

Composición bacteriana intestinal en individuos con un alto grado de consumo de alcohol

Palmira Ríos, Stephanie De Jesús, Dulce María Vega, Argelia Poblete y D. Flores Robles

P. Ríos, S. De Jesús, D. Vega, J. Cruz, A. Poblete y D. Robles.
Universidad Autónoma de Guerrero.
Unidad de Investigación Especializada en Microbiología.
Calle sin nombre No. 13, Col. Las Colinas, C.P. 39105. Petaquillas, Gro.
floresrd@hotmail.com

M. Ramos., V.Aguilera., (eds.).Ciencias Naturales y Exactas, Handbook -©ECORFAN- Valle de Santiago, Guanajuato, 2014.

Abstract

Despite that the microbiome is an important part of our body is one of the great unknowns of our biology. Until now this has not been studied deeply and its influence on the physiology of our body functions remain unknown even in health and disease processes. The importance of studying the intestinal microbiome has a number of benefits that over time have been able to discover.

The bacterial communities found in the intestine have a great impact on the physiological organism's functions and the mechanism of the immune response. As we know the alcoholism is a disease that change the metabolism of individuals and possibly the intestinal flora therefore the importance of knowing the bacterial often in people with chronic alcoholism that not normally carrying a balanced diet and interferes with the absorption and utilization of nutrients due to toxic or irregularities of diet.

2 Introducción

En el cuerpo humano podemos encontrar una gran variedad y un inmenso número de microorganismos, principalmente diversas comunidades de bacterias que habitan en el cuerpo de una persona común las cuales cumplen funciones benéficas e importantes para la vida y la salud (Cárdenas, 2012). Cada vez existe un mayor interés por estudiar los microbios presentes en el cuerpo humano, por lo cual se desarrollo el Proyecto del Microbioma Humano (HMP), con el objetivo de construir un catálogo o mapa genético de los microorganismos que habitan el cuerpo humano. (Proctor 2012), el cual sera de gran utilidad ya que servirá para hacer una comparación de estudios en diversos estados de la enfermedad, así como también se pretende deducir como influye la flora bacteriana en el desarrollo de diversas patologías. El intestino humano es el hábitat natural de una población numerosa, diversa y dinámica de microorganismos, principalmente bacterias, las cuales se han adaptado a la vida en la superficie de las mucosas o en la luz del intestino, que junto con otras células forman una organización compleja en el que realizan diversos procesos biológicos (Guarner, 2006). Por lo cual, el microbioma intestinal se compone de un gran número de microorganismos, alrededor de 395 filotipos a nivel de cepa, los miembros de los géneros: Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria y Proteobacteria, son las principales especies que se encuentran en la microbiota del adulto.

Los cambios en la flora intestinal podrían ser indicadores muy valiosos para determinar el riesgo de padecer una patología o para ayudar a diagnosticar algunas enfermedades como la diabetes, obesidad, inflamación intestinal así como el desarrollo del cáncer (Guarner et al., 2011). Por otra parte, un estudio previo demostro que las bacterias que normalmente residen dentro del tracto gastrointestinal de humanos, afectan la asimilación de nutrientes y la regulación de energetica del individuo; esto ha llegado a sugerir que las personas obesas y delgadas presenten un microbioma intestinal diferente y por ello se a llegado a la conclusión que el microbioma intestinal juega un papel importante en la regulación del peso y puede ser responsable del desarrollo de obesidad en algunas personas (Guarner, 2010). La importancia del estudio del microbioma intestinal conlleva una serie de beneficios, en la cual las comunidades bacterianas encontradas en el intestino tienen un gran impacto en las funciones fisiológicas del organismo y en el mecanismo de la respuesta inmune.

Por otra parte, mediante diversas señales moleculares, la flora intestinal participa en el desarrollo de las microvellosidades así como en la protección estructural y metabólica del epitelio que recubre el sistema digestivo, además juega un papel muy importante en la absorción de nutrientes y la determinación del estado de salud (Andrew L. y Philip P., 2011).

Por otro lado, se ha demostrado que el uso de antibióticos altera el equilibrio del ecosistema, lo que repercute en las interacciones microbiota-hospedador y, consecuentemente, en la salud humana. Además, los antibióticos promueven la expansión de cepas resistentes en la microbiota, creando un reservorio de genes de resistencia, lo que constituye un grave problema en salud pública (Gosalbes *et al.*, 2011).

