



# **UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

## **FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**

### **ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA**



### **MICROBIOTA INTESTINAL EN RECIÉN NACIDOS**

### **ALIMENTADOS CON LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA A**

**3824 M.S.N.M. HOSPITAL III ESSALUD JULIACA - 2020**

### **TESIS**

### **PRESENTADA POR:**

**Bach. MARY CARMEN COYA CUTISACA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO CÍRUGANO**

**PUNO – PERÚ**

**2020**



## DEDICATORIA

*A DIOS con mucho respeto y amor quien supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante, ser mí guía en los momentos más difíciles y por proporcionarme sabiduría para la culminación de mí carrera profesional*

*A mi padre Pedro que me ha brindarme su apoyo, consejos y por alentarme a seguir adelante, a mi madre Angélica que es mi ejemplo de constancia, dedicación, es mi fortaleza e inspiración diaria para no rendirme frente a las adversidades.*

*A mis hermanos Juvenal, Lourdes, Rosalía, Gladys y Rudy, que me apoyan de diferentes maneras, me impulsan a ser mejor y me llenan de alegría, a mis hermosos sobrinos Bryan, Jackeline, Katherine, Diego, Thiago, Ostin y Valentina que desde que nacieron llenaron mi vida de felicidad.*

*A mis amigos, con quienes compartí momentos inolvidables durante mi formación profesional que siempre perdurarán en mi corazón.*



## AGRADECIMIENTO

*Mi especial gratitud y reconocimiento: A mi alma mater la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, Por acogerme y brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente, preparándome para un futuro mejor y una persona de bien.*

*Con profundo cariño, aprecio y respeto a mi director y asesor de investigación, Dr. Tania Roxana Aguilar Portugal, por su paciencia, orientación, apoyo moral y ayuda incondicional, durante el proceso de desarrollo y su culminación de mi trabajo de investigación.*

*A la Lic Rossmar Cruz Prieto por su apoyo incondicional, consejos, por haber colaborado en la preparación de los materiales para llevar a cabo este trabajo de investigación.*

*A la prestigiosa Facultad de Medicina Humana, docentes y administrativos, quienes impartieron conocimientos, su experiencia y su paciencia para mi formación profesional.*

*A los miembros jurados calificador, Dr. Edy Mercado Portal, Dr. Gilberto Felix Peña Vicuña, Dr. Dante Elmer Hanco Monrroy, por sus sugerencias y aportes en la culminación del presente trabajo de investigación*



## INDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTO**

**INDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN .....10**

**ABSTRACT.....11**

### **CAPÍTULO I**

#### **INTRODUCCIÓN**

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....12

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....13

1.3 HIPOTESIS CONCEPTUAL .....13

1.4 JUSTIFICACION DEL ESTUDIO.....14

1.5 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN .....15

1.5.1. OBJETIVO GENERAL .....15

1.5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....15

### **CAPÍTULO II**

#### **REVISIÓN DE LITERATURA**

2.1 MARCO TEORICO.....16

2.1.1 MICROBIOTA INTESTINAL.....16

2.1.2 MICROBIOTA DEL RECIEN NACIDO .....16

2.1.3 BENEFICIOS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL .....17

2.1.4 ADQUISICIÓN Y DESARROLLO DE LA MICROBIOTA.....17



2.1.5	FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MICROBIOTA INTESTINAL	19
2.1.6	LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA.....	21
2.1.7	IMPORTANCIA DE LA LME.....	21
2.1.8	BENEFICIOS DE LA LACTANCIA MATERNA .....	22
2.1.9	PREVALENCIA DE LACTANCIA MATERNA.....	23
2.1.10	COMPOSICION DE LECHE MATERNA.....	24
2.2	ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	24
2.2.1	A NIVEL INTERNACIONAL .....	24
2.2.2.	A NIVEL DE LATINOAMÉRICA .....	31
2.2.3.	A NIVEL NACIONAL .....	31
2.2.4	A NIVEL LOCAL .....	33

