

IV Congreso Argentino de Neonatología  
Semana de Congresos y Jornadas Nacionales  
Sociedad Argentina de Pediatría  
Buenos Aires, 20-24 de mayo de 2019  
Sesión: Controversias actuales en gastroenterología neonatal.

# Microbiota y Alergias Alimentarias Actualidad

**Dr. Martin Bozzola**

Sección Alergia e Inmunología Pediátrica

Hospital Británico de Buenos Aires

Comité a Alergia Sociedad Argentina de Pediatría

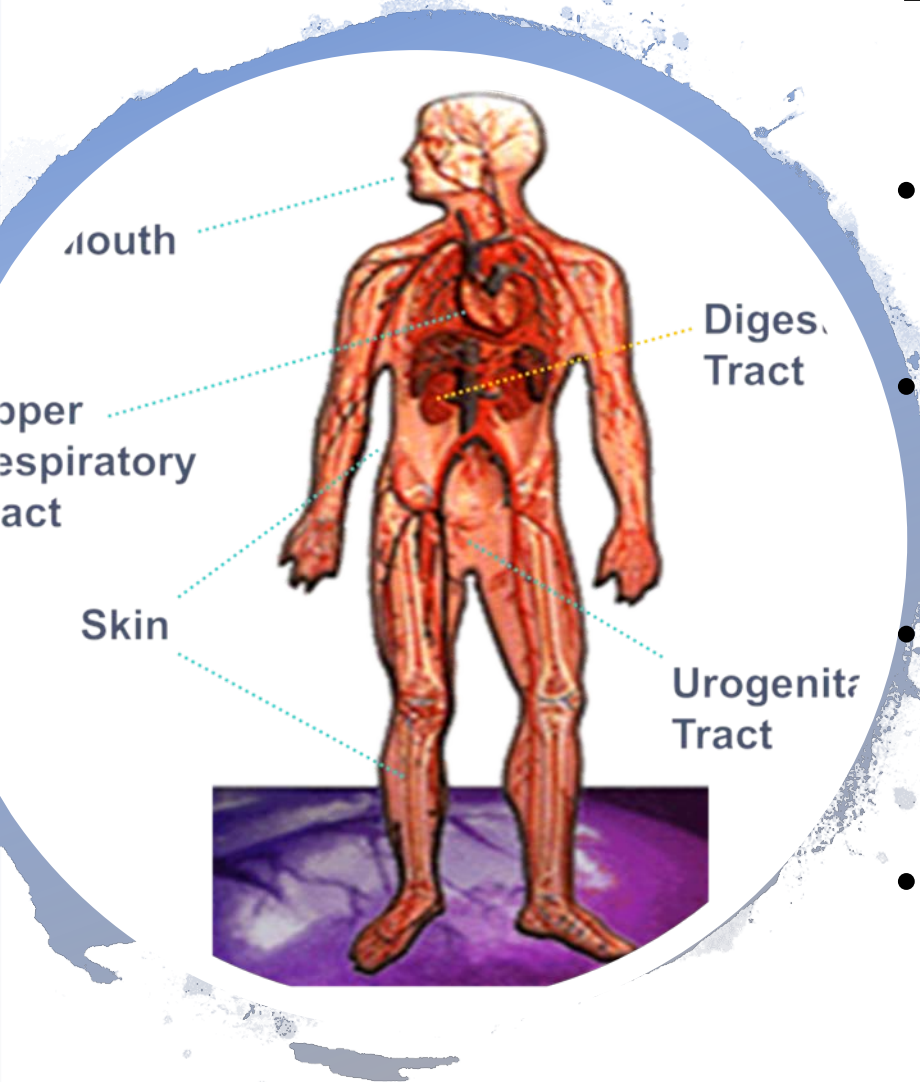
ExPresidente Asociación Argentina de Alergia e Inmunología Clínica



# Microbiota

Su importancia y relación con las  
alergias

# Definiciones



- **Microbioma:** se refiere al número total de microorganismos y su material genético
- **Microbiota:** es la población microbiana presente en los diferentes ecosistemas del cuerpo
- **Probiótico:** microorganismos vivos que, ingeridos en cantidad adecuada, ejercen efectos beneficiosos en la salud
- **Prebiótico:** un sustrato que los microorganismos del huésped utilizan selectivamente para aportar un beneficio a la salud

# A manera de complementación...

- Organismos vivos, que conviven en comunidad y colonizan todas las superficies del cuerpo.
- Población de microorganismos que colonizan un lugar en especial.
- Incluye: bacterias, hongos, archaea, virus y protozoos
- Gran avance conocimiento: US Human Microbiome Project (HMP), European Metagenomics of the Human Intestinal Tract (MetaHIT) y otros



Tira cómica 100 billones de bacterias en el intestino.

Fuente [endocrinologopediatra.wordpress.com](http://endocrinologopediatra.wordpress.com)

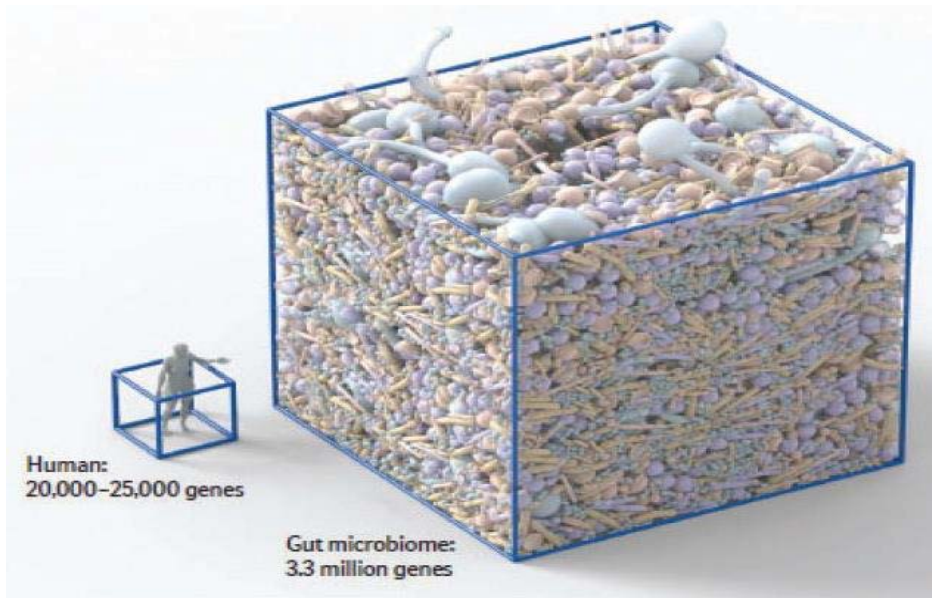
# Microbioma intestinal

- Más de 1000 especies Bacterias
- Albergamos 10 veces más células microbianas que las nuestras
- 150 veces más genes que cuerpo humano
- Mayor actividad metabólica que el hígado.



# 2do Genoma

- El **Genoma** es la codificación genética en la que está contenida toda la **información hereditaria**
- El **Microbioma Intestinal** es el conjunto de genomas y genes presentes en la microbiota intestinal





# Microbiota Intestinal

- La microbiota fermenta la fibra dietética transformándola principalmente en azúcares simples y ácidos grasos de cadena corta (AGCC) para mayor consigue un mayor aprovechamiento de la energía procedente de los alimentos.
- Síntesis de vitaminas esenciales (vit. K, B12, Biotina, ácido fólico, tiamina)
- Síntesis de Neurotransmisores
- Participa en la recirculación y el metabolismo de los ácidos biliares
- Transforma carcinógenos potenciales
- Activa compuestos bioactivos
- Participa en la síntesis de aminoácidos (lisina y treonina)
- Modula el sistema inmunitario.
- Protege al organismo frente a patógenos compitiendo con ellos por el nicho y generando compuestos antibióticos.



