

MICROBIOTA EN LECHE HUMANA

DRA ELDA SOFIA IBÁÑEZ

38ª CONGRESO ARGENTINO DE PEDIATRÍA

SOCIEDAD ARGENTINA DE PEDIATRÍA

29 DE SETIEMBRE DE 2017

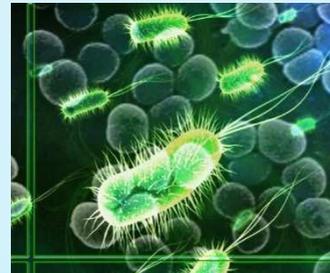
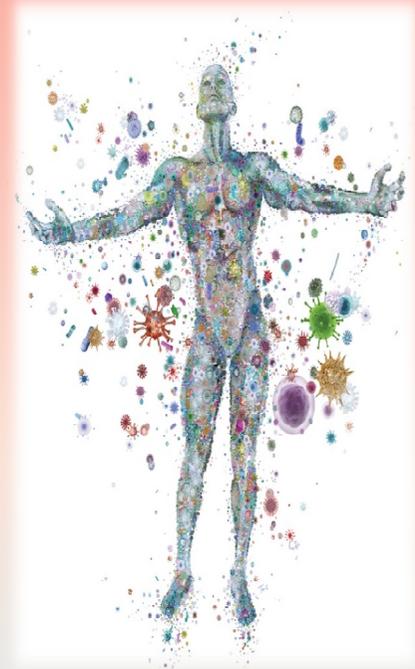
CÓRDOBA

MICROBIOMA HUMANO

- ES EL CONJUNTO DE GENES PRESENTES EN TODAS LAS CÉLULAS MICROBIANAS RESIDENTES EN EL HOMBRE.
- CADA SER HUMANO TIENE SU PROPIO PERFIL DE MICROBIOMA.

MICROBIOMA HUMANO
Células del cuerpo
10% humanas
90% microbianas

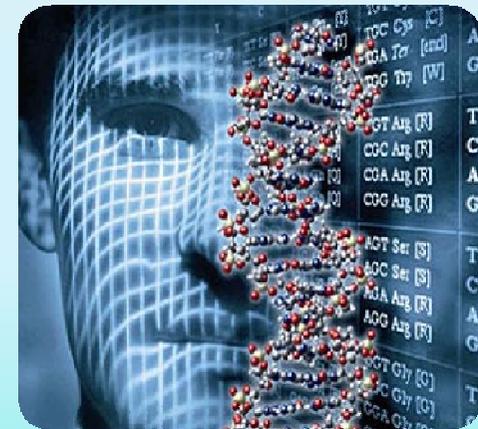
100 BILLONES DE CÉLULAS BACTERIANAS
MAS DE 1000 ESPECIES DIFERENTES
MAS DE 4 MIL MILLONES DE AÑOS DE EVOLUCIÓN GENÉTICA



PROYECTO GENOMA HUMANO (1990)

Objetivo :

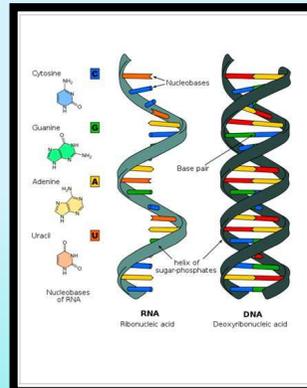
- * Determinar la secuencia de pares de bases químicas que componen el ADN.
- * Identificar y relevar la totalidad de genes que componen el genoma humano tanto en su estructura como en su función.
- * El genoma completo fue presentado en abril del 2003.
- * La herencia no se explicaba únicamente por alteraciones en la secuencia del ADN.
- * **EPIGENÉTICA** Hay modificaciones del ADN que no cambian la secuencia pero afectan la actividad de los genes ya sea “encendiéndolos” o “apagándolos”.



Genética - Epigenética

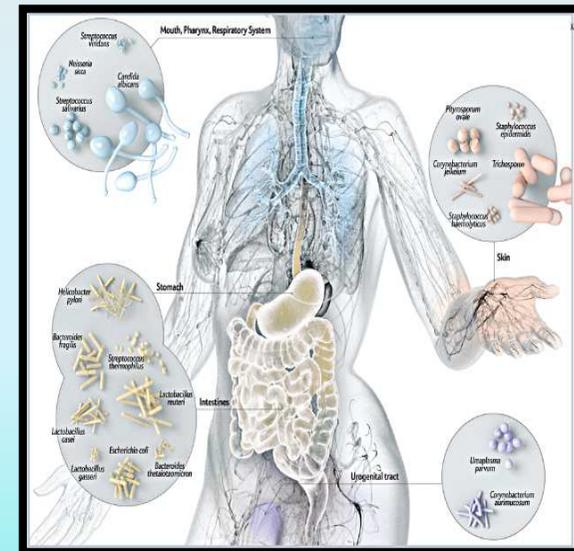
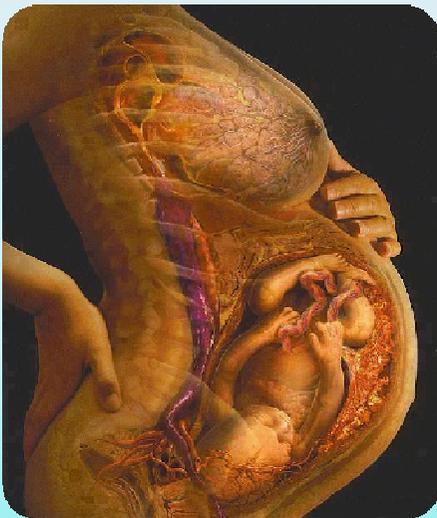
- El ser humano posee alrededor de 30.000 genes
- El microbioma tiene mas de 8 millones de genes
- 1: 360 no-humanos
- La Epigenética es el estudio de modificaciones en la expresión de genes que no obedecen a una alteración de la secuencia del ADN y que son heredables

Condiciones ambientales(nutrición, estados emocionales y determinantes sociales) modifican la expresión a través de la metilación del ADN, la modificación de las histonas, producción de ARN mensajero, etc. Esto ocasiona aumento en “enfermedades crónicas no transmisibles” en la infancia y en la edad adulta.



