

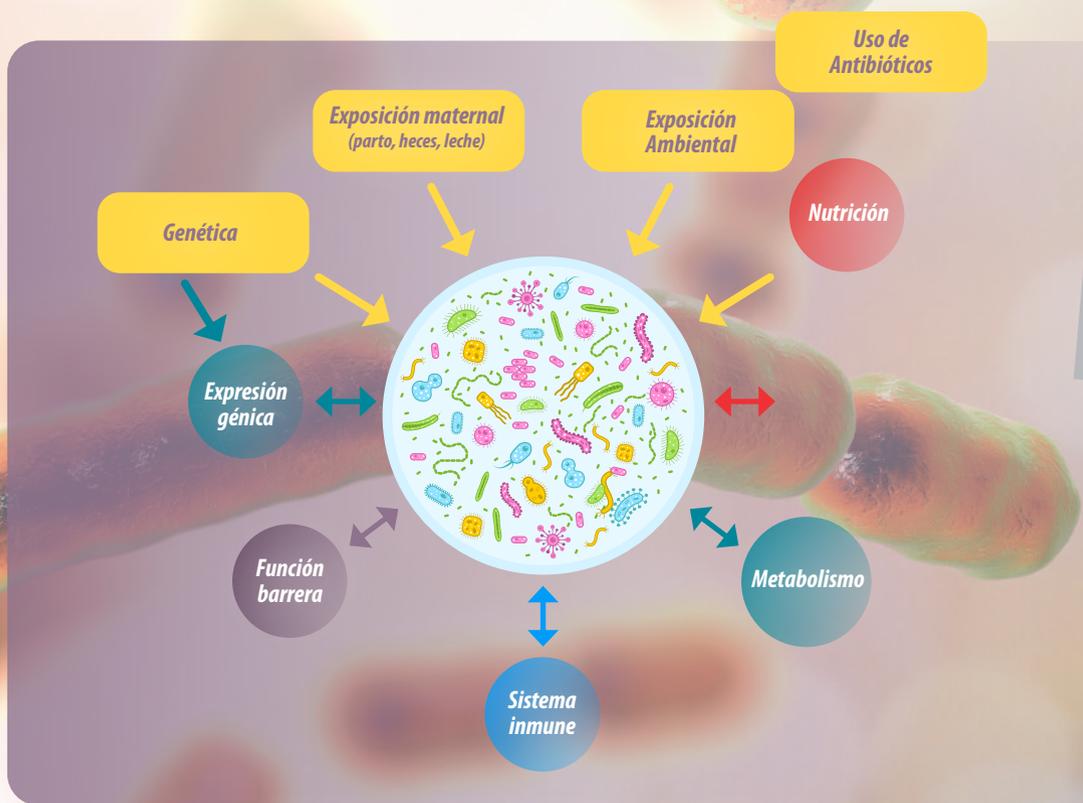
# LA MICROBIOTA Y SU PAPEL CRUCIAL EN EL DESARROLLO DEL SISTEMA INMUNE DE LECHONES RECIÉN NACIDOS

Mireia Saladrigas García & Susana Martín Orúe  
Servei de Nutrició i Benestar Animal, UAB

**E**l proceso de **colonización microbiana del intestino** después del nacimiento juega un **papel crucial** en el desarrollo del **sistema inmune neonatal de los mamíferos** con implicaciones durante toda su vida (Hansen, C. H. F. et al.2012).

Una adecuada colonización mantiene la homeostasis del sistema inmune e influye directamente en la probabilidad de desarrollo de patologías en el futuro, como, por ejemplo, las diarreas del síndrome post-destete.