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

3.1	METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN .....	34
3.1.1	TIPO DE ESTUDIO .....	34
3.2	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	34
3.2.1	POBLACIÓN.....	34
3.2.2	MUESTRA .....	34
3.2.3	UNIDAD DE ESTUDIO.....	34
3.2.4	CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN .....	35
3.3	TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	35
3.3.1	TÉCNICA RECOLECCIÓN DE DATOS .....	35
3.3.2	TÉCNICA RECOLECCIÓN DE MUESTRA Y ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA .....	36
3.3.3	VARIABLES .....	38



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS .....	40
4.2 DISCUSION .....	43
<b>V. CONCLUSIONES .....</b>	<b>48</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>50</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>54</b>

**Área : Medicina De Altura**

**Tema : Recién Nacidos**

**FECHA DE SUSTENTACION: 29 de Mayo del 2020**



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Cambios de la flora intestinal desde el nacimiento hasta la vejez.....	19
<b>Figura 2:</b>	Aislamiento e identificación de cepas de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME. Hospital III EsSalud Juliaca - 2020.....	40



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Operacionalización de variables .....	38
<b>Tabla 2:</b> Cuantificación de cepas de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME Hospital III EsSalud Juliaca - 2020 .....	41
<b>Tabla 3:</b> Diferencias entre la microbiota del RN alimentado con LME a nivel del mar y a una altitud de 3824 m s.n.m. hospital III EsSalud Juliaca – 2020.....	42



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

<b>LME:</b>	<b>Lactancia Materna Exclusiva</b>
<b>RN:</b>	<b>Recién Nacido</b>
<b>LH:</b>	<b>Leche Humana</b>
<b>M s. n. m.:</b>	<b>Metros Sobre El Nivel Del Mar</b>
<b>XLD:</b>	<b>Xilose Lysine Deoxycholate</b>
<b>MRS:</b>	<b>Man Rogosa Sharpe</b>
<b>TSI:</b>	<b>Triple Sugar Iron Agar</b>
<b>LIA:</b>	<b>Lysina Iron Agar</b>
<b>GALT:</b>	<b>Gut-Associated Lymphoid Tissue</b>
<b>PAMP:</b>	<b>Patrones Moleculares Asociados a Patógenos</b>
<b>TLR:</b>	<b>Toll Like Receptor.</b>
<b>CD:</b>	<b>Células Dendríticas.</b>



## RESUMEN

La microbiota intestinal en recién nacidos alimentados con lactancia materna exclusiva a 3824 m s.n.m. Hospital III EsSalud Juliaca – 2020. La microbiota intestinal participa en eventos de homeostasis e inmunidad intestinal de trascendencia para la salud humana. Determinar la microbiota intestinal en RN alimentados con LME a 3824 m s.n.m. Aislar, Identificar y cuantificar las cepas de microorganismos en meconio de recién nacidos alimentados con lactancia materna exclusiva y determinar si existe diferencias entre la microbiota del RN con LME a nivel del mar y a una altitud de altitud de a 3824 m s.n.m. Estudio observacional, analítico, transversal, prospectivo: que incluyó 40 RN de parto vaginal de ambos sexos entre 37 y 41 semanas que recibieron LME, en los cuales se recolectó muestra de meconio al tercer día de nacido durante el periodo diciembre 2019 a febrero 2020. Se empleó dos tipos de medios de cultivo MRS y XLD, y medios diferenciales bioquímicos, para diferenciar a los microorganismos. Del 100% de muestras, se encontró: *Lactobacillus sp* en 95.0 %, *Escherichia coli* en 82,55 %, *Lactococos sp.* en 57,5 %, *Bifidobacterium* 32.5 %, *Enterobacter sp* 20.0, *Proteus sp* 7,5 %, %, *Klebsiella sp* 2,5%. Además se encontró que un 70% muestra un alto crecimiento bacteriano, 25% de crecimiento medio, y 5% de bajo crecimiento. A 3824 m.s.n.m. encontramos una colonización mayor en *Lactobacillus sp.* 95.00% y *Escherichia coli* 82,50%. En RN alimentados con LME a 3824 m s.n.m. encontramos alto porcentaje de *Lactobacillus sp*, *Escherichia coli*, *Lactococos sp*, y *Bifidobacterium*, y en menor porcentaje *Enterobacter sp*, *Proteus sp*, *Klebsiella sp*. Nuestros hallazgos en la altitud indican que existiría una mayor colonización de *Bifidobacterium sp.*, y *E. coli* a diferencia de los hallazgos encontrados a 30 m s. n.m.

