



ARTÍCULO ESPECIAL

Microbiota y enfermedades gastrointestinales



I. Polanco Allué

Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma, Madrid, España

Recibido el 23 de julio de 2015; aceptado el 29 de julio de 2015

Disponible en Internet el 1 de noviembre de 2015

PALABRAS CLAVE

Microbiota;
Niños;
Adolescentes;
Enfermedades
gastrointestinales;
Probióticos

Resumen La colonización bacteriana se establece inmediatamente después del nacimiento, por contacto directo con la microbiota materna, y puede modificarse durante la lactancia. Están apareciendo datos indicativos de que modificaciones cuantitativas y cualitativas de la microbiota intestinal son capaces de estimular cambios en la activación del sistema inmune que pueden conducir a la aparición de enfermedades gastrointestinales o extraintestinales. El equilibrio entre la microbiota patógena y beneficiosa durante la niñez y la adolescencia es importante para la salud gastrointestinal, incluyendo la protección frente a patógenos, la inhibición de patógenos, el procesamiento de nutrientes (síntesis de vitamina K), el estímulo de la angiogénesis y la regulación del almacenamiento de la grasa corporal. También los probióticos pueden modular la microbiota intestinal para favorecer la salud del huésped. Este artículo es una revisión sobre la acción moduladora de la microbiota intestinal en la prevención y el tratamiento coadyuvante de las enfermedades gastrointestinales pediátricas.

© 2015 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Microbiota;
Children;
Adolescents;
Gastrointestinal
diseases;
Probiotics

Microbiota and gastrointestinal diseases

Abstract The bacterial colonisation is established immediately after birth, through direct contact with maternal microbiota, and may be influenced during lactation. There is emerging evidence indicating that quantitative and qualitative changes on gut microbiota contribute to alterations in the mucosal activation of the immune system, leading to intra- or extra-intestinal diseases. A balance between pathogenic and beneficial microbiota throughout childhood and adolescence is important to gastrointestinal health, including protection against pathogens, inhibition of pathogens, nutrient processing (synthesis of vitamin K), stimulation of angiogenesis, and regulation of host fat storage. Probiotics can promote an intentional modulation of intestinal microbiota favouring the health of the host. A review is presented on the modulation of

Correo electrónico: ipolanco@telefonica.net

<http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2015.07.034>

1695-4033/© 2015 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

intestinal microbiota on prevention, and adjuvant treatment of some paediatric gastrointestinal diseases.

© 2015 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

En los últimos años se ha efectuado un importante esfuerzo investigador y clínico para tratar de profundizar en el conocimiento de la microbiota intestinal, en sus funciones, su desarrollo y en sus implicaciones en la fisiopatología de algunas enfermedades¹.

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. 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 digestivo. La población microbiana del intestino humano incluye unos 100 billones de bacterias de unas 500 a 1.000 especies distintas. La presencia de ciertas bacterias como parte de la flora intestinal es necesaria para una correcta nutrición y desarrollo corporal, así como para un adecuado mantenimiento del sistema inmune. La homeostasis intestinal es crítica para la extracción eficiente de energía de los alimentos y la protección frente a los microorganismos patógenos. En experimentos realizados en ratas² se ha logrado demostrar que los animales *germ-free* no solo son más pequeños que los ratones que tienen una flora intestinal normal desde el nacimiento o que han sido recolonizados después de haber sido *germ-free*, sino que también tienen menos grasa corporal (son menos obesas); así, se observa como los ratones con flora normal o recolonizados acumulan más grasa, pero también comen menos. Pero no solo eso, los ratones sin bacterias también consumen menos oxígeno.

Conocer bien la microbiota intestinal es determinante para esclarecer el papel que tienen las alteraciones que ocurren a este nivel con la aparición de ciertas enfermedades. Son múltiples las enfermedades que tienen su origen, en gran parte, en la existencia de un trastorno de la microbiota intestinal³, como es el caso de la diarrea infecciosa o la asociada al empleo de antibióticos, las complicaciones sépticas (fracaso orgánico multisistémico, diverticulitis, apendicitis, etc.), algunas alteraciones de la función intestinal (estreñimiento, síndrome de intestino irritable, etc.), la obesidad, la diabetes tipo 2, el síndrome metabólico, la atopía, las enfermedades autoinmunes, entre ellas, la enfermedad celíaca, o el cáncer de colon.