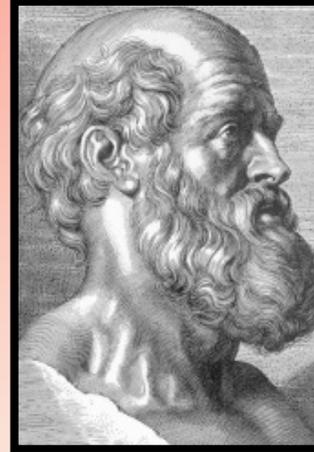
MICROBIOTA HUMANA

- Es el conjunto de microorganismos que se encuentran en un determinado lugar, es decir son localizaciones del microbioma. Por ejm: microbiota de la leche humana, intestinal, genital, etc.
- La comunicación entre el ambiente materno y fetal determina la microbiota intestinal del recién nacido.
- Cuando se altera la simbiosis produce DISBIOSIS.
- El *metagenoma* humano es la suma del microbioma y el genoma humano
- Proyecto del microbioma humano <http://hmpdacc.org>

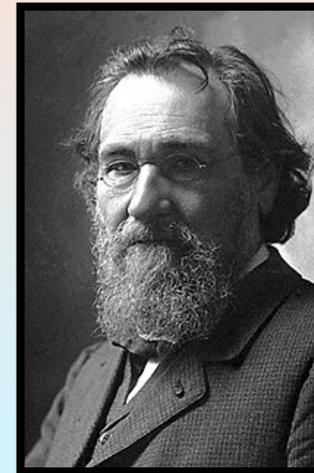


Hipócrates , 460- 377 aC.:

**“Haz que tus alimentos sean tus medicinas
.....y que tus medicinas sean tus alimentos”**



- ▶ **Ellie Metchnikoff en 1907 decía que la dieta puede proteger el cuerpo de la invasión de patógenos y en consecuencia mejorar y prolongar la calidad de vida... fue reconocido postmortem (describió el mecanismo de la fagocitosis).**
- ▶ ***Los alimentos constituyen uno de los factores más importantes que modifican la microbiota intestinal.***



LECHE HUMANA

- **La leche materna es un fluido biológico complejo, adaptado para satisfacer los requerimientos nutricionales del lactante**
- **Es la PRIMERA VACUNA por todos sus componentes inmunológicos .**
- **Es un TEJIDO VIVO, contiene células y bacterias.**
- **ES EL ESTÁNDAR DE ORO PARA LA ALIMENTACIÓN DE LOS BEBÉS Y ES INIMITABLE.**
- ▶ **Durante décadas se consideró estéril.**



MICROBIOTA EN LECHE HUMANA

- ▶ Con métodos moleculares que no requieren cultivo de los microorganismos se detectaron bacterias en la leche

La leche materna es la principal fuente de bacterias comensales y mutualistas para el tracto gastrointestinal del lactante con efectos benéficos.

El lactante que consume unos 800 ml/día de leche puede ingerir entre 1.000.000 a 10.000.000 de bacterias diariamente.



LECHE HUMANA

- Las bacterias presentes en la leche humana tienen gran importancia en la conformación de la microbiota intestinal del recién nacido.
- Esto le permite mejores oportunidades de vida saludable (primeros 1000 días críticos).
- Limita las posibilidades de tener enfermedades crónicas degenerativas durante la vida adulta.
- ***En nuestro país según encuesta de 2015 niños alimentados con pecho exclusivo a los 2 meses 58% y llega al 35% para el grupo de niños de 6 meses.*** (Dirección Nacional de Maternidad, Infancia y Adolescencia)



Origen de bacterias aisladas en leche materna (Ruta entero-mamaria)

- ▶ Los antígenos (de virus y bacterias) penetran en la mucosa intestinal materna, son identificados por los linfocitos presentes en estos tejidos, células M (Placas de Peyer, tejido linfoide)
- ▶ Desde allí los linfocitos emigran a las glándulas mamarias de la madre lactante, donde producen una gran cantidad de IgA de secreción (IgAs), lo que brinda protección contra microbios y proteínas alimentarias que la madre tiene en el intestino. La IgAs bloquea la unión de los patógenos a las superficies mucosas, especialmente del intestino.