La colonización microbiana temprana resulta de factores como la genética, la exposición microbiana, tanto a la madre como al ambiente, y el uso de antibióticos. Esto, a su vez, pone en marcha el **cross-talk** (conversación cruzada) entre el microbioma y el hospedador mediado por cambios en la nutrición, la inmunidad, la función de barrera, el metabolismo y la expresión génica (**Figura 1**). Por tanto, se trata de una matriz de sistemas muy compleja capaz de modular la aparición y el desarrollo de enfermedades inmunes y metabólicas.



salud animal

Figura 1. Esquema del cross-talk entre el microbioma y la homeostasis intestinal. Adaptado de Houghteling et al., 2014

De forma habitual, **los mamíferos son inoculados al pasar a través del canal de parto** (Houghteling, P. & Walker, W., 2014) a lo largo del cual se encuentran también con bacterias intestinales maternas (Makino, H. et al., 2013).

**Los lechones reciben también microbiota procedente de los boxes de maternidad, los pezones de sus madres y la leche materna**, a veces, con un mayor impacto en el desarrollo de la microbiota intestinal del neonato que las **propias heces maternas** (Chen, X., Xu, J., Ren, E., Su, Y. & Zhu, W., 2018).

En el ámbito humano se ha descrito como, al nacer, **el intestino del neonato contiene un ambiente aeróbico**, compuesto por bacterias aerobias facultativas como Escherichia y Enterococcus, que, **gradualmente, se vuelve anaeróbico**, dejando paso a bacterias anaerobias obligadas, como Clostridia, Bacteroides y Bifidobacteria (Johnson, C. L. & Versalovic, J., 2012; Jost, T., Lacroix, C., Braegger, C. P. & Chassard, C., 2012).



Asimismo, a lo largo de esta sucesión de organismos, la microbiota aumenta en diversidad (Jakobsson, H. E. et al., 2014; Koenig, J. E. et al., 2011).



Aunque se espera que algo similar ocurra en los cerdos (Thompson, C. L., Wang, B. & Holmes, A. J., 2008), **no existen muchos estudios aún que permitan comprender en profundidad el impacto de los eventos de la vida temprana en el microbioma del lechón sobre su futuro productivo** (Nowland, T., Plush, K., Barton, M. & Kirkwood, R., 2019).

- ➔ Algunos autores han descrito cómo diferentes **exposiciones al estrés o el uso de antibióticos** pueden determinar cambios en la colonización microbiana intestinal de lechones 8 días después del nacimiento con implicaciones en el desarrollo inmune. (Schokker, D. et al., 2014).
- ➔ Asimismo, se han publicado algunas evidencias que relacionan las **diferencias en la microbiota fecal de los lechones** desde los 7 días de vida con su susceptibilidad a sufrir diarrea post-destete cuatro semanas después (Dou, S. et al., 2017), enfatizando el potencial del establecimiento temprano de la microbiota sobre el desarrollo de la respuesta inmune.



**Sin embargo, este tipo de ensayos son aún limitados y por este motivo, nuestro grupo de investigación se planteó realizar diferentes estudios de campo con el fin de investigar la colonización temprana de la microbiota intestinal de los lechones durante sus primeros días de vida en el ámbito comercial.**

## INVESTIGANDO LA COLONIZACIÓN TEMPRANA DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE LOS LECHONES

### OBJETIVO

Se realizaron diferentes estudios de campo con el fin de investigar la colonización temprana de la microbiota intestinal de los lechones durante sus primeros días de vida en el ámbito comercial.

### MATERIAL & MÉTODOS



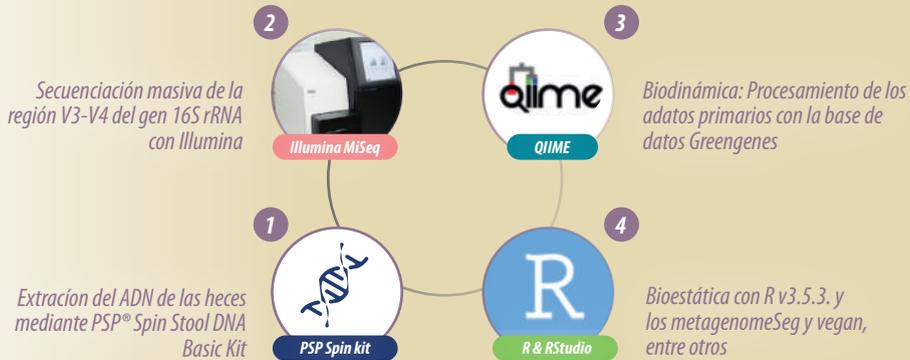
Un total de **4 granjas (A, B, C y D)** fueron seleccionadas para este estudio.