**Palabras Clave:** Microbiota, Recién Nacido, Lactancia Materna Exclusiva



## ABSTRACT

The gut microbiota in infants exclusively breastfed at 3824 m.a.s.l. Hospital III EsSalud Juliaca - 2020. The intestinal microbiota participates in events of homeostasis and intestinal immunity of importance for human health. To determine the intestinal microbiota in infants fed SCI at 3824 m a.s.l. Isolate, identify and quantify the strains of microorganisms in meconium of newborns fed exclusively breastfeeding and determine if there are differences between the LN microbiota with SCI at sea level and at an altitude altitude of 3824 m asl. Observational study, analytical, cross-sectional, prospective: that included 40 newborns of vaginal delivery of both sexes between 37 and 41 weeks who received SCI, in which a meconium sample was collected on the third day of birth during the period December 2019 to February 2020. Two types of MRS and XLD culture media, and biochemical differential media, to differentiate microorganisms. Of 100% of samples, it was found: Lactobacillus sp in 95.0%, Escherichia coli in 82.55%, Lactococos sp. in 57.5%, Bifidobacterium 32.5%, Enterobacter sp 20.0, Proteus sp 7.5%, Klebsiella sp 2.5%. Furthermore, it was found that 70% show high bacterial growth, 25% medium growth, and 5% low growth. At 3824 m.a.s.l. we found a major colonization in Lactobacillus sp. 95.00% and Escherichia coli 82.50%. In LN fed with LME at 3824 m a.s.l. we found a high percentage of Lactobacillus sp, Escherichia coli, Lactococos sp, and Bifidobacterium, and in a lower percentage Enterobacter sp, Proteus sp, Klebsiella sp. Our findings at altitude indicate that there would be a greater colonization of Bifidobacterium sp., And E. coli unlike the findings found at 30 ms. n.m.

**Keywords:** Microbiota, Newborn, Exclusive Breastfeeding.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Ejecutamos el siguiente trabajo de investigación ante la necesidad de aportar conocimiento científico sobre el comportamiento de la microbiota intestinal en recién nacidos (RN) alimentados con leche materna a 3824 m. s. n. m.

La importancia de la lactancia materna para el RN es vital, sus ventajas en aspectos como nutrición, inteligencia, prevención de enfermedades son reconocidas, pero no se cuenta con reportes científicos de su comportamiento en altitud y cuáles son sus características específicas y diferenciales.

Desde la salud pública la difusión de la lactancia materna (LM) debe contar con un sustento científico que explique detenidamente las ventajas, favoreciendo la información a las madres para su práctica en prevención del síndrome metabólico en el adulto.