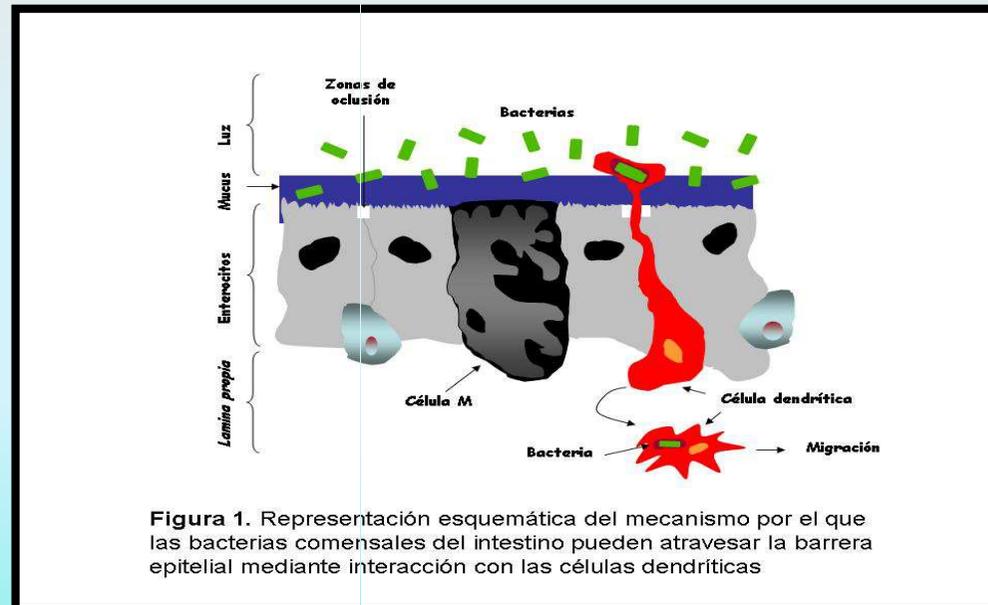
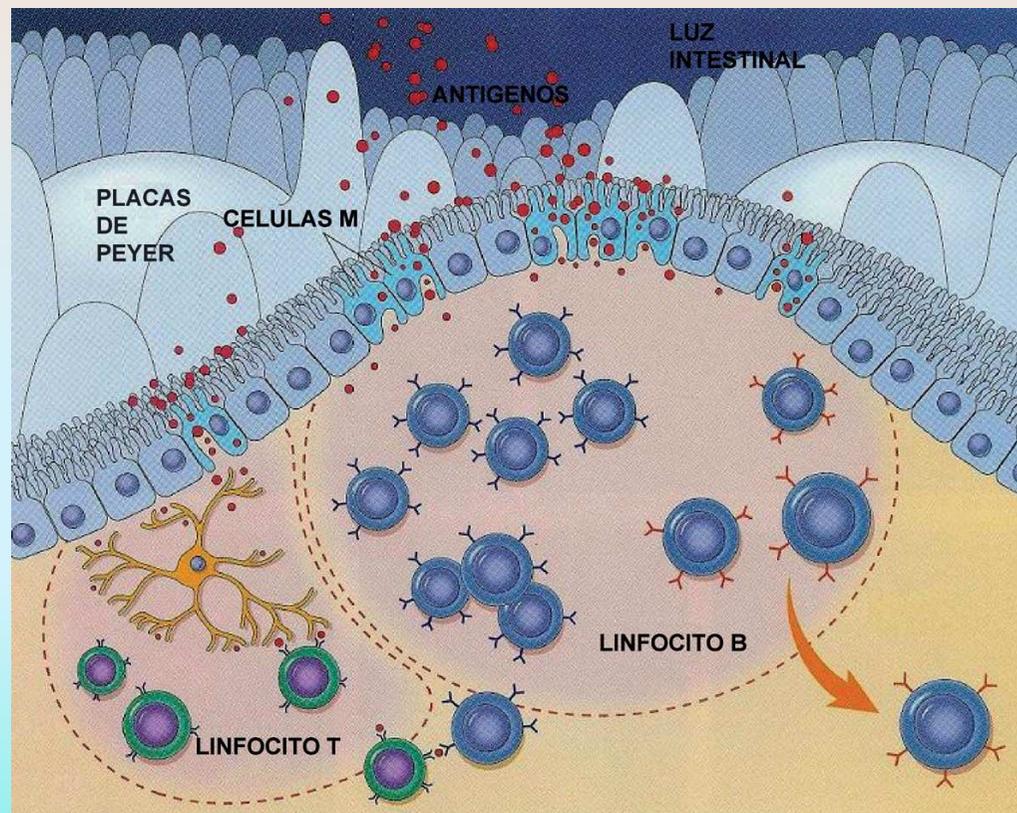


Figura 1. Representación esquemática del mecanismo por el que las bacterias comensales del intestino pueden atravesar la barrera epitelial mediante interacción con las células dendríticas