A continuación se revisan las principales enfermedades gastrointestinales pediátricas que tienen una relación más evidente con la microbiota gastrointestinal. Entre ellas se incluyen la infección por *Helicobacter pylori*, la enterocolitis necrosante, la enfermedad inflamatoria intestinal, la enfermedad celíaca y la diarrea aguda.

Infección por *Helicobacter pylori*

Más del 50% de la población mundial está infectada por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*), entre un 30 y un 40% en países desarrollados y más del 80% en los países en vías de desarrollo⁴. Entre los menores de 20 años, su prevalencia es de alrededor del 80% en países en vías de desarrollo, mayor que en países desarrollados. La variación en la prevalencia se asocia a factores sociodemográficos, especialmente situaciones de bajo nivel socioeconómico⁵.

Aunque la carga bacteriana en el estómago es baja, la especie *Helicobacter* ha recibido una atención especial, debido a su asociación con varias enfermedades gástricas. El *H. pylori*, bacteria espirilar gramnegativa, es una de las causas más frecuentes de infección bacteriana en el ser humano⁶, que puede producir gastritis, úlcera gástrica y duodenal, cáncer de estómago y linfoma del tejido linfóide mucoso adenocarcinoma, como linfoma tipo MALT⁷. En ausencia de enfermedad ulcerosa, la infección por *H. pylori* es asintomática en la mayoría de los casos y, si existen síntomas, estos son inespecíficos. En adultos, estudios recientes indican que aumenta el riesgo de enfermedad cardíaca coronaria⁸.

Está documentada la eficacia de las bacterias ácido-lácticas, bifidobacterias, leches fermentadas, *Lactobacillus salivarius* y *Lactobacillus acidophilus* en la disminución de los efectos adversos asociados al tratamiento erradicador de *H. pylori*. Diversos estudios han demostrado la eficacia de algunos probióticos (entre ellos *S. boulardii* y su combinación con *L. casei*) para erradicar *H. pylori* en pacientes pediátricos⁹. Más evidencias existen aún en población adulta que respaldan la recomendación de emplear probióticos para incrementar la tasa de erradicación de *H. pylori*^{9,10}.

Enterocolitis necrosante

La enterocolitis necrosante (ECN) es la urgencia médica gastrointestinal más común en recién nacidos. Es un problema clínico de gran importancia en neonatos y afecta hasta al 10% de los nacidos que pesan menos de 1.500 g, especialmente neonatos de peso al nacimiento extremadamente bajo (<1.000 g) y con menos de 28 semanas de gestación¹¹. Su mortalidad oscila entre el 20 y el 30% de los afectados. La morbilidad también es alta, especialmente alteraciones del desarrollo neurológico en recién nacidos con peso al nacimiento extremadamente bajo^{11,12}. A pesar de los avances en los cuidados intensivos neonatales, la ECN continúa siendo una enfermedad potencialmente muy grave en recién nacidos pretérmino, sin cambios significativos en la «incidencia» de mortalidad y de la morbilidad a largo plazo¹².

Poco se conoce su patogenia. Hay varios factores favorecedores, como prematuridad, hipoxia, lactancia artificial, especialmente exceso de sustrato proteico en la luz intestinal, sepsis, isquemia intestinal y colonización del intestino por bacterias patógenas^{11,12}. Un estudio publicado recientemente¹³ indica la existencia de una mayor proporción de *Proteobacteria* en recién nacidos diagnosticados de ECN, corroborando otros resultados. En este estudio, realizado en 9 recién nacidos con ECN y otros 9 como grupo de control, se observó, una semana antes del diagnóstico, una menor proporción de estas bacterias en los pacientes de ECN, comparados con el grupo control¹⁴. Estos autores comentan que los lactantes pretérmino, sin la suficiente colonización de *Proteobacteria* durante la primera semana de la vida, pueden no ser capaces de modular una respuesta inmunitaria adaptativa frente al aumento posterior de *Proteobacteria*¹⁴. Por ello, la inmadurez de los mecanismos de tolerancia, influida por calidad y cantidad de la microbiota, puede estar asociada a esta enfermedad.