# Distribución de la Microbiota Intestinal

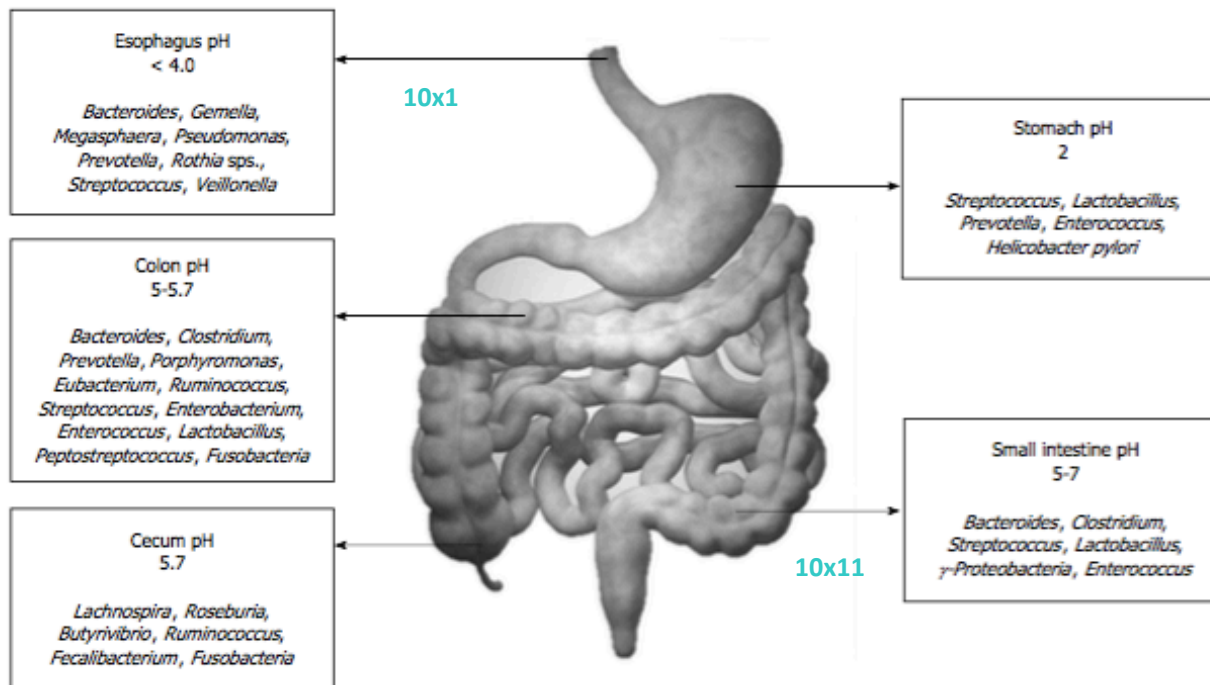
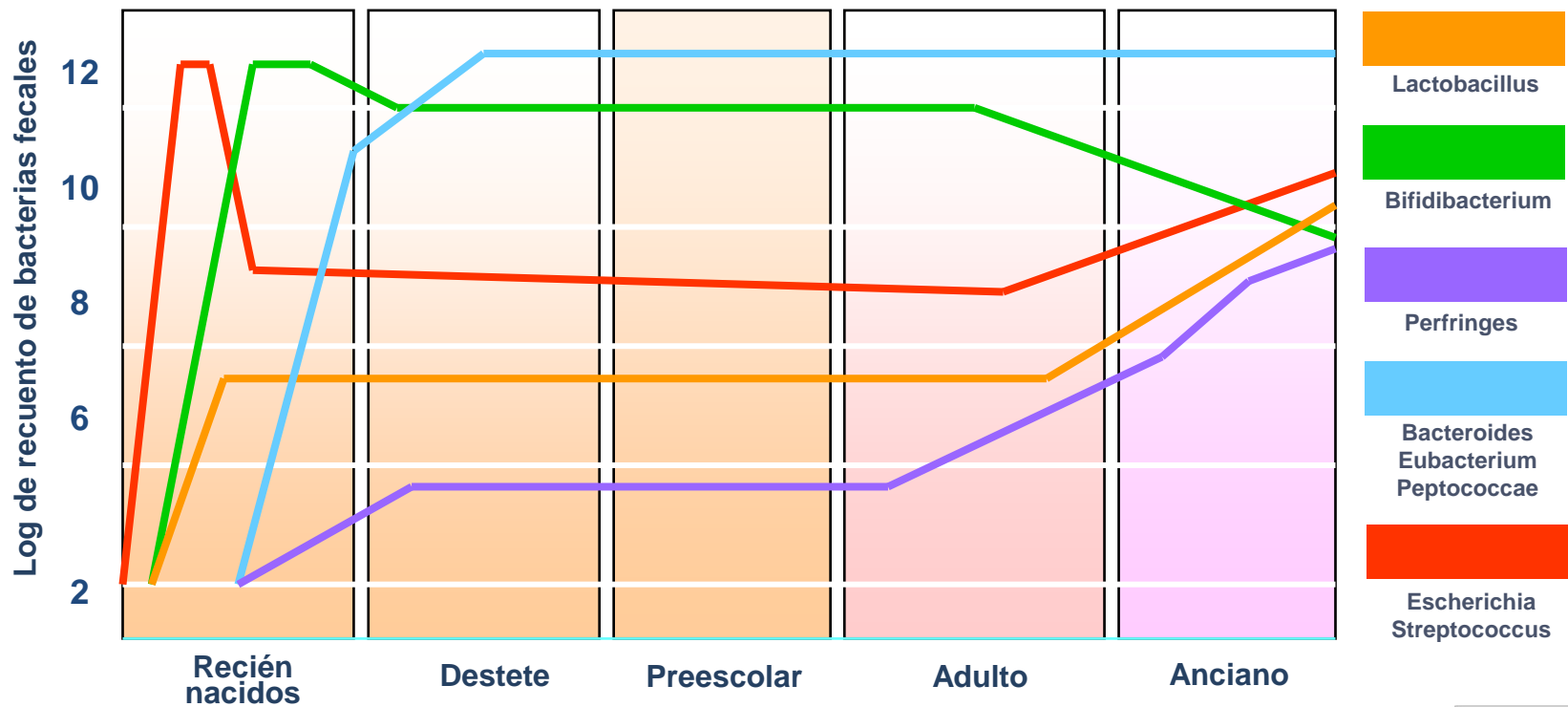


Figure 2 Distribution of the normal human gut flora.



# Evolución de la Microbiota Intestinal





# Colonización Intestinal

---

- Intestino del RN es estéril y empieza a colonizarse durante el parto.
- Factores mas importantes que influyen en el inicio de la colonización intestinal: vía del parto, dieta y exposición pre o post natal a antibióticos.
- La colonización bacteriana es fundamental para el desarrollo y maduración del sistema inmune de la mucosa intestinal.
- Alteraciones en el microbioma se asocian con enfermedades a corto y largo plazo.

# Fases de la Colonización Bacteriana

- Ambiente Intrauterino esteril?
- Fase uno: Adquisición a través de la vía de nacimiento.
- Fase dos: Adquisición a través de la alimentación durante la lactancia.
- Fase tres: Alimentación en general.
- Fase cuatro: Colonización completa (12 a 18 meses, mas de 1000 especies)

# ¿Ambiente intrauterino esteril?

## Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations

Molly J. Stout, MD<sup>1</sup>, Bridget Conlon<sup>1,\*</sup>, Michele Landeau<sup>1,\*</sup>, Iris Lee<sup>1</sup>, Carolyn Bower<sup>1</sup>, Qiuhong Zhao<sup>1</sup>, Kimberly A Roehl<sup>1</sup>, D. Michael Nelson, MD, PhD<sup>1</sup>, George A. Macones, MD<sup>1</sup>, and Indra U. Mysorekar, PhD<sup>1,2,†</sup>

<sup>1</sup>Department of Obstetrics and Gynecology Washington University School of Medicine

*Am J Obstet Gynecol.* 2013 March ; 208(3): 226.e1–226.e7.

## RESEARCH

www.AJOG.org

### IMAGING

## Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations

Molly J. Stout, MD; Bridget Conlon; Michele Landeau; Iris Lee; Carolyn Bower; Qiuhong Zhao; Kimberly A. Roehl, MPH; D. Michael Nelson, MD, PhD; George A. Macones, MD; Indra U. Mysorekar, PhD

**OBJECTIVE:** Bacteria have been identified in different regions of the placenta. Here, we tested the hypothesis that the maternal basal plate of the placenta harbors microbes that may be associated with adverse pregnancy outcomes.

**STUDY DESIGN:** We performed a cross-sectional study of pregnancies from a single tertiary care hospital. Maternal medical and obstetric characteristics were obtained and pregnancies followed up prospectively for outcomes and placental collection. After delivery, systematic random sampling of the placental basal plate was performed. Paraffin sections of basal plates were stained with 4 histologic stains and scored for morphological evidence of bacteria.

**RESULTS:** Of 195 total patients in the study, Gram-positive and -negative intracellular bacteria of diverse morphologies were documented in

the basal plates of 27% of all placentas. Of the patients, 35% delivered preterm. No difference was noted between placental basal plates from preterm or term gestations. Intracellular bacteria were found in the placental basal plates of 54% spontaneous preterm deliveries <28 weeks, and in 26% of term spontaneous deliveries ( $P = .02$ ). Intracellular bacteria were also documented in placentas without clinical or pathologic chorioamnionitis.

**CONCLUSION:** A total of 27% of placentas demonstrated intracellular bacteria in the placental basal plate using morphological techniques. Thus, the maternal basal plate is a possible source of intrauterine colonization and placental pathological examination could include examination for bacteria in this important maternal-fetal interface.

**Key words:** chorioamnionitis, infection, preterm birth

Cite this article as: Stout MJ, Conlon B, Landeau M, et al. Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol* 2013;208:226.e1-7.

Infection and inflammation are commonly associated with the risk for preterm birth (PTB). Predisposing factors for infection-related preterm delivery are diverse, including subclinical intrauterine infections,<sup>1</sup> intraamniotic infections,<sup>2,3</sup> and pyelonephritis.<sup>4</sup> In addition, maternal history of PTB, especially multiple and/or early PTB, is a significant risk factor.<sup>5</sup> This recurrence risk suggests the presence of a risk factor that is present from pregnancy to pregnancy. The specific mechanisms by which infec-

tions insults trigger preterm parturition are poorly understood. Notably, randomized trials of antimicrobials for treatment of infection for prevention of PTB have been disappointing.<sup>6-8</sup> Previous studies have shown that pathogenic microbes can establish occult intracellular reservoirs within the epithelium of the murine urinary tract, thereby evading immune recognition and allowing reemergence of symptomatic infection.<sup>9</sup> In addition, prior studies have documented the presence of bacte-

ria in various placental locations<sup>10-12</sup> but have not examined the basal plate specifically. We hypothesized that the cells in the basal plate of the placenta that comprise the tissue layer directly at the maternal-fetal interface may harbor occult microbes similar to the findings in previous placental studies as well as our studies in the murine urinary tract. We reasoned that occult microorganisms in the basal plate could lead to chronic or acute inflammation, and may be associated with adverse pregnancy outcomes such as PTB and chorioamnionitis. The objective of this study was to examine the basal plate of a large group of placentas to diagnose the presence or absence of microbes at the maternal-fetal interface. When microbes were identified in the basal plate maternal-fetal interface, we sought to investigate whether the presence of bacteria was associated with important clinical outcomes such as chorioamnionitis and PTB.

From the Departments of Obstetrics and Gynecology (all authors) and Pathology and Immunology (Dr Mysorekar), Washington University School of Medicine, St. Louis, MO. Received June 5, 2012; revised Nov. 29, 2012; accepted Jan. 9, 2013.

M.J.S. is supported by Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development T32 grant number 5 T32 HD065172-02 and Washington University Clinical and Translational Science Award grant number UL1 RR024992. I.U.M. is supported by a Preterm Birth Research Grant from the Burroughs Wellcome Fund.

The authors report no conflict of interest.

The Women's and Infant's Health Specimen Consortium was funded by grants from the Washington University Clinical and Translational Science (National Institutes of Health UL1 RR024992) and the Children's Discovery Institute of St. Louis Children's Hospital.

Reprints: Indra U. Mysorekar, PhD, Departments of Obstetrics and Gynecology and of Pathology and Immunology, Washington University School of Medicine, 660 S. Euclid Ave., St. Louis, MO 63110. [Indra@wustl.edu](mailto:Indra@wustl.edu).