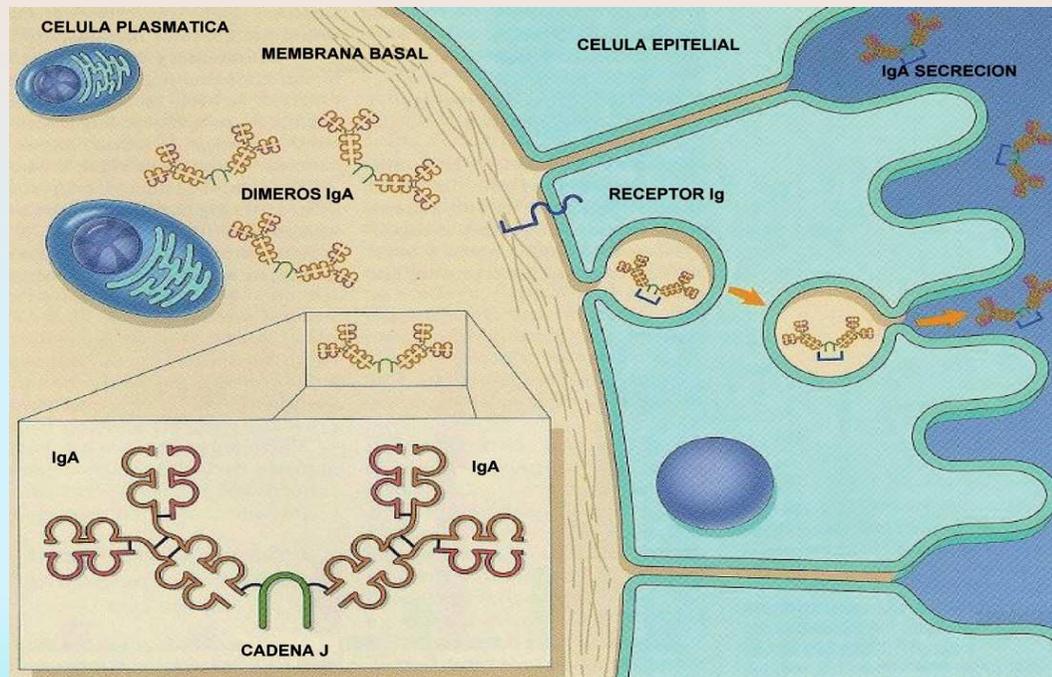
Respuesta Inmunológica: el estímulo

- ▶ Los antígenos ingeridos por la madre, son capturados en intestino por las células M, quienes los transportan a placas de Peyer donde los macrófagos los presentan a los linfocitos T.
- ▶ Éstos estimulan a los linfocitos B, que se clonan y migran a los ganglios mesentéricos.

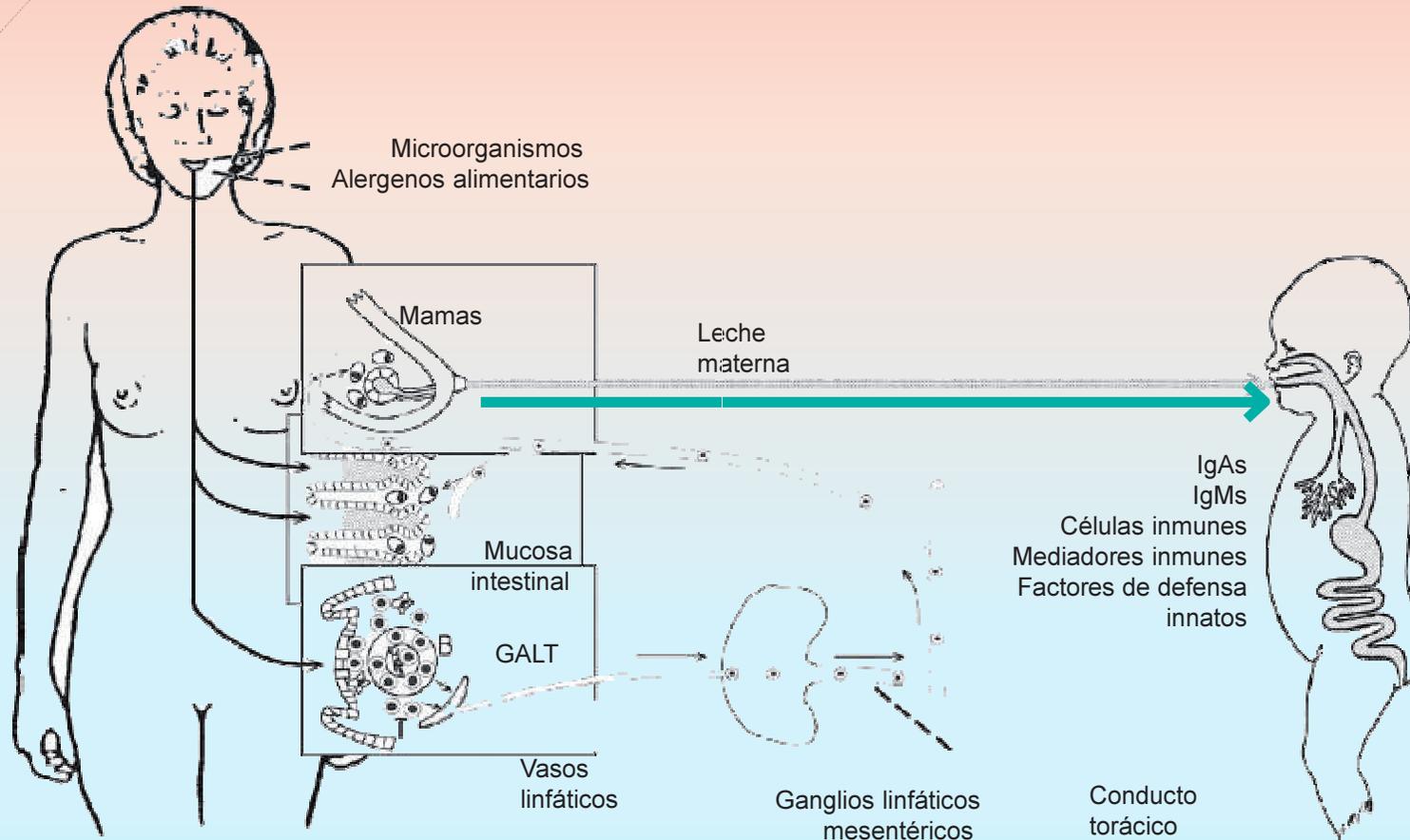


Producción de anticuerpos IgA.

- ▶ Los linfocitos B viajan a través del conducto torácico y llegan a las mamas y se transforman en células plasmáticas que producen IgAs. Primero producen monómeros de IgA que se unen en dímeros a los que se une una proteína (componente secretor).