Enfermedad inflamatoria intestinal

En la enfermedad inflamatoria intestinal (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa) se produce una respuesta anómala del sistema inmune frente a elementos del microbiota en la mucosa intestinal, produciendo lesiones intestinales¹⁵. Los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal, en presencia de bacterias comensales, tienen un aumento de anticuerpos IgG y una hiperactividad de linfocitos T en la mucosa, lo que parece indicar una supresión de los mecanismos locales de tolerancia¹⁶. De hecho, hay varios factores que influyen sobre la estimulación y la remisión de la actividad inflamatoria, como la derivación de la corriente fecal, el uso de antibióticos en el tratamiento de la enfermedad de Crohn y la aplicación de antibióticos de amplio espectro en la luz intestinal en la colitis ulcerosa^{17,18}. Considerando que la enfermedad de Crohn en seres humanos se localiza en colon e íleon terminal, donde la concentración bacteriana es más alta¹⁶, es asumible que la intolerancia generada por la microbiota, junto a la predisposición genética, favorezca el desarrollo de esta inflamación¹⁵.

La *lamina propria* intestinal es el lugar donde las células inmunes reconocen inicialmente a los antígenos bacterianos, antes de su migración al tejido linfoide distal, para elaborar la respuesta inflamatoria¹⁹. Los receptores de las células epiteliales conocidos como receptores *toll-like* y los receptores NOD2 son importantes para iniciar la respuesta inmune. Una vez activados, estos receptores pueden generar una respuesta intracelular, produciendo citocinas proinflamatorias²⁰. Este mecanismo favorece la maduración de las células dendríticas de la mucosa que, después del contacto con el antígeno, emigran a las estructuras linfoides locales, como las placas de Peyer, y drenan en los ganglios mesentéricos para iniciar o mantener las respuestas de las células T y B. Las células dendríticas inician la respuesta inmunitaria, controlan la inflamación intestinal y mantienen la tolerancia. En este contexto, se cree que las células dendríticas mucosas desempeñan una función clave en la regulación de la respuesta inmune frente a la carga antigénica gastrointestinal, manteniendo la homeostasis intestinal y permitiendo la coexistencia pacífica con la microflora

endógena¹⁹. En individuos normales la flora comensal es incapaz de cruzar la barrera epitelial; sin embargo, cuando algunas de estas bacterias pasan a través de la barrera intestinal, son rápidamente fagocitadas por los macrófagos de la mucosa, evitando la activación de la inmunorrespuesta intestinal; pero, por otra parte, cuando los microorganismos patógenos cruzan la barrera, esta respuesta se activa²¹.

La colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn se desarrollan generalmente en áreas con la concentración más alta de la microbiota intestinal, señalando que las bacterias comensales, asociadas a una susceptibilidad genética, pueden contribuir a la patogenia de estas enfermedades²². Además, varios estudios citados por Danese²³ indican que la microbiota encontrada en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal es diferente de la de los individuos sanos, y señalan que la disbiosis puede conducir a la intolerancia. Estos pacientes presentan una microbiota mal diversificada, con predominio de *Clostridium*, *Bacterioides* y *Bifidobacteria* (microbiota comensal) y un aumento concomitante en bacterias patógenas, tales como *Escherichia coli*, rara en individuos sin afectación inflamatoria intestinal²³. La proporción de bacterias nocivas podría representar entre el 30 y el 40% de las bacterias dominantes, aunque es notorio que la relación causa-efecto no está bien establecida²⁴. Es interesante mencionar que la poca variedad de especies se relaciona con la inestabilidad en el ecosistema, lo que implica una mayor facilidad para cambiar su composición por influencia del ambiente. Así, la inestabilidad del ecosistema puede favorecer el riesgo de inflamación.

Enfermedad celíaca

En la actualidad se considera a la enfermedad celíaca (EC) como un trastorno sistémico mediado inmunológicamente, provocado por la ingestión de gluten en individuos genéticamente susceptibles y caracterizado por la presencia de una combinación variable de manifestaciones clínicas dependientes del gluten, anticuerpos específicos de la enfermedad, haplotipos HLA DQ2 o DQ8 y enteropatía¹³. La retirada del gluten de la dieta se asocia a la desaparición de los síntomas y de los anticuerpos específicos y a la normalización de la mucosa intestinal en la gran mayoría de los pacientes²⁵.

