the follicle-associated epithelium of Peyer's patches. *J Immunol* 2003; 170:816-822.
19. Helgeland L, Dissen E, Dai KZ, Midtvedt T, Brandtzaeg P, Vaage JT. Microbial colonization induces oligoclonal expansions of intraepithelial CD8 T cells in the gut. *Eur J Immunol* 2004; 34:3389-3400.
20. Fagarasan S, Muramatsu M, Suzuki K, Nagaoka H, Hiai H, Honjo T. Critical roles of activation-induced cytidine deaminase in the homeostasis of gut flora. *Science* 2002; 298:1414-1427.
21. Aderem A, Ulevitch RJ. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature* 2000; 406:782-787.
22. Elewaut D, DiDonato JA, Kim JM y cols. NF-kappa B is a central regulator of the intestinal epithelial cell innate immune response induced by infection with enteroinvasive bacteria. *J Immunol* 1999; 163:1457-1466.
23. Brandtzaeg PE. Current understanding of gastrointestinal immunoregulation and its relation to food allergy. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 964:13-45.
24. Cummings JH, Antoine JM, Azpiroz F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Calder PC, Gibson GR, Guarner F, Isolauri E, Pannemans D, Shortt C, Tuijelaars S, Watzl B. PASSCLAIM—gut health and immunity. *Eur J Nutr* 2004; 43 Suppl. 2:118-173.
25. Guarner F, Bourdet-Sicard R, Brandtzaeg P, Gill HS, McGuirk P, Van Eden W, Versalovic J, Weinstock JV, Rook GA. Mechanisms of Disease: the hygiene hypothesis revisited. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3:275-284.
26. Rook GA, Brunet LR. Microbes, immunoregulation, and the gut. *Gut* 2005; 54:317-20.
27. Lichtman SM. Bacterial Translocation in Humans. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2001; 33:1-10.
28. Rafter J, Glinghammar B. Interactions between the environment and genes in the colon. *Eur J Cancer Prev* 1998; 7 Suppl. 2:S69-S74.
29. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: immunodiagnostics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology* 2001; 120:622-635.
30. MacPherson A, Khoo UY, Forgacs I, Philpott-Howard J, Bjarnason I. Mucosal antibodies in inflammatory bowel disease are directed against intestinal bacteria. *Gut* 1996; 38:365-375.
31. Pirzer U, Schönhaar A, Fleischer B, Hermann E, Meyer zum Büschenfelde KH. Reactivity of infiltrating T lymphocytes with microbial antigens in Crohn's disease. *Lancet* 1991; 338:1238-1239.
32. D'Haens GR, Geboes K, Peeters M, Baert F, Penninckx F, Rutgeerts P. Early lesions of recurrent Crohn's disease caused by infusion of intestinal contents in excluded ileum. *Gastroenterology* 1998; 114:262-267.
33. Casellas F, Borrueal N, Papo M, Guarner F, Antolín M, Videla S, Malagelada JR. Antiinflammatory effects of enterically coated amoxicillin-clavulanic acid in active ulcerative colitis. *Inflammatory Bowel Dis* 1998; 4:1-5.
34. Vermeire S. Review article: genetic susceptibility and application of genetic testing in clinical management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24 Suppl. 3:2-10.
35. Guarner F. The intestinal flora in inflammatory bowel disease: normal or abnormal? *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21:414-418.