- **En las granjas A y B**, se seleccionaron 10 lechones en cada granja y se recogieron muestras repetidas de heces durante la lactación (días 2, 7, 14 y 21 de vida) y 14 días tras el destete (d36 de vida).
- **En la granja C**, se recogieron muestras de heces de 38 lechones lactantes (d21) y 26 lechones destetados (8 días post-destete, d33).
- **En la granja D**, se obtuvieron muestras de ciego de 14 lechones dos días antes (d26) y tres días después del destete (d33).

Tras extraer el ADN de las muestras, **se analizó la composición de la microbiota intestinal** mediante la secuenciación masiva del gen 16S rRNA (región V3-V4) con Illumina MiSeq.



Las lecturas de las secuencias generadas se procesaron con el software Quantitative Insights Into Microbial Ecology (QIIME) versión 1.9.1 (Caporaso, J. G. et al., 2010) y el análisis bioestadístico de la microbiota se realizó mediante el software R v3.5.3. El soporte para QIIME en R se logró a través del paquete phyloseq. (McMurdie, P.J. & Holmes, S., 2014)

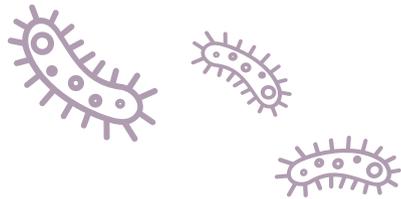


## RESULTADOS & DISCUSIÓN



En el conjunto de las 4 granjas, **se obtuvieron un promedio de 65760 ± 13853 secuencias por muestra.**

**La riqueza de especies y la diversidad de la microbiota aumentaron en los lechones de forma gradual con la edad**, en consonancia con los resultados obtenidos previamente por otros autores (Chen, X., 2018; Niu, Q. et al., 2015; Mach, N. et al., 2015) que describen un aumento continuo en la diversidad alfa de la microbiota intestinal desde el nacimiento hasta el destete. Asimismo, en el análisis de la estructura de la microbiota, se observó un **claro agrupamiento de las muestras según la edad (Figura 2).**



**Una mayor diversidad en la microbiota intestinal se ha relacionado con una microbiota intestinal más madura** y está de acuerdo con el concepto de redundancia funcional, que respalda que los taxones adicionales agreguen redundancia a funciones específicas, ayudando al ecosistema a preservar su resiliencia y estabilidad tras un estrés ambiental (Konopka, A., 2019; Naeem, S., Kawabata, Z. & Loreau, M., 1998)



SPECIAL NUTRIENTS  
**agrimprove**  
*we farm ideas*



- **Aflatoxina**
- **Zearalenona**
- **Fumonisina**
- **Vomitoxina**

**DOSIS**  
**2.5 kg**

**MYCOAD**

**DOSIS**  
**1.0 kg**

**MYCOAD AZ**

[www.mycotoxin.com](http://www.mycotoxin.com)

Escalamiento Multidimensional No Métrico (EMD-MM) de abundancia relativa de Unidades Taxonómicas Operativas (OTU)



Gráfico de dispersión de la estructura de la microbiota de los lechones de las granjas A y B

Figura 2. En este gráfico se observa cómo la edad de los lechones, representada en colores diferentes, agrupa a los lechones de ambas granjas en grupos claramente diferenciados, especialmente entre la lactación y post-destete (PD). Las estructuras de los lechones entre los días 14 y 21 de vida difieren poco entre ellas y se encuentran más mezcladas.