Según la Organización Mundial de la Salud, el alcoholismo es un trastorno crónico de la conducta que se manifiesta por repetidas ingestas de alcohol, excesivas respecto a las normas dietéticas y sociales de la comunidad y por abarcar interfiriendo en la salud o en las funciones económicas y sociales del bebedor. El alcoholismo crónico es un proceso patológico provocado por el consumo habitual de alcohol en cantidades excesivas, este estado de alcoholismo puede generar: cirrosis, gastritis, trastornos hepáticos, trastornos de ansiedad. Por otro lado, el alcoholismo crónico genera transformaciones de carácter, el mal humor, el desgano y la irritabilidad e incluso alcanzando la depresión ((Diccionario Mosby, 2011, p.86).

El uso crónico de alcohol se piensa que influye negativamente en la composición bacteriana del ser humano, por lo tanto puede contribuir a la patogénesis de las complicaciones del alcoholismo. La persistencia en la ingestión de etanol conduce a una pérdida adicional de peso, la evidencia creciente sugiere que las endotoxinas bacterianas del intestino son cofactores para la lesión tisular por alcohol y en la falla de los órganos, como la enfermedad hepática alcohólica (EHA), que sólo se producen en algunos individuos alcohólicos. Se ha propuesto que el consumo crónico de alcohol genera alteraciones de la microbiota intestinal, lo cual puede ser la causa del estado inflamatorio y de la endotoxemia observada en los pacientes alcohólicos demostrando que el microbioma bacteriano del intestino está alterada en personas alcohólicas (Mutlu *et al.*, 2012).

Por otro lado, los alcohólicos normalmente no suelen llevar una dieta equilibrada, además de que pueden sufrir alteraciones en cuanto a la absorción y el aprovechamiento de los nutrientes. Por tanto, no es raro que estos pacientes sufran malnutrición primaria o secundaria. La malnutrición primaria: ocurre cuando el alcohol reemplaza a otros nutrientes de la dieta, con lo que su ingestión total se reduce; la desnutrición secundaria: ocurre cuando el aporte de nutrientes es adecuado, pero el alcohol interfiere con su absorción en el intestino delgado. El estado de desnutrición más grave, asociado a una significativa reducción de la masa muscular, se encuentra en los pacientes que ingresan en un hospital debido a que presentan complicaciones clínicas de su alcoholismo como, por ejemplo, hepatopatía crónica o pancreatitis (Moreno y Cortez, 2008). Por lo antes mencionado es probable que la microbiota intestinal sufra cambios en los individuos, en base a ello, en el presente reporte se determino si existen alteraciones en la flora enterobacteriana intestinal de pacientes con un grado cronico de alcoholismo. Ya que la familia Enterobacteriaceae constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas, tienen una medida aproximada de 0.5–1.5µm por 1 a 6µm de diámetro, pueden ser móviles o no móviles, dependiendo si presentan o no flagelo, no forman esporas. Crecen de forma aerobia o anaerobia (anaerobios facultativos) en varios medios no selectivos (agar sangre) y selectivos (agar Mac-Conkey).

Fermentan la glucosa y reducen los nitratos, son catalasa positiva y oxidasa negativo. Se encuentran en el suelo, el agua, la vegetación y también en la flora intestinal normal del ser humano. En el cual producen una variedad de enfermedades, por ejemplo: de un 30% al 35% de septicemia, más del 70% de las infecciones del aparato urinario y muchas infecciones intestinales.

2.1 Materiales y métodos

Sensibilización de la población.

Se informó al responsable de cada centro sobre los estudios que se pretendieron realizar así como su colaboración en la selección de los pacientes que presentaron un grado crónico de alcoholismo. A los pacientes se les impartió una plática de las características del estudio y se les invitó a participar, los que aceptaron firmaron una carta de consentimiento informado, se aplicó una encuesta epidemiológica para determinar el grado de alcoholismo en base a su historia clínica, datos socioeconómicos y cantidad ingerida de alcohol.

Recolección de muestra.

Las muestras de los pacientes fueron recolectadas en los centros de ayuda “alcohólicos anónimos” de Chilpancingo de los Bravo, Guerrero. A las personas se les dio instrucciones sobre el método de toma de muestra coprológica, para lo cual se les otorgó un frasco estéril de boca ancha y tapa de rosca. Posteriormente recolectamos la muestra, la cual se trasladó instantáneamente al laboratorio de la Unidad de Investigación Especializada en Microbiología de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Aislamiento bacteriano.