Integración de la inmunidad de mucosa madre-hijo: Protección de la vía aérea superior e intestino



COMO SE ADQUIERE LA MICROBIOTA DE LA LECHE HUMANA- Ruta entero-mamaria

- ▶ Actualmente se sabe que las células dendríticas de la lámina propia pueden penetrar el epitelio intestinal intacto y captar bacterias de la luz intestinal
- ▶ Las células dendríticas son capaces de abrir zonas de oclusión entre enterocitos adyacentes, proyectan dendritas al exterior del epitelio y captan células viables, preservando la integridad de la barrera intestinal

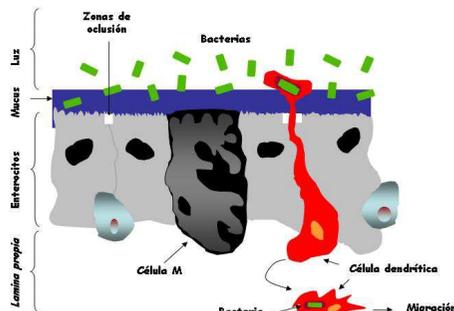
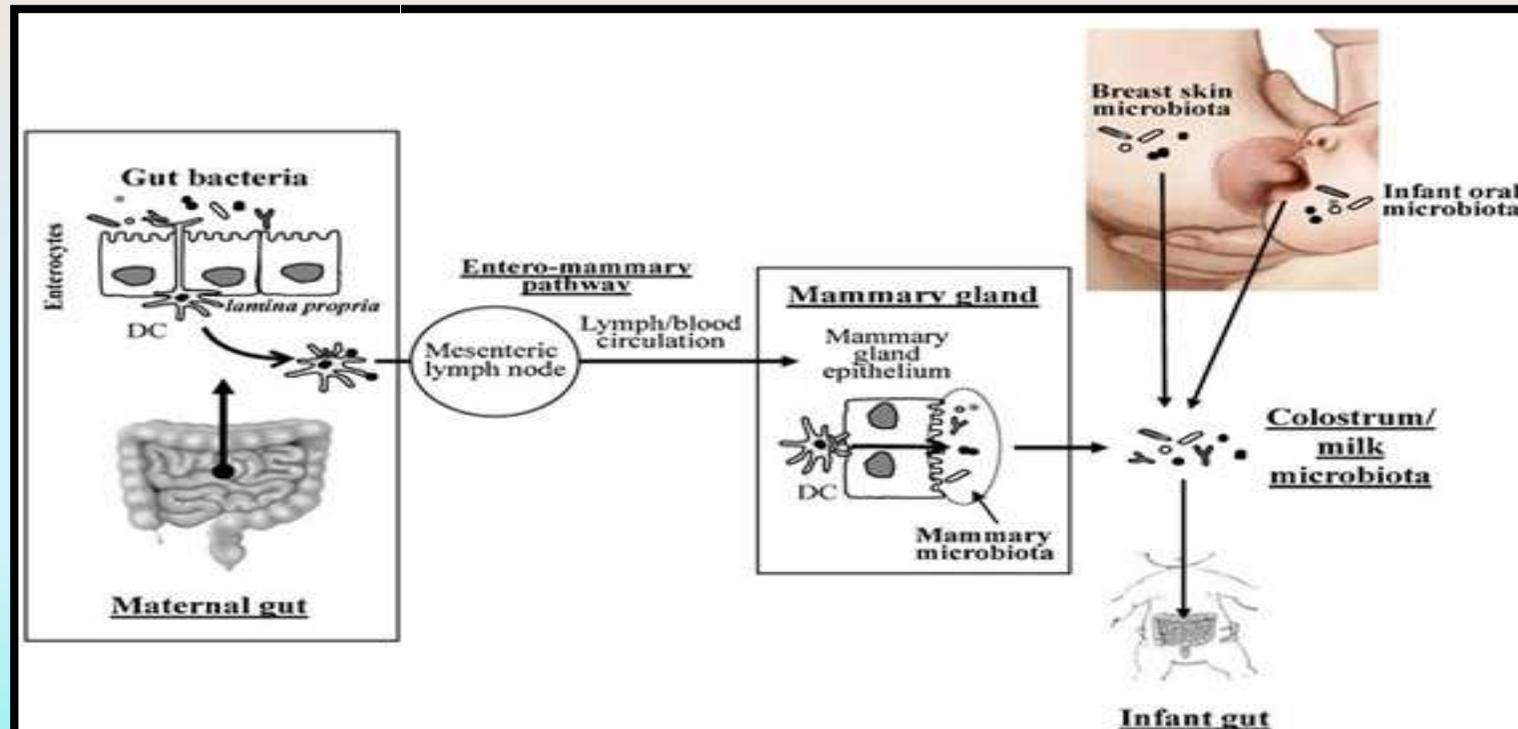


Figura 1. Representación esquemática del mecanismo por el que las bacterias comensales del intestino pueden atravesar la barrera epitelial mediante interacción con las células dendríticas



MICROBIOTA DE LA LECHE MATERNA

Staphylococcus:

Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus hominis
...



.....< 600-800 bacterias/ml

Streptococcus:

Streptococcus salivarius
Streptococcus mifis
...



.....< 500 bacterias/ml

Corynebacterium:

Corynebacterium glutamicum
Corynebacterium tuberculostearicum
...

(...)

Bacteria lácticas:

Lactobacillus gasseri
Lactobacillus fermentum
Lactobacillus salivarius
Lactococcus lactis
Leuconostoc mesenteroides
...



Bifidobacterium:

Bifidobacterium bifidum
Bifidobacterium breve

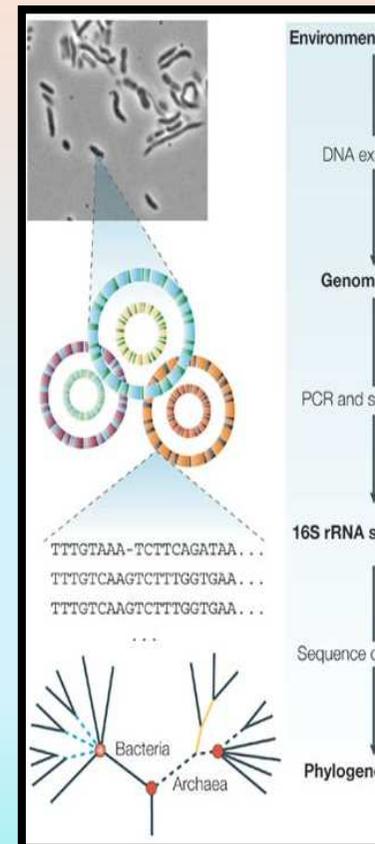
< 2000 bacterias/ml

Leche materna – colonización del intestino neonatal

- ▶ En un estudio sueco se examinó la colonización por *Lactobacillus* en 112 lactantes durante los primeros 6 meses de vida:
 - 26% no portaba *Lactobacillus* en su contenido fecal
 - 37% portaba una única cepa
 - 26% portaba 2 cepas
 - 11% restante portaba tres o mas cepas.
- ▶ Durante la lactancia materna exclusiva: **LACTOBACILLUS RHAMNOSUS**
- ▶ Al terminar la lactancia, son reemplazados por otras especies de *Lactobacillus* encontrados en la comida.

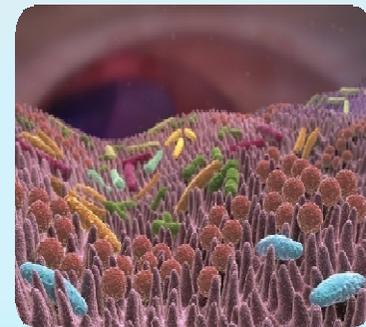
MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL ESTUDIO DE LA MICROBIOTA

- Es muy difícil desarrollar técnicas de cultivo anaerobio (40%).
- Son necesarios métodos de identificación bacteriana que no dependan del crecimiento bacterianos en medios de cultivo.
- Se están empleando técnicas de biología molecular:
 - *Reacción de polimerización en cadena (PCR)
 - *Técnica basada en el estudio de 16S rRNA, estudia el RNA de una unidad pequeña del ribosoma, presente en todas las células bacterianas. Su secuencia de nucleótidos pueden utilizarse para la identificación y clasificación de las bacterias.
 - *DGGE (dematuring gradient gel electrophoresis).
 - *FISH (fluorescence in situ hibridization)



Funciones de la Microbiota Intestinal

- Proporciona resistencia contra la infección y estimula el sistema inmune
- Es determinante de los procesos de nutrición y metabolismo.
- Sintetiza vitaminas y cofactores: vit. K, B12, biotina y ácido fólico.
- Extrae entre el 40 y el 50% de la energía de los nutrientes.
- Por fermentación, recupera la energía a partir de los AGCC (butionato, propionato, acetato) manteniendo la integridad intestinal
- Participa en el metabolismo para el depósito de grasas
- Convierte el colesterol, la bilirrubina y la tripsina
- Previene el desarrollo de alergias y asma en la infancia
- Ayuda a prevenir trastornos autoinmunes como la enfermedad celíaca
- Reduce el riesgo de enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedades cardiovasculares, obesidad , y Diabetes tipo 2 en la vida posterior.



DESARROLLO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL EN EL RNPT

- La forman unas 10^{14} células bacterianas en la luz intestinal.
- Esta compuesta por bacterias autóctonas, anaerobias facultativas: E.coli, Streptococo y Stafilococo y
- luego al ↓ O₂, se instalan las anaerobias estrictas: Bifidobacterias, Bacterioides y Clostridium, que finalmente predominarán.



Potencial beneficioso y patogénico de los microorganismos intestinales. (Fuente: Bourlioux y cols, 2003.)

Microorganismos potencialmente patogénicos

Clostridio

Pseudomona

Estafilococo

Proteus

Fusobacterias

E. Coli

Enterobacterias

Bacterioides

Eubacterias

Peptoestreptococos

Microorganismos potencialmente beneficiosos

Bifidobacterias

Lactobacilos

Factores que regulan la instalación y estabilidad de la microbiota

- ▶ **FACTORES INTERNOS:** RELACIONADOS CON EL HUESPED (GENÉTICA, INMUNIDAD)
RELACIONADOS CON LAS BACTERIAS
- ▶ **FACTORES EXTERNOS:** TIPO DE PARTO
ALIMENTACIÓN
EXPOSICIÓN AMBIENTAL
USO DE ANTIBIÓTICOS



FACTORES INTERNOS

- **La microbiota tiene efecto directo en la epigenética. Un gen cambió y no tiene que ver con la herencia sino con la modificación de la microbiota intestinal. Genera modificaciones en el ADN y las histonas.**
- **La microbiota debe permanecer en simbiosis con el huésped.. La alteración genera disbiosis, y esta lleva a la enfermedades tempranas: enterocolitis necrotizante o tardías como alergias, autoinmunes, inflamatorias.**

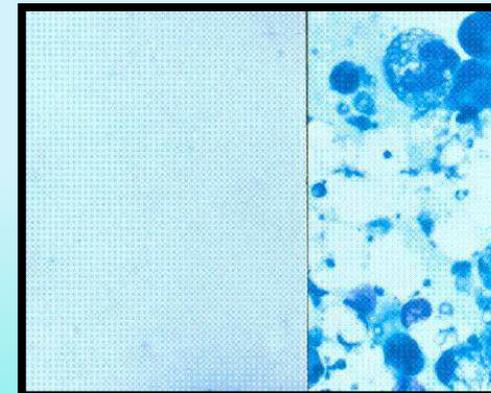
FACTORES EXTERNOS:

- *El pasaje por el canal del parto* y el contacto inmediato piel a piel entre el recién nacido y su madre son las fuentes principales de colonización de su tracto digestivo con gran impacto sobre la programación del sistema inmunológico a nivel de las mucosas..
- *En el nacimiento por cesárea* no participa la microbiota fecal materna y el medio ambiente se convierte en la fuente de contaminación inicial. Esto se asocia en la vida adulta con mayor incidencia de trastornos metabólicos (obesidad, diabetes), asma y enfermedad celíaca.