Los estudios llevados a cabo en los últimos años han objetivado una prevalencia de EC de 1:100, con un rango entre 0,5 y 2%. La enfermedad afecta tanto a niños como a adultos y la relación mujer/varón es de 2/1.

En pacientes celíacos, la respuesta inmune a las fracciones de gliadina da lugar a una reacción inflamatoria, principalmente en la parte superior del intestino delgado, que se caracteriza por la infiltración de la lámina propia y del epitelio con células inflamatorias y atrofia vellositaria. Esta respuesta está mediada por la inmunidad innata y adaptativa. La respuesta adaptativa está mediada por los linfocitos T CD4+ de la lámina propia que reconocen péptidos de gliadina, los cuales se unen a moléculas HLA de clase II (DQ2 o DQ8) que se expresan en las células presentadoras de antígeno; las células T posteriormente producen citocinas proinflamatorias, en particular interferón γ . La enzima transglutaminasa tisular desamida los péptidos de gliadina en el intestino, aumentando su inmunogenicidad²⁵.

Además de los factores inmunológicos y genéticos, se sospecha que factores ambientales, tales como la nutrición en la infancia y la microbiota intestinal, también juegan un papel en la etiopatogenia de la EC^{26,27}.

La importancia de la microbiota en la EC está por definir²⁸. Se han asociado factores genéticos con la colonización de la especie *Bacterioides*²⁹. Algunos estudios en pacientes celíacos han demostrado que una dieta estricta exenta de gluten favorece la reducción de colonias bacterianas beneficiosas, especialmente *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, comparadas con las de bacterias gramnegativas (*Bacterioides* y *E. coli*)³⁰. Esta alteración de la microbiota debida a la exclusión del gluten puede deberse a la eliminación de fuentes importantes de hidratos de carbono, la principal fuente de energía para la microbiota comensal²⁹. El tratamiento dietético de estos pacientes no favorece la homeostasis intestinal; sin embargo, la respuesta inmune supresora de la microbiota puede ser beneficiosa para los pacientes con EC³¹.

Las investigaciones que se están desarrollando en torno a las funciones de componentes específicos de la microbiota en la patogenia de la EC pueden permitir el futuro desarrollo de estrategias de intervención nutricional (probióticos y prebióticos) con fines preventivos o terapéuticos.

Diarrea aguda

La gastroenteritis aguda (GEA) se define como la emisión de 3 o más heces acuosas o líquidas en un día, de duración menor de 14 días, lo que la diferencia de la diarrea crónica, y que habitualmente es infecciosa, ya que el agente etiológico es un microorganismo patógeno: virus, bacterias o parásitos. Puede acompañarse de náuseas, vómitos, fiebre, dolor abdominal o deshidratación, siendo en la mayoría de los casos es un proceso autolimitado³²⁻³⁴. En Europa, la incidencia de GEA varía entre 0,5 y 1,9 episodios por año en niños menores de 3 años³².

Los agentes etiológicos más comunes son *Rotavirus* y, entre las bacterias, el *Campylobacter*, seguido por *Salmonella*. Los parásitos tales como *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* son una causa rara de diarrea en niños sanos. Los agentes etiológicos principales pueden cambiar con la edad del niño: en menores de un año predominan *Rotavirus*, *Norovirus*, *Adenovirus* y *Salmonella*. Entre 1 y 4 años predominan los mismos agentes, más *Campylobacter* y *Yersinia*. En niños mayores de 5 años, *Campylobacter*, *Salmonella* y *Rotavirus*³². También es frecuente la diarrea asociada a la administración de antibióticos, con una incidencia de hasta el 30%³⁵.

En el manejo terapéutico de los pacientes con GEA, la primera opción de tratamiento pasa necesariamente por su rehidratación, mediante soluciones orales, y una rápida realimentación. La rehidratación con pequeñas cantidades de solución oral va a compensar la pérdida de agua y de electrolitos inducida por la GEA, pero no modifica satisfactoriamente el período de duración de la diarrea, ni provoca una variación positiva en el aspecto e intensidad de las deposiciones; tampoco restablece la microbiota intestinal alterada por la infección.