Para realizar los aislamientos bacterianos, las muestras se sembraron en diferentes medios de cultivo enriquecidos como Agar soya tripticaseína, agar sangre,. Posteriormente las muestras se sembraron en medios de cultivos selectivos para la diferenciación e identificación de bacterias: Agar Mac Conkey, agar EMB y agar sal y manitol, El cultivo se incubó a una temperatura de 37°C y en ambiente de aerobiosis por un periodo de 24-48 horas.

Identificación bacteriana.

Para la identificación del tipo bacteriano presente, se realizó la observación de la morfología colonial en los diferentes medios de cultivo, además de utilizar la tinción Gram. Posteriormente se realizaron las pruebas bioquímicas oxidasa y catalasa, y finalmente se confirmó el tipo bacteriano por medio del equipo automatizado; Vitek 2 compact.

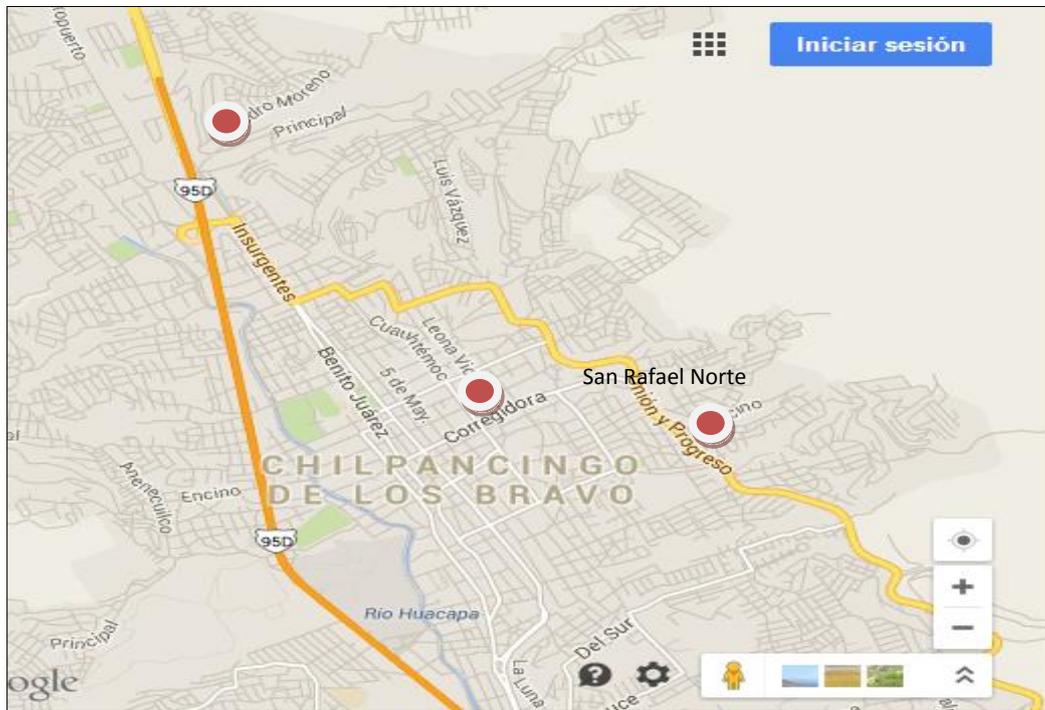
Análisis estadístico.

Los resultados se reportaron por escrito en el formato correspondiente y se entregaron al paciente. Los datos obtenidos del estudio de laboratorio y los obtenidos en la encuesta se capturaron en una base de datos del programa Excel y se obtuvieron los porcentajes del consumo de alcohol, tipo de bebida ingerida, presencia de una enfermedad, enfermedad relacionada con *E. coli* entre otros.

2.2 Resultados y discusión

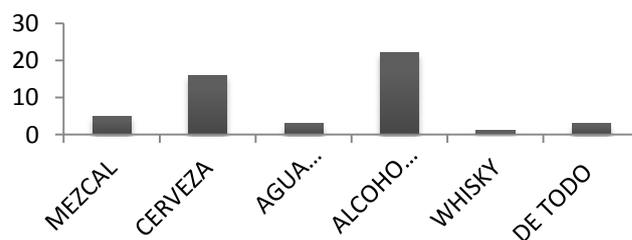
Los muestreos se realizaron en tres centros de rehabilitación de “Alcohólicos Anónimos” ubicados en la ciudad de Chilpancingo Guerrero., 1) Col. El polvorín, Grupo “La amistad”, 2) Col. San Rafael norte, Grupo “Paso XII”, 3) Col. Leona Vicario, “Anexo II”. (ver figura 1).