0002-9378/\$36.00 • © 2013 Mosby, Inc. All rights reserved. • <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2013.01.018>

### MATERIALS AND METHODS

#### Study design

This is a cross-sectional study of women from a single tertiary care hospital. The



# Fases de la Colonización Bacteriana

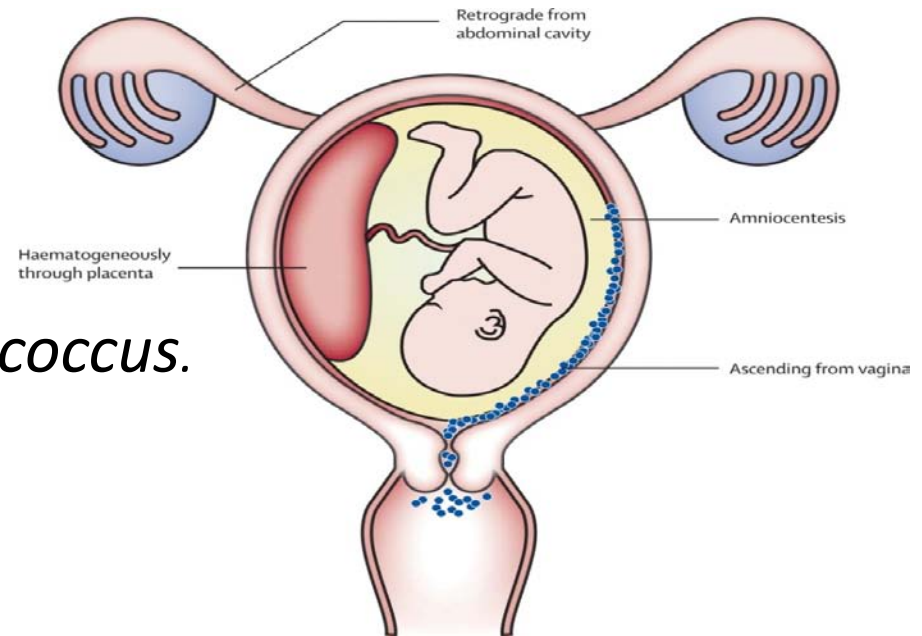
- Ambiente Intrauterino esteril?
- Fase uno: Adquisición a través de la vía de nacimiento.
- Fase dos: Adquisición a través de la alimentación durante la lactancia.
- Fase tres: Alimentación en general.
- Fase cuatro: Colonización completa (12 a 18 meses, mas de 1000 especies)



# Microbiota Intestinal. Fuente Materna

- **Canal Vaginal:**

- *Lactobacillus, Prevotella,*
- *Escherichia, Bacteroides,*
- *Bifidobacterias y Streptococcus.*



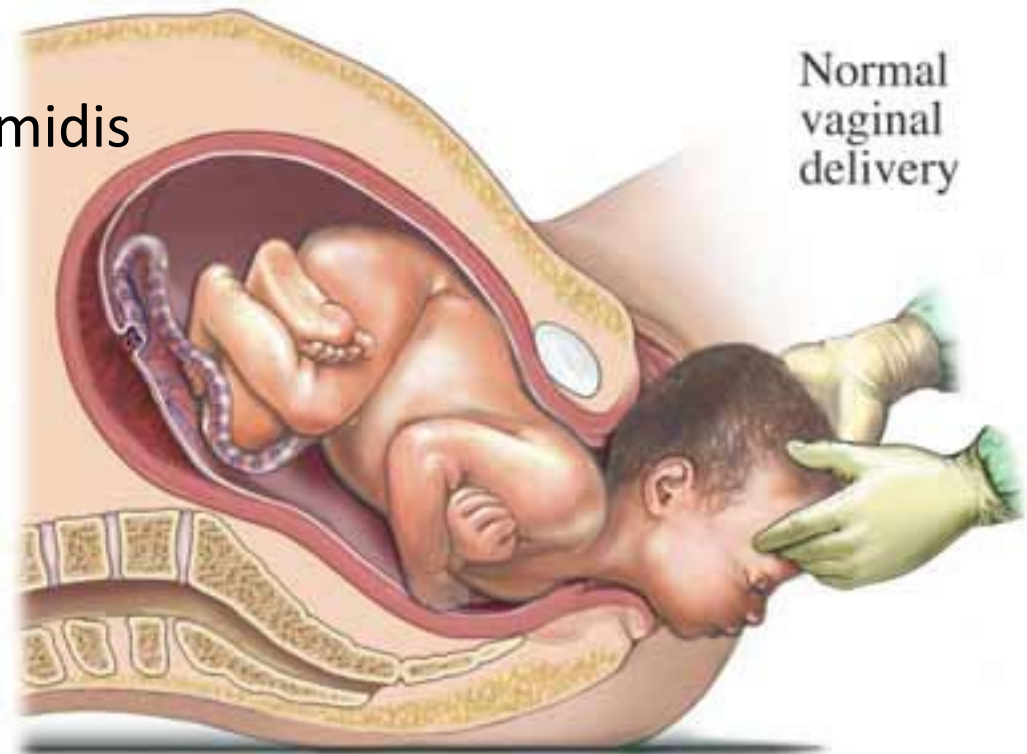
- **Piel y Boca materna**





# Microbiota Intestinal: Parto Vaginal

- **Ambiente anaerobio estricto:** Bifidobacterias y Bacteroides
- **Ambiente aerobio inicial:** Bacterias anaerobias facultativas
  - Enterococo fecalis,
  - Estafilococo epidermidis
  - Escherichia Coli
  - Enterobacter



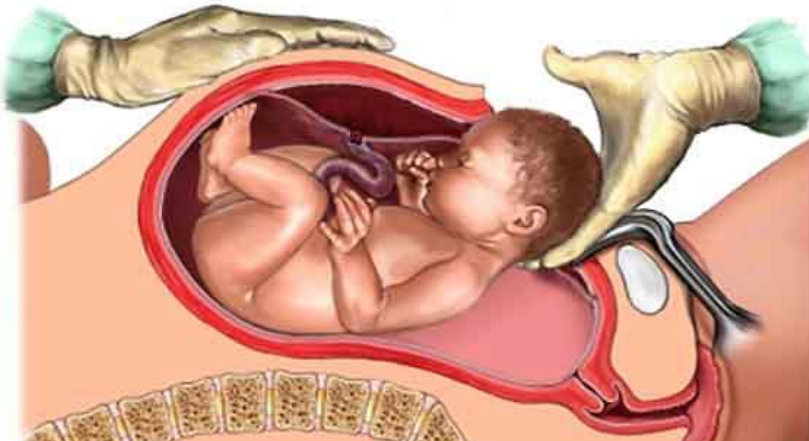
# Microbiota Intestinal. Cesárea

- Microbiota Ambiental
- Microbiota de Piel materna: *Staphylococcus* y *Clostridium*s