ALIMENTACION: LECHE HUMANA VS FÓRMULA

- ▶ Los niños nacidos por parto natural y amamantados en forma exclusiva, tienen la microbiota intestinal más beneficiosa (más Bifidobacterias y menor número de *C. difficile* y *E. Coli*)
- ▶ Desde la primera puesta al pecho el recién nacido recibe calostro, que contiene altas concentraciones de inmunoglobulinas, particularmente IgA secretoria, leucocitos, componentes del sistema complemento C1, C3, C4, lisozima y lactoferrina.
- ▶ En la leche humana hay predominio de bifidobacterias, y lactobacilos(por el carácter ácido de la leche, la presencia de *factor bifidi*)
- ▶ Los niños alimentados con fórmulas artificiales desarrollan una microbiota más diversificada con predominio de bacterioides, enterobacterias, enterococos y *Clostridium*.



RN DE TERMINO

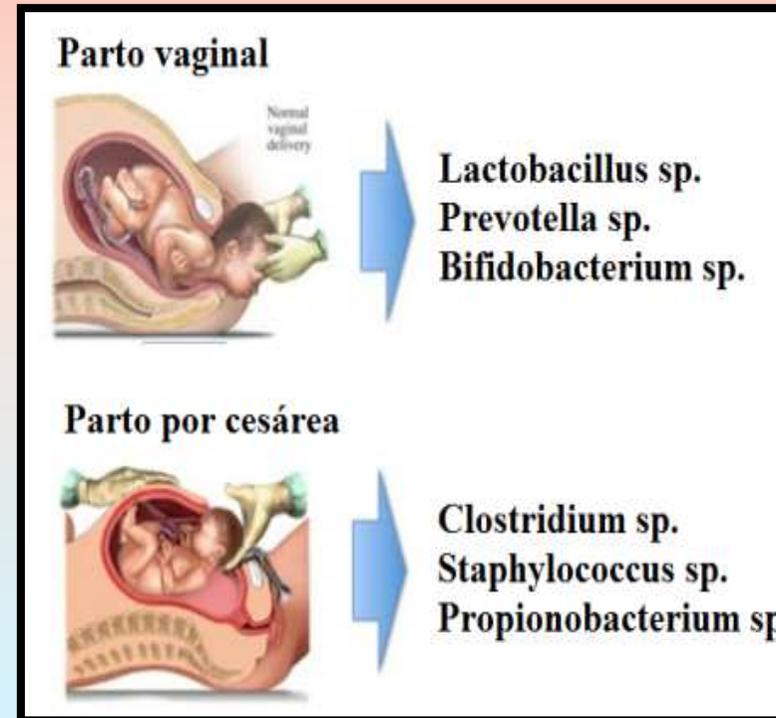


**PARTO NORMAL
AMAMANTAMIENTO
MATERNO
CONTACTO CON LA MADRE**



MICROBIOTA

- *IMPLANTACIÓN Y ESTABILIZACIÓN PRECOCES**
- *AUMENTO DE BIFIDOBACTERIAS, MAS TEMPRANAMENTE**
- *DISMINUCIÓN DE MICROORGANISMOS POTENCIALMENTE PATÓGENOS**



RN A TÉRMINO

**PARTO POR CESÁREA
FÓRMULA LACTEA
CONTACTO CON LA MADRE**



MICROBIOTA

- *IMPLANTACIÓN Y ESTABILIZACIÓN MAS TARDÍAS**
- *DISMINUCIÓN DE BIFIDOBACTERIAS Y MAS TARDIAMENTE**
- *AUMENTA CLOSTRIDIOS, BACTERIOIDES Y ENTEROBACTERIAS**



RN PREMATURO



**INMADUREZ DEL TRACTO
DIGESTIVO
PARTO POR CESÁREA
ALIMENTACIÓN TARDÍA
FÓRMULA LACTEA
AMBIENTE HOSPITALARIO
USO DE ANTIBIÓTICOS**



MICROBIOTA

- *IMPLANTACIÓN Y ESTABILIZACIÓN MAS TARDÍAS**
- *AUMENTO BACTERIAS HOSPITALARIAS**
- *DISMINUCIÓN BIFIDOBACTERIAS Y MAS TARDÍAMENTE**
- *AUMENTO DE CLOSTRIDIOS, KLEPSIELLA Y ENTEROBACTERIAS**



Impacto de Lactancia materna en la salud del niño:

- **Los niños amamantados son más saludables que aquellos que reciben otras formas de alimentación y la información disponible indica que los beneficios sobre la salud del niño causan un impacto tanto inmediato, como a mediano y largo plazo, en la vida adulta**



La leche humana como fuente de agentes bioterapéuticos- PROBIÓTICOS

- Bacterioterapia es una práctica que hace uso de bacterias comensales o probióticos para prevenir o tratar la colonización del hospedador por parte de patógenos
- Se basa en el principio de exclusión competitiva, ciertas bacterias no patógenas se imponen sobre las patógenas cuando compiten por el mismo nicho ecológico
- Las bacterias lácticas juegan un papel muy importante en la barreras microbiológicas primarias que se forman en las mucosas con el fin de prevenir infecciones.
- Son bacterias fermentativas obligatorias, anaerobias facultativas, no móviles y productoras de ácido láctico.
- Mecanismo de acción: promueven la adecuada colonización protectora, mantienen la integridad de la mucosa intestinal, aumentan las uniones intercelulares, disminuyen la permeabilidad, aumenta el mucus, modulan interacciones con TLR4, favorecen la IgA secretora.