Figura 2. Mapa de la ciudad de Chilpancingo Gro., donde se localizan los centros de rehabilitación. Los puntos rojos nos indican la ubicación precisa de las colonias donde se encuentran cada uno de los centros de rehabilitación.



El alcohol es una sustancia capaz de producir hábito y su consumo excesivo son los principales problemas de salud pública en el mundo. En México de acuerdo a una encuesta realizada, la cerveza es la bebida alcohólica preferida en 61% seguida por el tequila, otros licores como el ron, whisky y mezcal tienen una preferencia menor al 5 por ciento (Maldonado L., 2009). En el presente trabajo se realizó una encuesta a los pacientes que aceptaron participar en la investigación en donde se encontró que los tipos de bebidas preferidas fueron el alcohol puro con un porcentaje del 43% y la cerveza con un porcentaje del 31%. (ver grafica 1). Esto pudiera estar relacionado a las diferencias culturales que se dan por región y que existen en el estado de Guerrero, ya que la población que habita Chilpancingo, es multicultural y de diferente poder adquisitivo. Por otro lado, el alcohol puro, el mezcal y la cerveza son claramente preferidas en el sureste, además cabe mencionar que cuando se llega a un estado de consumo de alcohol crónico este tipo de bebida es común en este tipo de población.

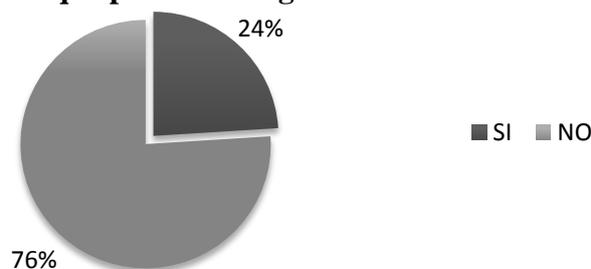
Grafica 2. Tipos de bebidas ingeridas. Se realizó una encuesta del tipo de bebidas que ingerían cada paciente, en el cual el alcohol puro fue el más frecuente seguido de la cerveza y en menor cantidad el mezcal, agua ardiente y whisky, solo tres personas coincidieron que tomaban de todo.



Los efectos o resultados adversos que se obtienen a nivel de la salud por el consumo de alcohol son múltiples y los problemas físicos se producen de forma progresiva, de este modo puede que se pase de una etapa en la que no hay síntomas a una en la que presenten síntomas de tipo medio y posteriormente a síntomas graves. Solo el 24% de los pacientes en rehabilitación expresaron presentar síntomas en los que destacan: gastritis, cirrosis hepática, diabetes, anorexia, y presión arterial. (Ver grafica 2). Estos síntomas suelen ser frecuentes en personas que consumen alcohol de forma crónica, la cirrosis hepática es una de las más importantes que influye en el estado de salud y en las complicaciones de diferentes órganos (Mutlu et al., 2012). Si bien es necesario tomar en cuenta que el fondo genético de los individuos, así como la composición de su microbioma son factores importantes para el desarrollo de ciertas patologías o la presencia de alguna enfermedad o daño a un órgano (Solís L., 2007). Y en el caso del alcoholismo diversos órganos se ven afectados, así como el daño metabólico o alteración metabólica puede influir para que se altere la microbiota intestinal.

Grafica 2.1 Pacientes que presentaron alguna enfermedad. De 50 pacientes encuestados solo el 24% presentaron síntomas dentro del centro de rehabilitación, entre las que destacan: gastritis, cirrosis hepática, diabetes anorexia y presión arterial.

Pacientes que presentan alguna enfermedad

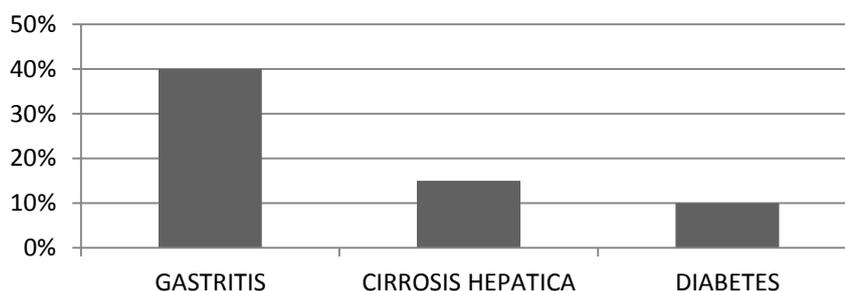


Para determinar la prevalencia de la especie bacteriana más común en relación con la enfermedad más frecuente en pacientes alcohólicos, se realizó un análisis estadístico en la cual se encontró que en los pacientes que reportaron gastritis (40%), *E. coli* fue la especie bacteriana más prevalente (ver grafica 3), la cual se encontró en un total de 23 pacientes.