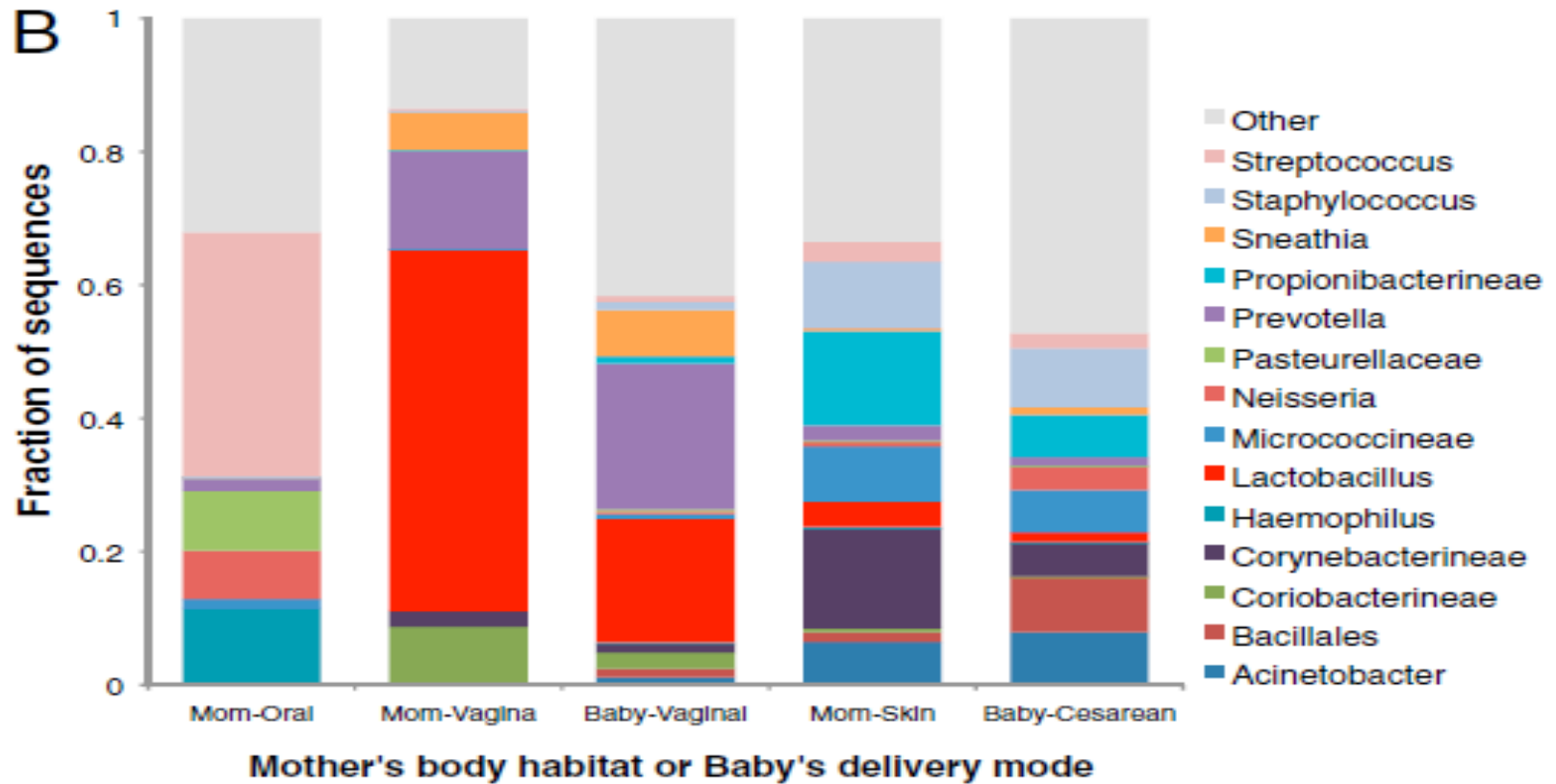
Falta de  
anaerobios  
estrictos

Presencia de  
anaerobios  
facultativos

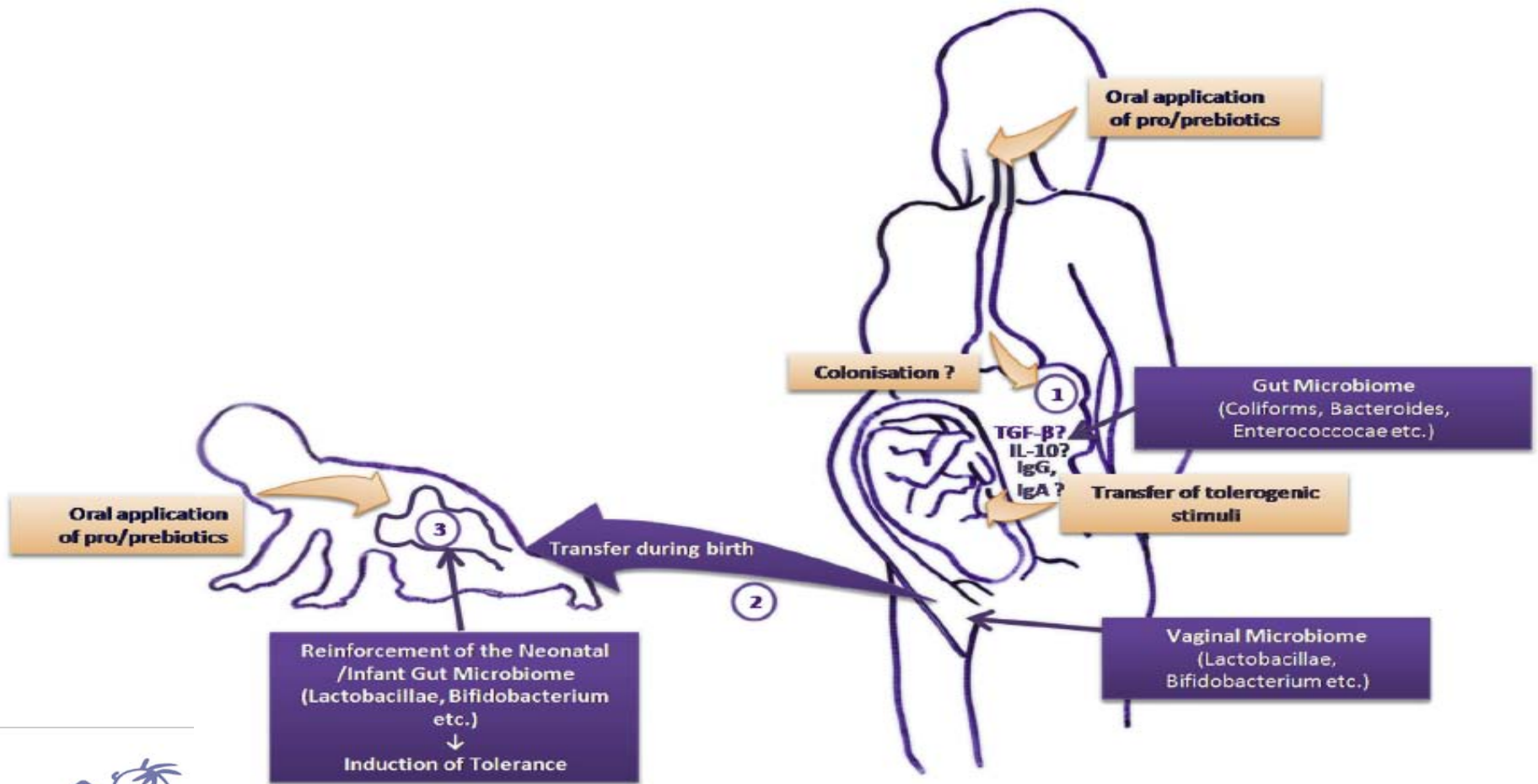
Reducción de  
*Bifidobacterias* y  
*Bacteroides*



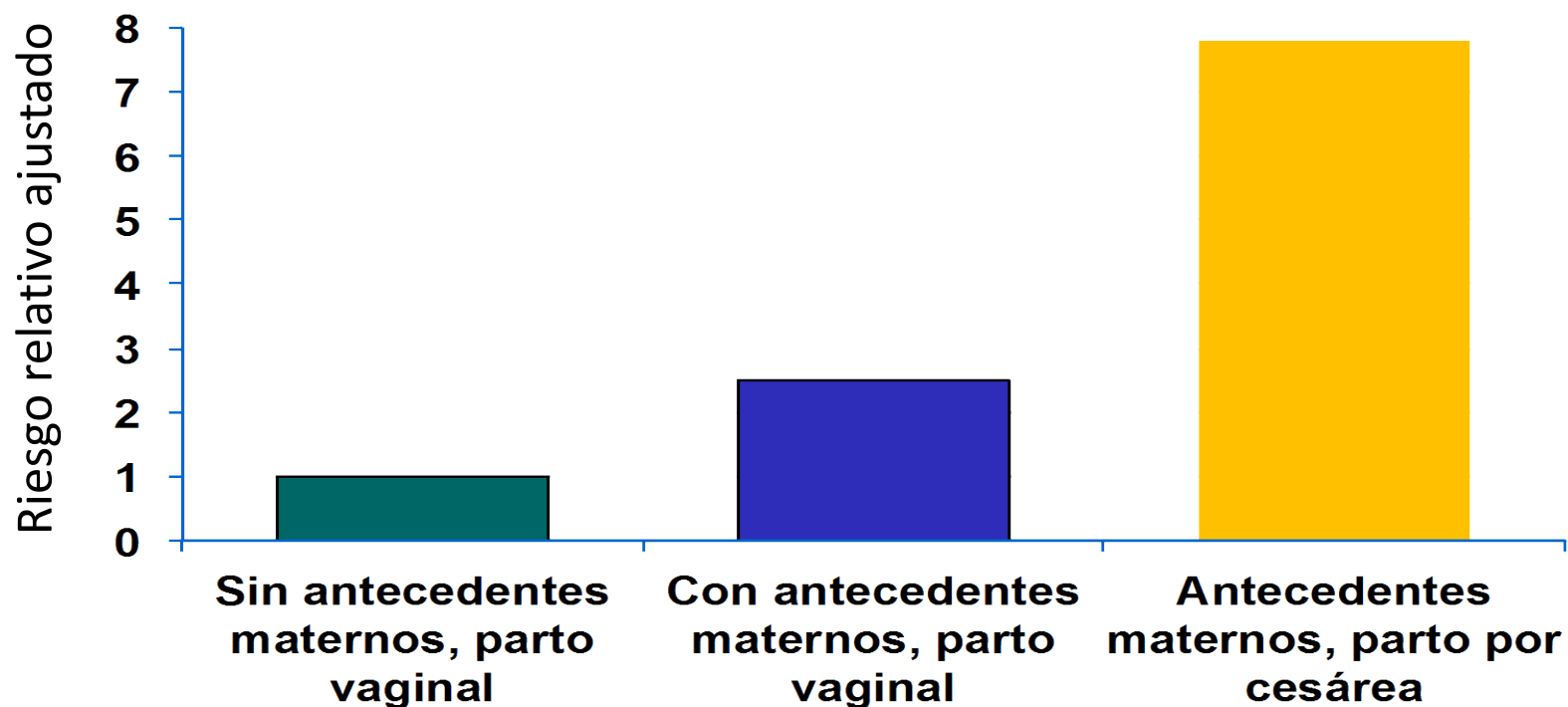
# Desarrollo de la Microbiota



# Favoreciendo la Microbiota y la Tolerancia

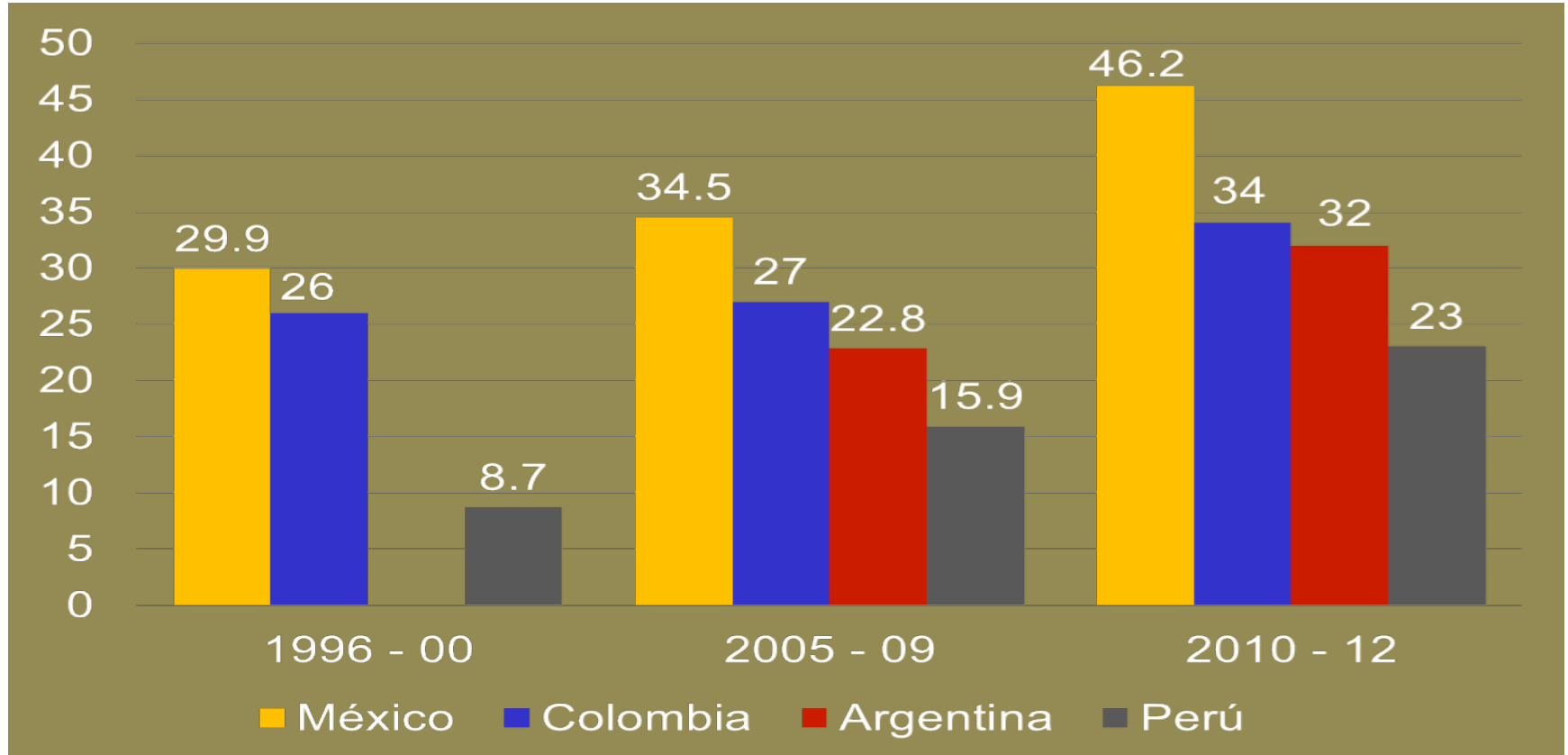


# Cesárea y Riesgo de Alergia



\*P<0,01; ajustado por covariables

# Cesáreas en Latinoamérica





# Fases de la Colonización Bacteriana

- Ambiente Intrauterino esteril?
- Fase uno: Adquisición a través de la vía de nacimiento.
- Fase dos: Adquisición a través de la alimentación durante la lactancia.
- Fase tres: Alimentación en general.
- Fase cuatro: Colonización completa (12 a 18 meses, mas de 1000 especies)