La racionalidad del uso de probióticos para tratar y prevenir la GEA se basa en la modificación de la composición de la

microbiota intestinal, evitando el crecimiento de las cepas entéricas patógenas. También se les atribuye la secreción de sustancias antibacterianas, que compiten con los patógenos y previenen su adhesión al epitelio intestinal, produciendo un efecto antitoxina y revertiendo algunas de las consecuencias de la infección en el epitelio intestinal, tales como los cambios secretorios y la migración de neutrófilos. Utilizados conjuntamente con la terapia de rehidratación, ciertos probióticos parecen ser seguros y tener claros efectos beneficiosos en la reducción de la duración y la frecuencia en la diarrea infecciosa aguda.

El efecto de los probióticos depende de la especie y de la cepa utilizada y los efectos de un microorganismo no pueden ser extrapolados a especies o cepas distintas³². Los probióticos que han demostrado claramente su eficacia son fundamentalmente *Lactobacillus rhamnosis* GG y *S. boulardii*³⁶⁻³⁸. Este efecto parece ser dosis-dependiente, siendo más eficaces las dosis más elevadas. También son más útiles cuando se emplean precozmente en el curso de la diarrea.

Consideraciones finales

La microbiota intestinal del ser humano representa un universo propio, que vive dentro de nuestro organismo y que tiene un significativo impacto en nuestra fisiología y fisiopatología.

Las funciones primarias que desempeña la microbiota intestinal humana, tales como la función metabólica (fermentación de residuos dietéticos no digeribles y moco endógeno), la función defensiva (protección frente a los patógenos, en un efecto barrera) y la función trófica (control de la proliferación y diferenciación de células epiteliales), así como desarrollo y homeostasis del sistema inmune, permiten afirmar que la microbiota intestinal es un órgano metabólico.

Conocer bien la microbiota intestinal es determinante para esclarecer el papel que tienen las alteraciones que ocurren a este nivel, con la aparición de ciertas enfermedades tanto digestivas como extradigestivas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Palm NW, de Zoete MR, Flavell RA. Immune-microbiota interactions in health and disease. *Clin Immunol* 2015;159:122-7.
2. Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, et al. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101-10.
3. Weber TK, Polanco I. Gastrointestinal microbiota and some children diseases: A review. *Gastroenterol Res Pract*. 2012;2012:676585, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/676585>. Epub 2012 Oct 30.
4. Park CW, Chung JH, Min HJ, Kim KR, Tae K, Cho SH, et al. *Helicobacter pylori* in middle ear of children with otitis media with effusion. *Chin Med J (Engl)*. 2011;124:4275-8.
5. Oleastro M, Pelerito A, Nogueira P, Benoliel J, Santos A, Cabral J, et al. Prevalence and incidence of *Helicobacter pylori* infection