En el análisis de la abundancia de taxones diferenciales los filos más abundantes en todas las muestras fueron Firmicutes (49.3%) y Bacteroidetes (29.4%), seguidos de Proteobacteria (10.7%) y Fusobacteria (5.7%) (Figura 3).

El resto de los filos se presentaron con menor abundancia (<2%). Sin embargo, cabe destacar que durante los primeros días de vida (granjas A y B) se observan grandes cambios en los porcentajes que ocupan estos grupos taxonómicos.

Filos presentes en la microbiota de los lechones

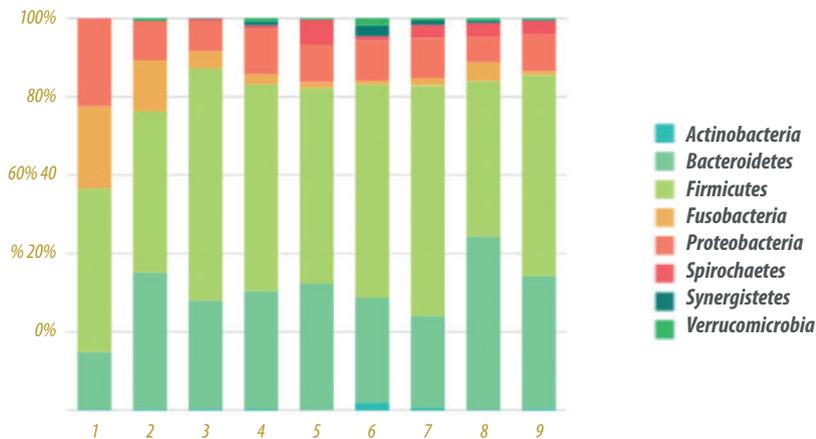


Figura 3. Abundancias relativas (en %) de los filos presentes en la microbiota de los lechones organizadas por granja y edad de los lechones. El cambio más evidente se produce durante los primeros días de vida en las granjas A y B, donde destaca una mayor abundancia del filo Fusobacteria.

- En la literatura, Bacteroidetes, Firmicutes y Proteobacteria constituyen, en términos generales, los tres filos predominantes de la microbiota de los lechones (Chen, X., et al, 2018; Chen, L. et al., 2017; Holman, D. B. et al, 2017; Kim, H. B. et al., 2012).
- Firmicutes representó en este estudio el filo predominante, tanto en lechones lactantes como destetados, de acuerdo con lo descrito por Chen et al. (Chen, L. et al., 2017).
- Sin embargo, otros autores han reportado a Bacteroidetes como el filo más abundante en lechones destetados (Pajarillo, E. A. B., 2011; Hu, J. et al., 2016).
- Los diferentes ambientes y dietas entre los experimentos podrían explicar esta disparidad en la estructura de la microbiota intestinal de los lechones. A nivel de filo cabe reseñar también la importancia del filo Fusobacteria, muy predominante durante la lactancia, pero con una disminución drástica en el tiempo. Este mismo resultado ha sido descrito anteriormente por otros autores (Chen, X., et al. 2018; Niu, Q. et al., 2015; Chen, L. et al., 2017; Pajarillo, E. A. B., 2011; Hu, J. et al., 2016) aunque todavía se desconoce la trascendencia de esta bacteria en el proceso de colonización microbiana del intestino.

**En las granjas C y D, se observan con mayor detalle los cambios producidos por el efecto del destete.**

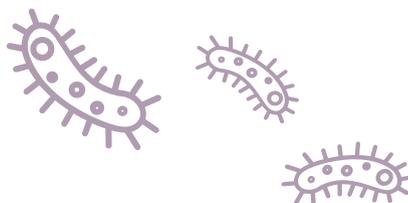
En estos estudios se observó que, pese a que los filos más abundantes (Firmicutes, Bacteroidetes y Proteobacteria) no revelaran grandes cambios en su abundancia relativa, sí se observaban efectos significativos entre sus familias y géneros. Tan sólo el filo Fusobacteria mostró una disminución notable tras el destete, tal y como mostraba el proceso de colonización temprano observado en las granjas A y B.