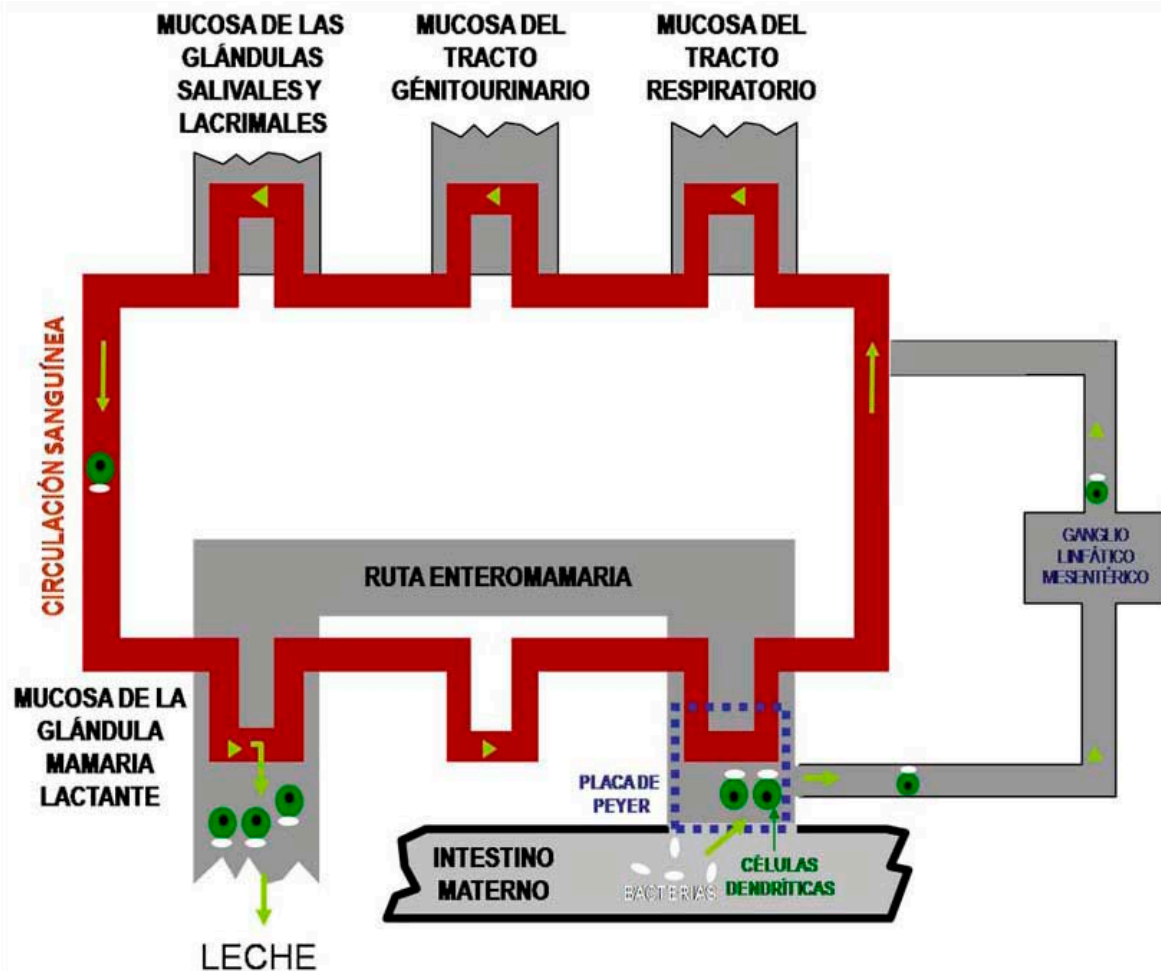
# Leche Materna

- Más de 200 especies encontradas (50 géneros).
- Primera bacteria descubierta fue un lactobacilo.
- Grandes variaciones individuales.
- Predominan: *staphylococci*, *streptococci*, *corynebacteria*, *lactobacilos* y *bifidobacterial*.
- Concentración de bacterias viables 2–4 log UFC/ml, ingesta diaria 5-7 log células.
- Distinta composición en cesárea vs trabajo de parto.



# Circulación enteromamaria

- Bacterias por traslocación del epitelio intestinal con la ayuda de células del sistema inmunitario
- Se intensifica al final del embarazo y durante la lactancia



# La leche humana es un verdadero inóculo de pro y prebióticos



100.000.000  
bacterias / día

- **Probióticos:**  
Bifidobacterias,  
Staphylococo,  
Streptococo, Lactococo,  
Enterococos y  
Lactobacilos.
- **Factores bifidogénicos:**  
Fibras y Oligosacáridos  
(FOS y GOS) que  
favorecen desarrollo de  
Bifidob y Lactobacilos

# Inmunomodulares de la leche materna

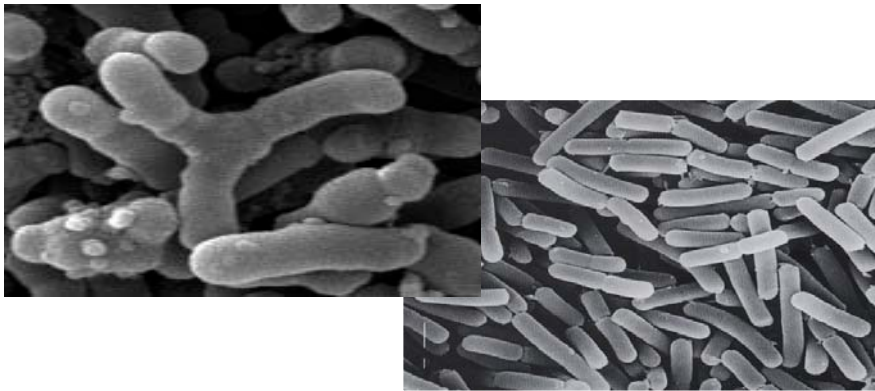
- Inmunoglobulina A
- Complejos Ag-Ac
- Lactoferrina
- Lisosima
- Oligosacáridos
- TGF beta
- IL-4
- Hormonas
- Antioxidantes



# Diferencia en la colonización bacteriana

## Leche Humana

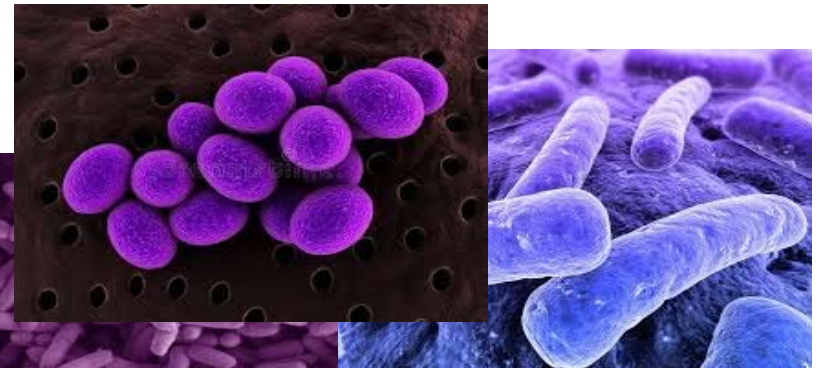
80-90 % Bifidobacteria y Lactobacillus



## Fórmula infantil

40-50 % Bifidobacteria y Lactobacilli

50-60% Staphylococcus, Clostridium y Bacteroides





# Diferencia de la composición de la microbiota intestinal

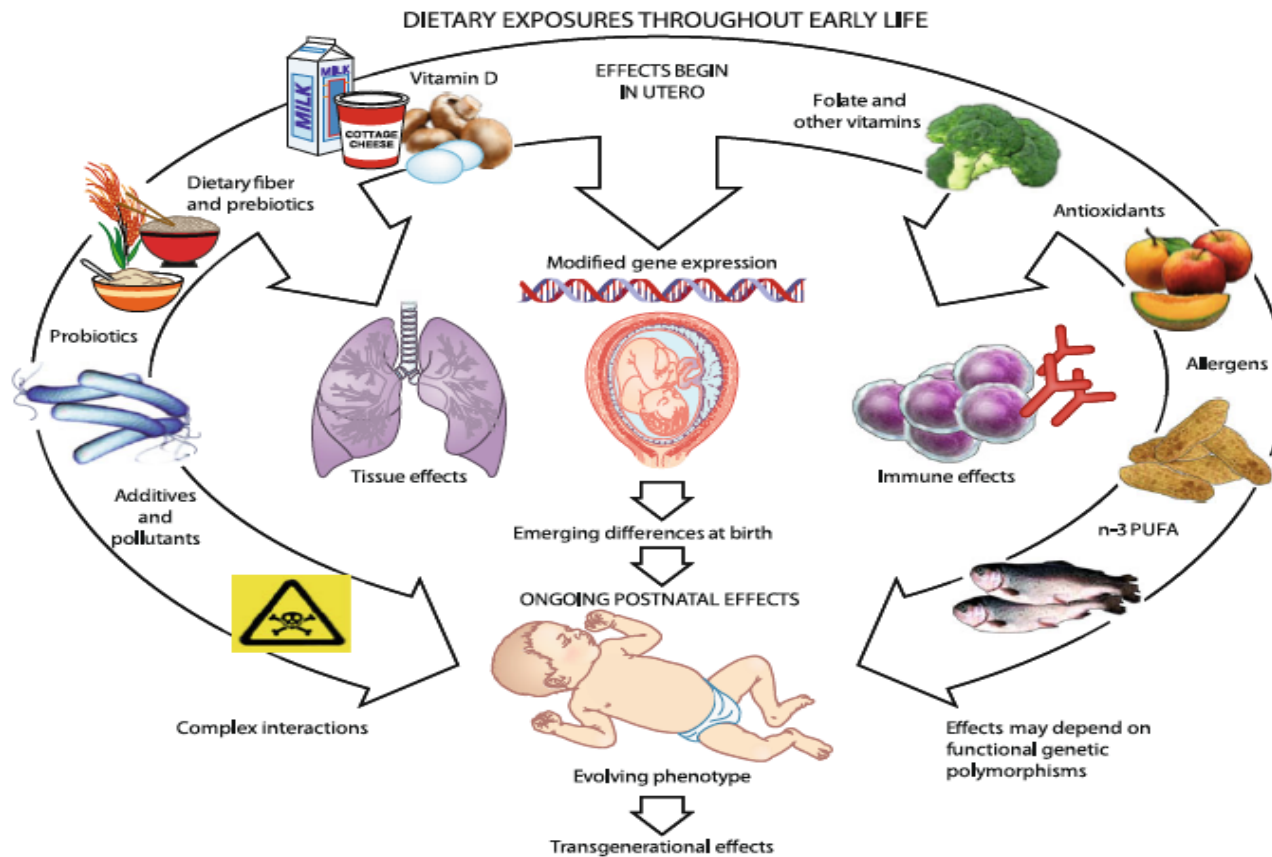
		Bifidobacteria	Lactobacillus	Bacteroides	Coliforms	Klebsiella
Niños atópicos		↓	↓	↑	↑	↑
Niños sanos	Leche materna	↑	↑	↓		↓
	Fórmula	↓		↑	↑	



# Fases de la Colonización Bacteriana

- Ambiente Intrauterino esteril?
- Fase uno: Adquisición a través de la vía de nacimiento.
- Fase dos: Adquisición a través de la alimentación durante la lactancia.
- Fase tres: Alimentación en general.
- Fase cuatro: Colonización completa (12 a 18 meses, mas de 1000 especies)





# Moduladores del Microbioma Intestinal

## PREBIOTICO

Ingrediente alimentario NO digerible, que beneficia al ser humano, a través de la estimulación selectiva del crecimiento ó la actividad de uno ó más gérmenes de la flora indígena del intestino.