- in a healthy pediatric population in the Lisbon area. *Helicobacter*. 2011;16:363–72.
6. Mourad-Baars P, Hussey S, Jones NL. *Helicobacter pylori* infection and childhood. *Helicobacter*. 2010;15 1 Suppl:53–9.
 7. Asano N, Iijima K, Koike T, Imatani A, Shimosegawa T. *Helicobacter pylori*-negative gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas: A review. *World J Gastroenterol*. 2015;21:8014–20.
 8. Sun J, Rangan P, Bhat SS, Liu L. A meta-analysis of the association between *Helicobacter pylori* infection and risk of coronary heart disease from published prospective studies. *Helicobacter*. 2015 May 22. doi: 10.1111/hel.12234. [Epub ahead of print].
 9. NASPGHAN Nutrition Report Committee. Michael S, Silvester F, Fuchs G, Issenman R. Clinical efficacy of probiotics: Review of the evidence with focus on children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2006; 43:550–557.
 10. Zhang MM, Qian W, Qin YY, He J, Zhou YH. Probiotics in *Helicobacter pylori* eradication therapy: A systematic review and meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2015;21:4345–57.
 11. Mihatsch WA, Braegger CP, Decsi T, Kolacek S, Lanzinger H, Mayer B, et al. Critical systematic review of the level of evidence for routine use of probiotics for reduction of mortality and prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Clin Nutr*. 2012;31:6–15.
 12. Deshpande G, Rao S, Patole S, Bulsara M. Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Pediatrics*. 2010;125:921–30.
 13. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54:136–60.
 14. Mai V, Young CM, Ukhanova M, Wang X, Sun Y, Casella G, et al. Fecal microbiota in premature infants prior to necrotizing enterocolitis. *PLoS One*. 2011;6:e20647.
 15. Shanahan F. Inflammatory bowel disease: Immunodiagnostics, immunotherapeutics, and ecotherapeutics. *Gastroenterology*. 2011;120:622–35.
 16. Kelsall BL. Innate and adaptive mechanisms to control pathological intestinal inflammation. *J Pathol*. 2008;214:242–59.
 17. 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;114:262–7.
 18. Sartor RB. Therapeutic manipulation of the enteric microflora in inflammatory bowel diseases: Antibiotics, probiotics, and prebiotics. *Gastroenterology*. 2004;126:1620–33.
 19. Niess JH. Role of mucosal dendritic cells in inflammatory bowel disease. *World Gastroenterol*. 2008;14:5138–48.
 20. Sansonetti PJ. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol*. 2004;4:953–64.
 21. Macpherson AJ, Gatto D, Sainsbury E, Harriman GR, Hengartner H, Zinkernagel RM. A primitive T cell-independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensal bacteria. *Science*. 2000;288:2222–6.
 22. Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2008;134:577–94.
 23. Danese S. Intestinal microbiota in inflammatory bowel disease: Friend of foe. *World J Gastroenterol*. 2011;17:557–66.
 24. Llopis M, Antolín M, Guarner F, Salas A, Malagelada JR. Mucosal colonization with *Lactobacillus casei* mitigates barriers injury induced by exposure to trinitrobenzene sulfonic acid. *Gut*. 2005;54:955–9.
 25. Polanco I. Celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2008;47 Suppl1:S3–6.
 26. Palma GD, Capilla A, Nova E, Castillejo G, Varea V, Pozo T, et al. Influence of milk-feeding type and genetic risk of developing coeliac disease on intestinal microbiota of infants: The PROFICEL study. *PLoS One*. 2012;7:e30791.
 27. Meij T, Budding A, Grasman M, Kneepkens F, Savelkoul P, Mearin ML. Composition and diversity of the duodenal mucosa-associated microbiome in children with untreated coeliac disease. *Scand J Gastroenterol*. 2013;Early Online: 530–6.
 28. Kopečný J, Mrázek J, Fliegerová K, Frühauf P, Tucková L. The intestinal microflora of childhood patients with indicated celiac disease. *Folia Microbiol (Praha)*. 2008;53:214–6.
 29. Sánchez E, de Palma G, Capilla A, Nova E, Pozo T, Castillejo G, et al. Influence of environmental and genetic factors linked to celiac disease risk on infant gut colonization by *Bacteroides* species. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:5316–23.
 30. Nadal I, Donat E, Ribes-Koninckx C, Calabuig M, Sanz Y. Imbalance in the composition of the duodenal microbiota of children with coeliac disease. *J Med Microbiol*. 2007;56 Pt 12: 1669–74.
 31. Sanz Y. Effects of a gluten-free diet on gut microbiota and immune function in healthy adult humans. *Gut Microbes*. 2010;1:135–7.
 32. Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, Lo Vecchio A, Shamir R, Szajewska H. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases Evidence-Based Guidelines for the Management of Acute Gastroenteritis in Children in Europe: Update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014;59:132–52.
 33. Costa i Pagès J, Polanco Allué I, Rodrigo Gonzalo de Liria C. Guía de práctica clínica gastroenteritis aguda en el niño. Guía multidisciplinar promovida y avalada por la Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica y la Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Madrid: Ergon; 2010.
 34. Salazar-Lindo E, Polanco Allué I, Gutiérrez-Castrellón P; Grupo Ibero-Latinoamericano sobre el Manejo de la Diarrea Aguda (GILA). Guía práctica clínica ibero-latinoamericana sobre el manejo de la gastroenteritis aguda en menores de 5 años: tratamiento farmacológico. *An Pediatr (Barc)*. 2014;80(Supl 1):15–22.
 35. Szajewska H, Mrukowicz J. Meta-analysis: Non-pathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005;22:365–72.
 36. Vandenplas V, De Greef E, Devreker T, Veereman-Wauters G, Hauser B. Probiotics and prebiotics in infants and children. *Curr Infect Dis Rep*. 2013;15:251–62.
 37. Szajewska H, Skorka A, Dylag M. Meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute diarrhea in children. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007;25:257–64.
 38. Guandalini S. Probiotics for children with diarrhea: An update. *J Clin Gastroenterol*. 2008;42:S53–7.