**A nivel familiar,** Fusobacteriaceae, Clostridiaceae y Enterobacteriaceae fueron **mayoritarias** durante los primeros días de vida (d7-d21), representando, en conjunto, entre un 50-60% de la abundancia relativa.

A lo largo de las semanas se observó una **disminución progresiva** en las abundancias relativas de Clostridiaceae, Enterobacteriaceae, Fusobacteriaceae, Pasteurellaceae y Streptococcaceae (**Figura 4**). A cambio, familias como Campylobacteraceae, Erysipelotrichaceae, Ruminococcaceae y Prevotellaceae aumentan gradualmente con la edad.

Otras familias como Lachnospiraceae, Lactobacillaceae y Veillonellaceae, **presentan una mayor variabilidad**, aumentando durante las primeras semanas de vida para descender nuevamente antes del destete. Abundancias iniciales similares, así como su drástico descenso con la edad de los lechones, fue descrito también por otros autores (Chen, X. et al., 2018; Niu, Q. et al., 2015; Chen, L. et al., 2017; Pajarillo, E. A. B. et al., 2011; Hu, J. et al., 2016; Frese, S. A., et al., 2015).

Asimismo, y en consonancia con otros estudios, familias como Ruminococcaceae y Lachnospiraceae **incrementan significativamente con la edad** (Chen, L. et al., 2017; Li, Y. et al., 2018; Frese, S. A., 2015) aprovechando el nicho ecológico que dejan las anteriores familias. Estas familias han sido relacionadas con la fermentación de carbohidratos complejos, y, probablemente, reflejan la evolución y la adaptación del ecosistema intestinal hacia una dieta sólida.



**Tras el destete, se observaron reducciones significativas** de Bacteroidaceae, Enterobacteriaceae, Fusobacteriaceae y Lactobacillaceae.

Al mismo tiempo, Prevotellaceae, Lachnospiraceae y Erysipelotrichaceae aumentaron significativamente después del destete.

A nivel de género, dos géneros predominantes (>1%) mostraron aumentos significativos después del destete, incluyendo p-75-a5 y *Roseburia*.

La abundancia relativa de *Bacteroides*, *Fusobacterium* y *Lactobacillus* disminuyó en lechones destetados.

- ▶ En particular, *Bacteroides*, que abundaba en el intestino de los lechones lactantes, disminuyó en :
  - Granja C, de 15.04 a 4,93%
  - Granja D , de 7.01% a 2.58%
- ▶ Entre los géneros no predominantes (<1%), también se detectaron varios cambios significativos, como, por ejemplo, una mayor abundancia de *Coprococcus*, *Dorea*, *Succinivibrio* y *Treponema* en lechones destetados.



**Abundancias relativas más altas de *Bacteroides* y *Lactobacillus* en lechones lactantes** han sido correlacionadas con un microbioma orientado a la leche (Frese, S. A., , 2015).

Por un lado, se ha observado que *Bacteroides* consume una amplia gama de oligosacáridos de leche y glucanos derivados del huésped (Marcobal, A. et al, 2010).

Por otro lado, ***Lactobacillus* es un conocido productor de lactato** al consumir azúcares de leche simples como la lactosa (Schwab, C. & Gänzle, M., 2011).

De hecho, se ha observado que *Lactobacillus* juega un papel importante en el establecimiento y el mantenimiento de la homeostasis bacteriana después del nacimiento (Konstantinov, S. R. et al., 2006).