## PROBIOTICO

Organismo vivo, que cuando se administra en cantidades adecuadas, coloniza el intestino y genera efectos biológicos beneficiosos en el huésped.

## SIMBIOTICO

Combinación entre Pre y Probiótico.

## POSTBIOTICO

Es el producto de la fermentación del alimento a través del uso de microorganismos beneficiosos, pero que no contienen bacteria viva.

# A modo de conclusión

- ¿Que es la microbiota y para que sirve?
- ¿Por qué es importante para la salud?
- ¿Hay diferencias entre niñez y adultez?
- ¿Es modificable?
  
- ¿Es la **SOLUCION** a todos nuestros problemas?

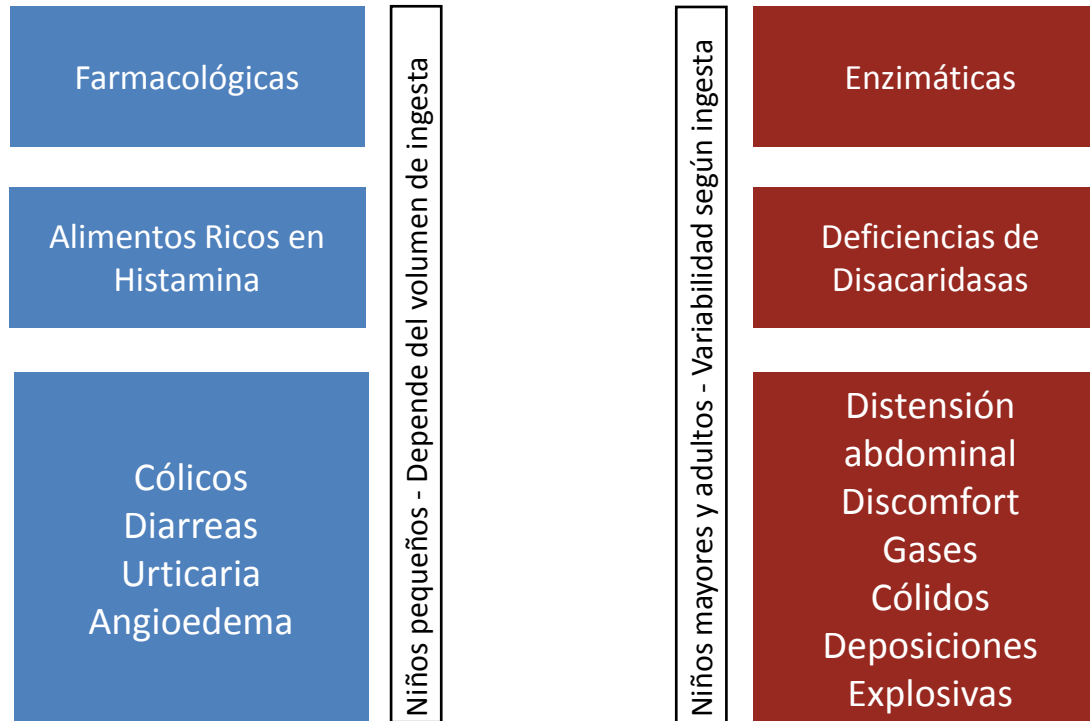




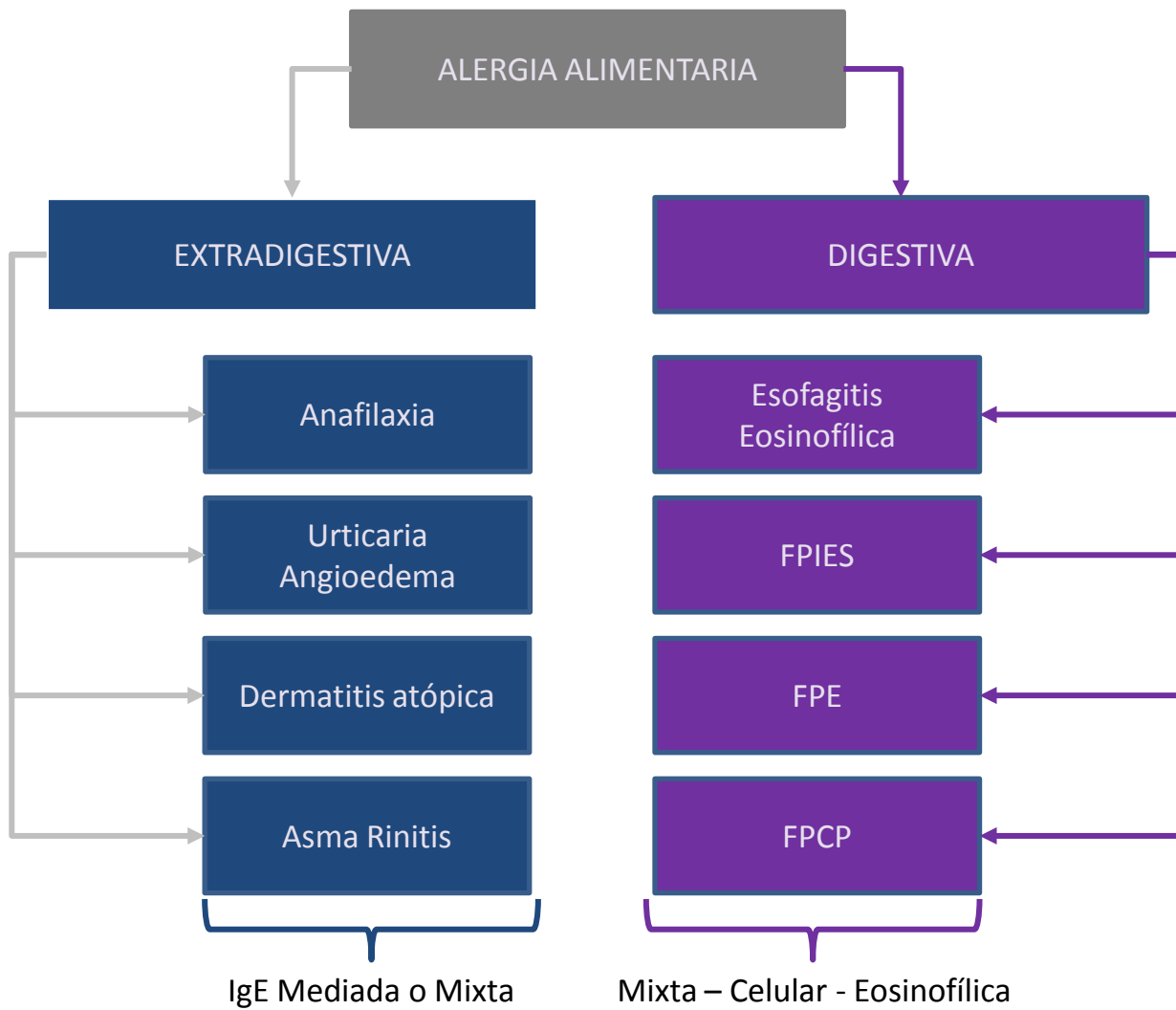
# ALERGIAS ALIMENTARIAS

Qué es importante para el neonatólogo

# Reacciones sin intervención del Sistema Inmune







# Formas de Sensibilización

- Tolerancia activa por defecto
- Ruptura del equilibrio de tolerancia
  - Ingesta en tiempos inadecuados (ocasional, adelantado o retrasado)
  - “Mala” diversidad del microbioma (tipo de nacimiento, alimentación, mascotas, hermanos, estilo de vida)
  - Adjuvantes y deficiencias de filagrina