Aunque *E. coli* forma parte de la flora normal, es uno de los microorganismos más prevalentes en individuos hospitalizados e inmunodeprimidos incluyendo pacientes alcohólicos y diabéticos (Puerta-García y F. Mateos., 2010), esto concuerda con lo encontrado en el presente trabajo.

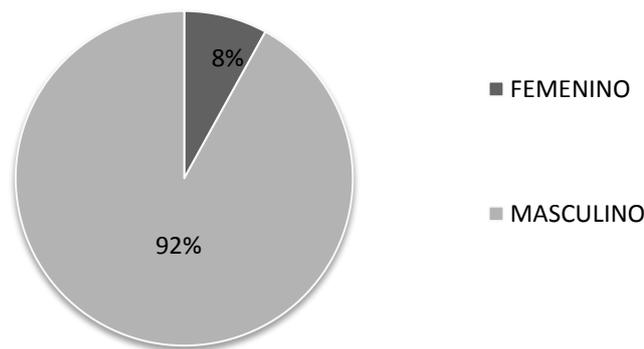
Grafica 2.2 Enfermedades relacionadas con la prevalencia de *E. coli*. Gastritis fue la enfermedad más frecuente entre los pacientes con 40%, cirrosis hepática con 16% y por último diabetes con 10%.

Enfermedades relacionadas con prevalencia de *E. coli*



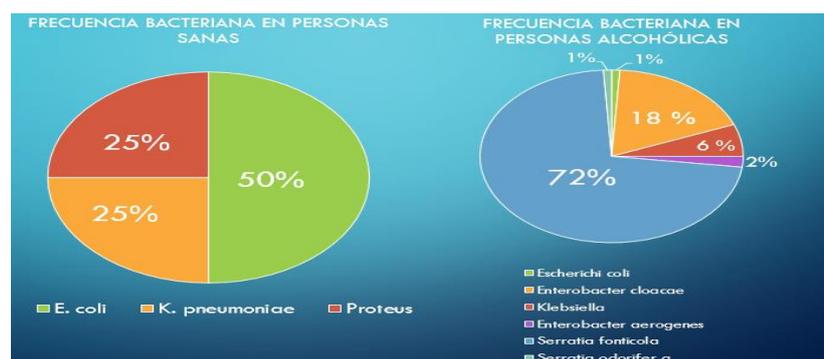
Cuando se analizo el estudio el 92% de los pacientes fueron del sexo masculino y solo el 8% fueron del género femenino, (ver grafica 4). Esto se debe a que en cada centro solo tenía alrededor de 5 mujeres y en su mayoría eran hombres eso explica la media nacional de consumo de alcohol que de cada 100 hombres 10 presentan por lo menos abuso a las bebidas embriagantes (Ibáñez I., 2014) por cada 100 mujeres, 2 presentan este problema. De acuerdo a estadísticas nacionales en consumo de alcohol realizada en enero del 2014, Guerrero ocupa una tasa de abuso/dependencia de alcohol: en hombres de 10.4 por ciento y en mujeres 2.1 por ciento a nivel estatal.

Grafica 2.3 Tipo de género al que se le realizo el estudio. En el que sexo masculino fue el más frecuente con un 92% y en el caso del femenino solo el 8%.