Principales familias presentes en la microbiota de los lechones

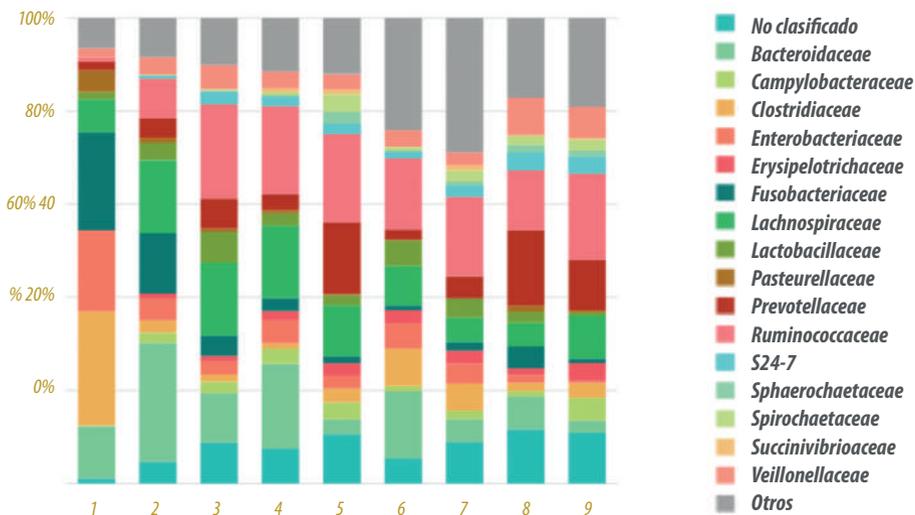


Figura 4. Abundancias relativas (en %) de las 16 principales familias presentes en la microbiota de los lechones organizadas por granja y edad de los lechones.



- ➔ El **cambio abrupto a una dieta sólida basada en cereales y la retirada de leche** explican la disminución de los géneros mencionados anteriormente y el aumento de los géneros productores de butirato (Zhao, J. et al., 2018) incluidos los pertenecientes a las familias Ruminococcaceae y Lachnospiraceae, entre otras.
- ➔ **Géneros como *Roseburia*, *Prevotella* y *Dorea*, están adaptados para metabolizar una amplia gama de oligosacáridos y polisacáridos complejos** mientras producen ácidos grasos de cadena corta (SCFA). El SCFA resultante de la fermentación bacteriana es una fuente de energía esencial para los enterocitos y puede promover la salud intestinal al inhibir la inflamación, reducir el estrés oxidativo y mejorar la función de barrera intestinal (Hamer, H. M. et al., 2008), convirtiéndose en esencial para los lechones destetados. Asimismo, otros géneros relacionados con la fermentación de carbohidratos, como *Succinivibrio* (Bryant, M., 2015), incrementan también con la edad y, especialmente, tras el destete.



## CONCLUSIÓN

El **proceso de colonización microbiana intestinal** de los lechones siguió un **patrón de evolución similar** entre diferentes granjas, tanto en lo **referente a la riqueza de especies y la diversidad de la microbiota**, que aumentaron en los lechones de forma gradual con la edad, como respecto a los grupos taxonómicos implicados en este proceso.

Esto nos indica que **existe una pauta en el establecimiento de la microbiota inicial**, que evoluciona desde un microbioma orientado a la degradación de los carbohidratos de la leche hacia otro más complejo, orientado a la fermentación de carbohidratos complejos, reflejando la evolución y la adaptación del ecosistema intestinal hacia una dieta sólida.

Más estudios son necesarios para establecer cómo la modulación de este patrón de colonización en edades tempranas podría impactar sobre la salud intestinal del lechón y el desarrollo de su sistema inmune.

Agradecemos al Grupo Vall Companys y en particular a Jaume Coma, Jordi Bonet y Mario Duran su colaboración en la mayoría de los estudios presentados en este trabajo.

La Microbiota y su papel crucial en el desarrollo del Sistema Inmune de los lechones recién nacidos

DESCÁRGALO EN PDF



# BIMULAC® PRE

LECHONES



## PREVENCIÓN DE LA DIARREA NEONATAL

- + Suprime los patógenos causantes de la diarrea
- + Fomenta la inmunidad local
- + Reduce la mortalidad
- + Reduce el uso de antibióticos



**Contacto:**  
Paulo Ricardo Lima de Oliveira  
Teléfono: +55 11 3370 5644  
E-mail: oliveira@biochem.net

 **Biochem**  
Feed Safety for Food Safety®