# Hipótesis de Sensibilización I

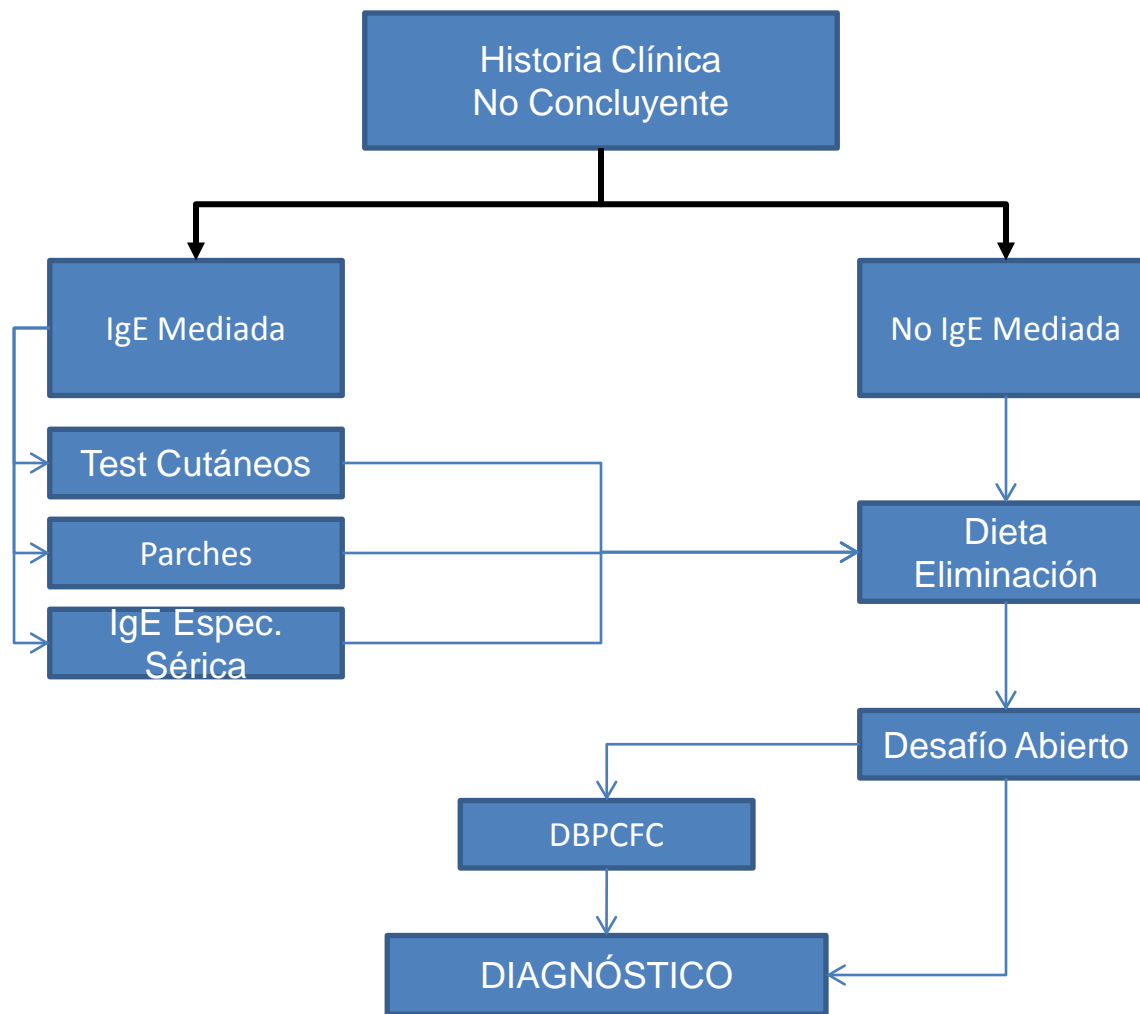
- La exposición oral es tolerígena y la sensibilización se produce por otra vía:
  - Piel
    - CLA - beta 7 - alfa4-beta7 - CCR4 - TSLP
    - Mutaciones de la filagrina
- Para evitar la sensibilización se pregona la incorporación temprana de alimentos en niños de riesgo: Maní y huevo
- No es válido para leche por estimulación de integrinas GI



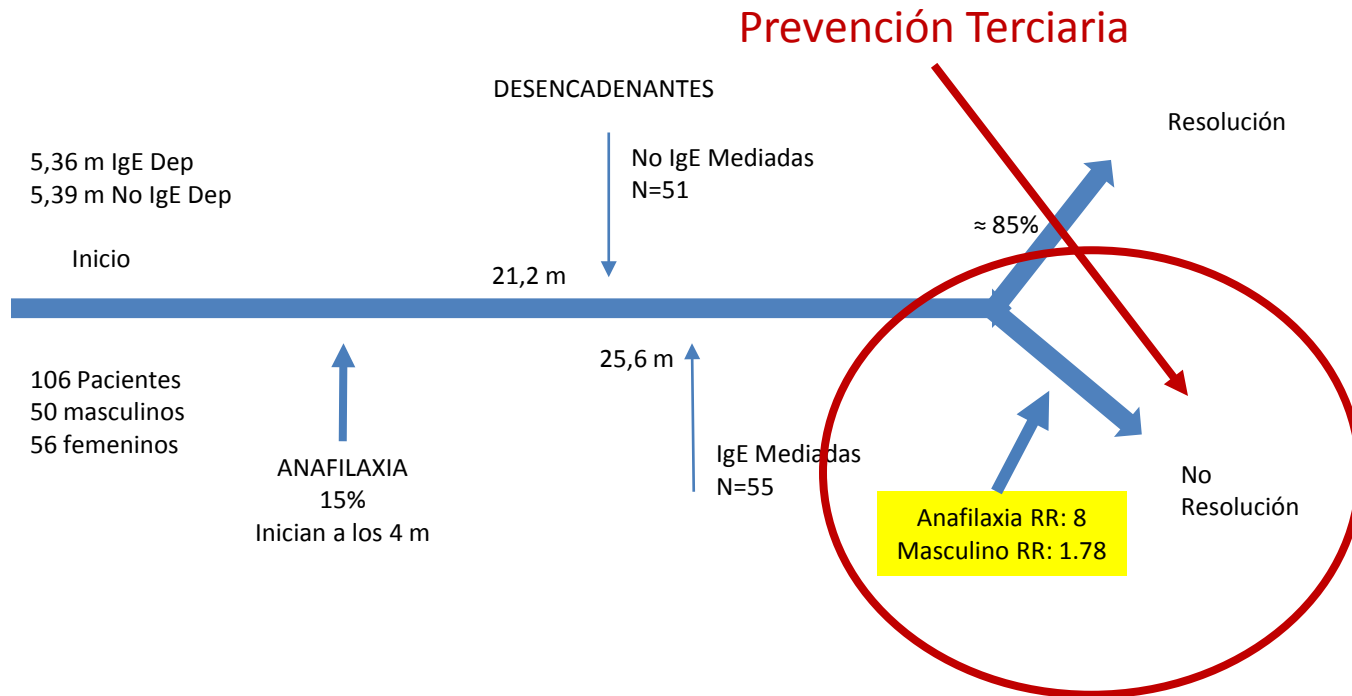
# Hipótesis de Sensibilización II

- Factores exógenos suprimen el ambiente tolerígeno del intestino alterando al sistema inmune directamente o bien por la modulación de la microbiota
- Se requiere de adyuvantes: TSST y SEB
  - Inhiben ARNm que expresa TGB-beta
  - Estimulación de IL33 e IL4
  - Estimulación de producción y migración de eosinófilos
  - Disbalance Treg/Th2





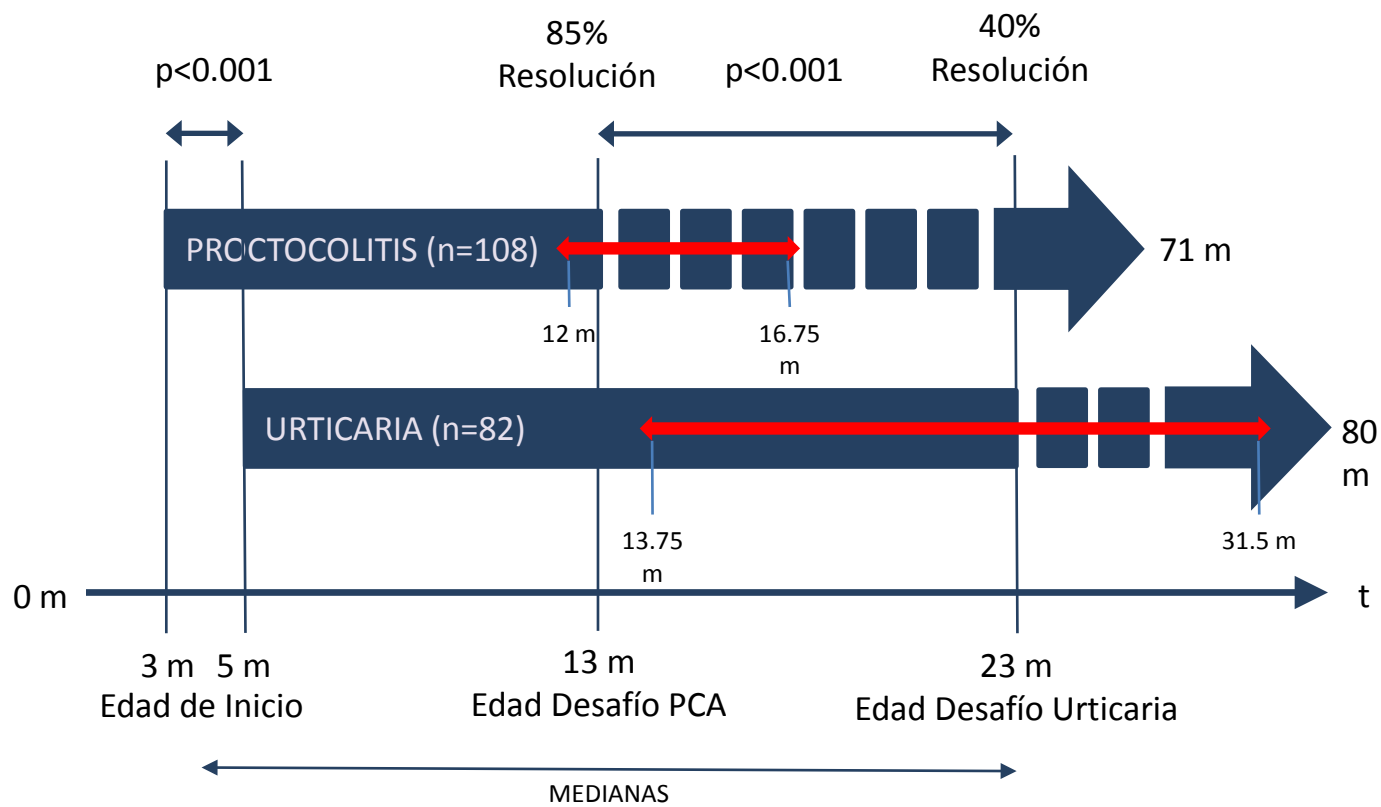
# Historia Natural de la APLV en el HB



# Comparación entre paradigmas

- Urticaria
  - IgE mediada
  - Estrictamente cutánea
  - Interfiere en la calidad de vida
  - Regular pronóstico de resolución
  
- Proctocolitis Alérgica
  - Eosinofílica
  - Sin participación de la IgE
  - Estrictamente gastrointestinal
  - Benigna
  - Buen pronóstico de resolución





Medidas para tomar frente a un correcto diagnóstico

# TRATAMIENTO EN APLV



# Tratamiento

1. Elemental
  1. Eliminación del alimento sospechoso de la dieta
  2. Deber ser total
  3. “Depende de qué se coma y no de cuánto se coma”
  4. En niños que lo necesitan optar por un reemplazo adecuado
2. Rescate
  1. Adrenalina
  2. Antihistamínicos
  3. Corticoides
  4. Hidratación
  5. Ondansetrón
  6. Omalizumab
3. Inmunoterapia (solo en IgE dependientes)
  1. Oral
  2. Sublingual
  3. Epicutánea

# Reemplazos en APLV

## Opción Soja luego de los 6 meses

- Hidrolizados de Soja: A partir de 6 meses
- Hidrolizados de Arroz
- Almendras, avena, coco, etc.