LECHE HUMANA COMO FUENTE DE AGENTES BIOTERAPEÚTICOS

- ▶ Los Lactobacilos de leche materna poseen potencial probiótico superior a los lactobacilos comerciales.:

L.gasseri

L. plantarum

L. salivarius

L.fermentum

L.Faecium

L.Rhamnosus

Reducen la incidencia nosocomial de patógenos del RN

Requisitos de seguridad que una cepa debe cumplir para seleccionarse como probiótico:

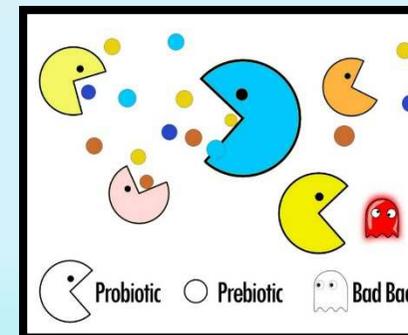
- - Las cepas para uso humano deben de ser preferentemente de origen humano (leche humana por ejemplo).
- - Deben ser aislados de humanos sanos, considerados como no patógenos, no asociados a endocarditis o desórdenes gastrointestinales, no deben portar genes transmisibles de resistencia a antibióticos.
- - Productor de sustancias antimicrobianas. Actividad antagonista contra patógenos
- - Tolerancia y estabilidad frente a los ácidos y jugos gástricos y a las sales biliares (factor de supervivencia en el intestino delgado).
- - Capacidad de adherencia a las superficies epiteliales y persistencia en el tracto gastrointestinal.
- - Resistencia a fagos.
- - Inmunoestimulación, pero sin efecto proinflamatorio.
- - Capacidad de modular la respuesta inmune, enzimática y metabólica. Propiedades antimutagénicas y anticarcinogénicas.

PREBIÓTICOS:

Es todo ingrediente alimentario, no digerible, que mediante estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de uno o un número limitado de bacterias en el colon mejora y beneficia la salud del huésped.

- ▶ Potencian el crecimiento de la flora de *L. Bifidus* e indirectamente protegen frente a infecciones gastrointestinales.
- ▶ Impiden la adherencia de los microorganismos patógenos a la célula epitelial.
- ▶ Son principalmente oligosacáridos (más de 80) que contienen de 3 a 30 moléculas de monosacáridos por enlaces glucosídicos y difieren en la composición de los de cualquier otro mamífero.
- ▶ La presencia y la cantidad de los diferentes oligosacáridos en la LH están determinados genéticamente
- ▶ Se ha demostrado eficacia real para:

Streptococcus pneumoniae, *Helicobacter pylori*, *E. Coli* y los virus de la gripe.



CONCLUSIONES:



- ▶ **Las características de la microbiota durante el período neonatal podrían interferir en la salud del huésped a corto y largo plazo.**
- ▶ **El proceso de implantación a lo largo de la primeras semanas es mediado por factores genéticos y ambientales. Son los primeros 1000 días críticos.**
- ▶ **Se deben disminuir los nacimientos por cesárea, la alimentación con fórmulas y hacer un uso responsable de antibióticos ya que modifican la microbiota del recién nacido y el lactante.**
- ▶ **Es necesario promover y apoyar la lactancia materna exclusiva en los primeros 6 meses de vida y luego incorporar alimentación complementaria sin suspender la lactancia hasta los 2 años o más”.**
- ▶ **Es responsabilidad del equipo de salud y en especial de nosotros los pediatras que esto se cumpla.**

MUCHAS GRACIAS!!!



BIBLIOGRAFÍA

- Larguía M. "Microbioma intestinal del lactante". Programa Nacional de Pediatría PRONAP 2017: Módulo 2 1: 1-28
- Cesar G Victora, Rajiv Bahl, Aluísio J D Barros, Giovanny V A França, Susan Horton, Julia Krasevec, Simon Murch, Mari Jeeva Sankar, Neff Walker, Nigel C Rollins . "La lactancia materna en el Siglo XXI: epidemiología, mecanismos y efectos a lo largo de la vida" Serie sobre lactancia materna de The Lancet*2016;1-4.
- Keklikian Roberto "Introducción a la epigenética en perinatología" Clinicas perinatológicas argentinas ASAPER 2015,"-1-27.
- Ahrné S, Lönnermark E, Wold AE, Aberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, Molin G, Adlerberth I. Lactobacilli in the intestinal microbiota of Swedish infants. *Microb Infect* 2005; 7: 1256-1262.
- Brandt K., Duque de Braga T., Alves Pontes da Silva G. " Desarrollo de la Microbiota intestinal en el recién nacido prematuro". Prorograma de actualización en neonatología PRONEO XV-2015: 29-62.
- Rossato E. " La primera hora del recién nacido" programa nacional de actualización pediátrica PRONAP 2016; 1: 15-38.
- Dr. Javier Mancilla Ramírez X Congreso Nacional de Pediatría para médicos generales y familiares 2015. Micro biota de la leche humana Academia Mexicana de Pediatría. publicado el 9 jul. 2015
- Mangialavori, G.; Tenisi, M.; Abeyá Gilardon, E. Cadoche, P.; Shifres, J. Delfino, H. Ministerio de Salud de la Nación. Dirección Nacional de Maternidad, Infancia y Adolescencia. Situación de la lactancia materna en Argentina. Año 2015". Situación de la lactancia materna en la Argentina Año 2015 Informe elaborado por la Dirección Nacional de Maternidad, Infancia y Adolescencia del Ministerio de Salud de la Nación
- *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.*
- Martin R, Heilig HG, Zoetendal EG, Jimenez E, Fernandez L, Smidt H, Rodriguez JM. Cultivation-independent assessment of the bacterial diversity of breast milk of healthy women. *Res Microbiol* 2007; 158: 31-37.