En el presente estudio se determino la frecuencia de Enterobacterias y la relación que existe entre el microbioma intestinal en personas que consumen alcohol de forma crónica usando como control personas que no consumen alcohol, (ver grafica 5A y 5B). En este caso tenemos a *E. coli* y *K. pneumoniae* en ambos estudios, mientras que las dos especies de *Serratia* y *Enterobacter* únicamente en pacientes alcohólicos. De acuerdo a estudios realizados previamente relacionados con el microbioma intestestinal encontramos que la frecuencia bacteriana de personas aparentemente sanas resulto ser igual a la flora normal de una persona común, como tambien se ha demostrado en (Eckburgh et al., 2005), obteniendo a *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Proteus* con mayor frecuencia. Si bien no existen reportes que nos indiquen como se encuentra la flora intestinal en personas que consumen alcohol de forma crónica. Los resultados obtenidos de dichos estudios revelan que *E. coli* fue más frecuente con un 72%, seguido de *E. cloacae* 18% y el género *Serratia* 1%, estos dos últimos no son muy frecuentes encontrarlos en la flora normal más sin embargo pueden presentarse como agentes patógenos en personas inmunocomprometidas y por lo tanto en personas alcohólicas.

Grafica 2.4 A) Frecuencia bacteria en personas sanas. Las bacterias más frecuentes son *E. coli* con un 50%, y con un 25% *K. pneumoniae* y *Proteus*. B) frecuencia bacteriana en personas alcoholicas. *E. coli* con un 72%, *E. cloacae* con 18%, y en menor frecuencia *klebsiella* con 6%, *E. aerogenes* 6% y *S. fonticola* y *S. adorifera* con un 1%.



2.4 Conclusiones

Se determinó la frecuencia de enterobacterias en individuos con un grado crónico de alcoholismo dentro de las cuales se encontro con mayor frecuencia: *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* respectivamente. Al comparar estos datos con los de la microbiota intestinal en personas aparentemente sanas, en estas no se detecto las dos especies de *Serratia* y *Enterobacter*. Lo cual prueba la hipostesis en la cual se sugiere que existen diferencias en el microbioma intestinal en personas que sufren una patología relacionada con el alcoholismo.

2.5 Agradecimientos

M.C. Roxana Reyes Rios por su asistencia técnica en la revisión del texto.

Dr. Ricardo Juárez Ríos, Director del Hospital General ISSSTE Acapulco, por el apoyo tecnico brindado en la identificación bacteriana.

2.6 Referencias

Andrew, L. y Philip P. (2011). Human nutrition, the gut microbiome and the immune system.(1a ed). USA: MacmillanPublishersLimited.

Cardenas, G. (2012). El microbioma humano. *¿Cómo ves?*, 167(14). 10-14.

Eckburg, Paul B., Elisabeth M. Bik, Charles N. Bernstein, Elizabeth Purdom, Les Dethlefsen, Michael Sargent, Steven R. Gill, Karen E. Nelson, and David A. Relman. (2005). “Diversity of the Human Intestinal Microbial Flora.” *Science* 308, no. 5728.

Gosalbes, María José, Ana Durbán, Miguel Pignatelli, Juan José Abellan, Nuria Jiménez-Hernández, Ana Elena Pérez-Cobas, Amparo Latorre, and Andrés Moya. (2011). “Metatranscriptomic Approach to Analyze the Functional Human Gut Microbiota.” *PloS One* 6, no. 3.

Guarner, Francisco. (2006). “Enteric Flora in Health and Disease.” *Digestion* 73 Suppl 5–12.

Guarner, Francisco. (2011). “The intestinal microbiota and inflammatory bowel disease.” *Gastroenterología y hepatología* 34, no. 3.

Ibañez I. (2014). “Guerrero Supera Estadísticas Nacionales En Consumo de Alcohol” *Últimas Noticias*. Quatratin Noticias Guerrero.

Maldonado I. (2009). “consumo de bebidas alcohólicas en México.” *Consulta Mitofsky*.

Moreno Otero, R, and J R Cortés. (2008). “Nutrition and chronic alcohol abuse.” *Nutrición hospitalaria* 23 Suppl 2. 3–7.

Mutlu, Ece A, Patrick M Gillevet, Huzefa Rangwala, Masoumeh Sikaroodi, Ammar Naqvi, Phillip A Engen, Mary Kwasny, Cynthia K Lau, and Ali Keshavarzian. (2012). “Colonic Microbiome Is Altered in Alcoholism.” *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology* 302, no. 9.

Proctor L. (2012). “A Framework for Human Microbiome Research.” *Nature* 486, no. 7402. 215–21.

A. Puerta-García. F. Mateos-Rodríguez. (2010). Enterobacterias. *Medicine*. Artículo de actualización, Unidad de Enfermedades Infecciosas. No.51. 3426-31.

Villanueva, A. (2011). Medicina, Enfermería y ciencias de la salud. *En el diccionario Mosby* (vol. 5, p.86). España: Elsevier.