- **Leches de otros Mamíferos**

- Cabra: Alta homología
- Otros: Solo yegua o dromedario apta (cuestiones bromatológicas)

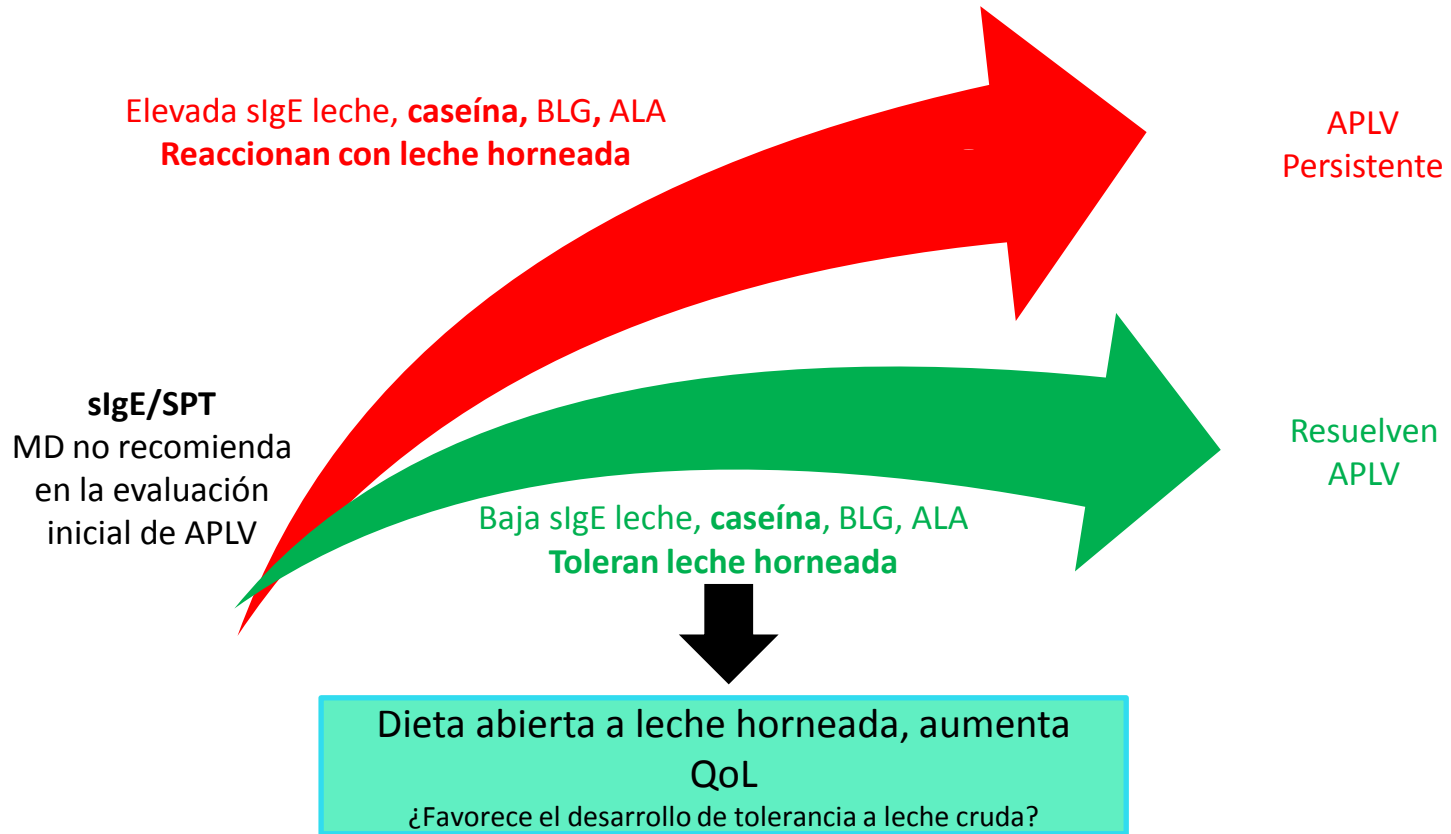
- **Leches de Vaca modificadas**

Hidrolizadas (HA): NO contienen suficiente hidrolización

## Extensamente Hidrolizadas Fórmulas de Aminoácidos

Extensamente hidrolizadas y fórmulas de aminoácidos

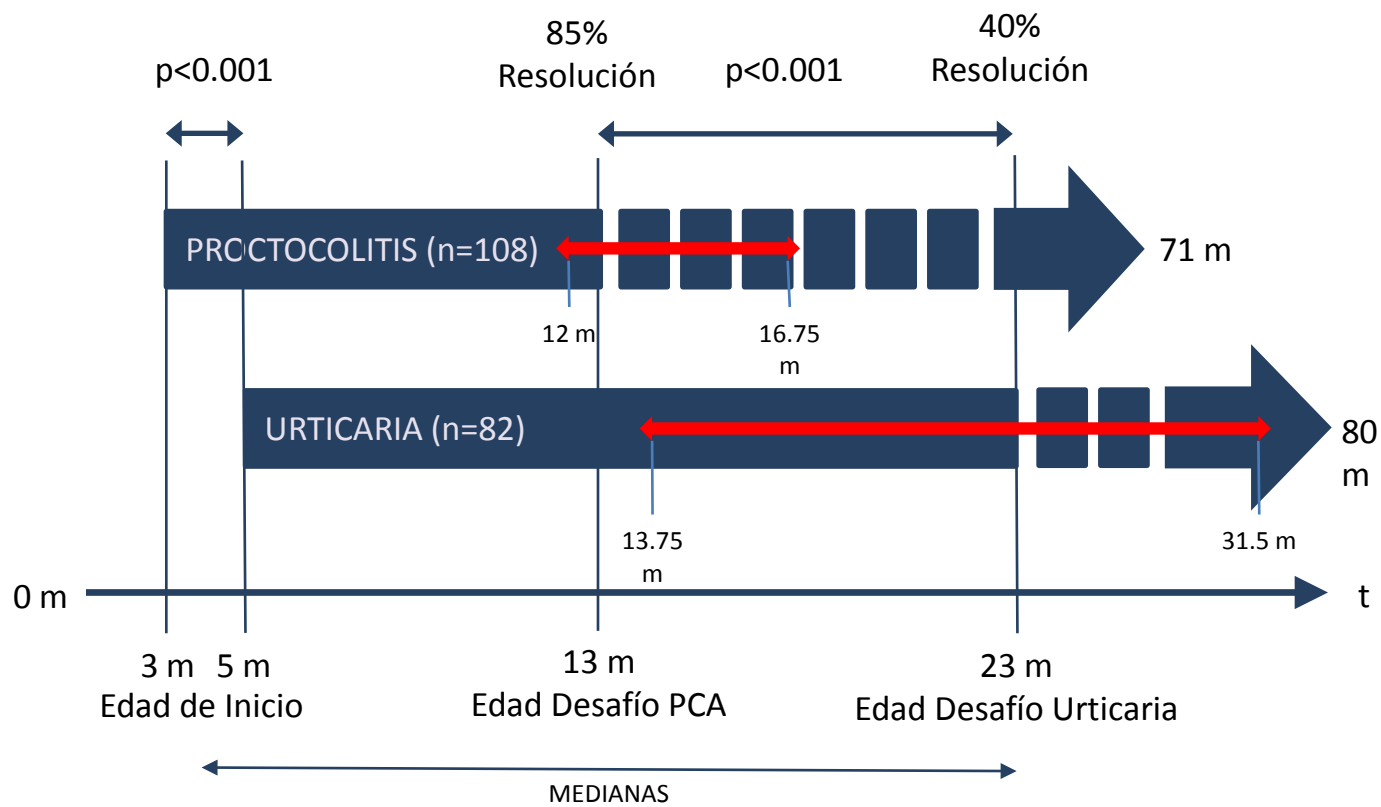
# ¿Existen opciones a la Eliminación Total?



Diagnóstico temprano... resolución temprana?

# DECISIÓN DEL ALTA DEL PACIENTE







# Herramientas para la toma de decisiones

- Antecedentes clínicos
  - Una historia de anafilaxia incrementa el RR de no resolver la AA
- Testificación cutánea
  - La testificación cutánea inicial >8mm en las patologías IgE mediadas es un factor predictivo de no resolución
  - Sin embargo la testificación cutánea parece ser sensible pero no específica para el diagnóstico y seguimiento
- IgE específica en suero
  - Idem
- Biopsias
  - Necesarias para EoE
  - Proctocolitis
- Desafío

Kianifar HR, et al. Rep Biochem Mol Biol 2016;4:98  
Saadah OI, et al. Gastroenterol Res Pract 2012 DOI:10.155/2012/328253  
Yukselen A, et al. Pediatr Int 2016;58:254  
Boonyaviwat O, et al. PAI 2015;26:737  
Alves FA, et al. Ann Allergy Clin Immunol 2015;115:161  
Gonzaga TA, et al. Allergol Immunopathol (Madr) 2018;46:241  
Soares-Weiser K, et al. Allergy. 2014 Jan;69(1):76-86  
Petritz N, et al. Arch Argent Pediatr 2017;115(4):331-335  
Peters RL, et al. JACI 2013; 132(4): 874-880  
Gomez Torrijos E, et al. J Investig Allergol Clin Immunol 2017; 27: 104-110  
Sampson H, et al. JACI 2012; 130:1260-1274  
Novak-Wergrzyn A, et al. JACI 2017;139:1111-1126

# ¿Por qué decidir el alta lo antes posible?

- Rutinas alimentarias
  - Uso de productos manufacturados
  - Adversión por alimentos nuevos
  - Temores maternos con la incorporación de nuevos alimentos
- Rutinas sociales
  - Actividades con pares
  - Actividades escolares
- Deficiencias nutricionales
  - Disminución de aportes de calcio
  - Situaciones pre-raquílicas
- Consecuencias Económicas





# Equipo de trabajo



- Sección Alergia Pediátrica
  - César Martin Bozzola
  - María Victoria Coomans (Becaria)
  - María Florencia Valverde (Cursista)
- Gastroenterología Pediátrica
  - Andrés Ditaranto
  - Jorge Vidal
- Nutrición
  - Elisabet Tassiello
- Departamento de Pediatría
  - Lucila Fernie
  - Residencia de Pediatría
- Dermatología Pediátrica
  - Fernanda Greco
- Neumonología Pediatrica
  - Silvina Smith
- Psicología
  - Andrea Ciliberto