Tomando en cuenta la importancia del desarrollo de enfermedades como el síndrome metabólico, que cada vez se presenta con mayor frecuencia y le genera mayor gasto al presupuesto en salud, es necesario la prevención de esta patología, demostrando la vital importancia de la leche materna y su influencia en el microbiota intestinal del RN

De manera particular, las comunidades microbianas que componen el tracto gastrointestinal han sido denominadas como microbiota intestinal o comensal, la mayor parte reside en el intestino grueso, y superan las cifras de  $10^{12}$ -  $10^{14}$  entidades. Estos microorganismos mantienen una relación simbiótica con el huésped, en la cual la microbiota contribuye a múltiples procesos fisiológicos del individuo, y obtiene de este el entorno y los nutrientes que precisa para su supervivencia (1). La microbiota intestinal juega un papel activo en la digestión y fermentación de carbohidratos, en la producción de vitaminas, en el desarrollo y maduración del sistema inmunitario mucosa gastrointestinal (GALT) y en la defensa frente a patógenos intestinales. Al nacimiento,



el recién nacido cuenta con un sistema inmunitario completo, pero relativamente inmaduro, reflejo de la inmadurez de los mediadores y efectores de la respuesta inmunitaria. En este proceso de maduración los microorganismos comensales juegan un papel clave, constituyen uno de los primeros estímulos inmunogénicos que el RN enfrenta y su reconocimiento corre a cargo de receptores presentes en las células del sistema inmunitario inespecífico, fundamentalmente: células dendríticas (CD) y macrófagos, que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) expresados por las bacterias, virus y hongos que componen la microbiota, *toll like receptor* (TLR) constituyen los receptores encargados de este reconocimiento, tras el cual se activan una serie de señales bioquímicas en el interior de las CD y los macrófagos que conducen a la tolerancia inmunitaria, es decir, a la ausencia de respuesta inmune frente a microorganismos comensales. La magnitud y calidad de esta respuesta depende del tipo de microorganismo, concentración y microambiente (2). Farias M. et al indican la microbiota intestinal regula en gran medida la inmunidad innata y adaptativa e influye en las respuestas locales y sistémicas, por tanto, también podría influir en la inflamación crónica asociada a la obesidad y resistencia a la insulina (3).

Es conocido que con mayor frecuencia se abandona la lactancia materna por diferentes circunstancias de la madre o el RN, agudizando estas modificaciones en la microbiota intestinal, no tenemos referencia exacta de su comportamiento en la altitud y menos aún de las secuelas a largo plazo en la salud enfermedad de los no amamantados, en condiciones de altitud; considerando estos aspectos planteamos la siguiente interrogante investigativa

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las características de la microbiota intestinal en recién nacidos alimentados con lactancia materna exclusiva a 3824 m.s.n.m. Hospital EsSalud III Juliaca - 2020?

## 1.3 HIPOTESIS CONCEPTUAL

### HIPOTESIS GENERAL

**H<sub>i</sub>**: Dado que el recién nacido recibe lactancia materna exclusiva, en condiciones



de altitud se espera una microbiota con abundante colonización intestinal de *Lactobacillus sp*, *Escherichia coli*, *Lactococos sp*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter sp*, sin diferencia en relación a nivel del mar.

## HIPOTESIS SECUNDARIAS

**H<sub>IA</sub>** : la lactancia materna exclusiva influye al desarrollo de la microbiota intestinal comensal adecuada, con microorganismos más frecuentes como: *Lactobacillus sp*, *Escherichia coli*, *Lactococos sp*, *Bifidobacterium*, *Enterobacter sp*, las cuales esperamos encontrar.

**H<sub>IB</sub>** : La microbiota intestinal se compone por un complejo número de bacterias que se presentan a su vez en alto porcentaje a nivel del mar, a nivel de altitud no esperamos diferencias significativas.

### 1.4 JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

El conocimiento científico de la microbiota intestinal en el RN ha mostrado importantes avances, sus modificaciones e implicancias en la salud del niño y posteriormente en la salud del adulto van tomando prioridad, a pesar de los diferentes estudios sobre microbiota intestinal en el RN, no se hallan aún registro de estudios realizados sobre microbiota intestinal en RN alimentados con LME en altitud, motivo por el cual se aborda la presente investigación.

El estudio científico de la microbiota intestinal del RN alimentado con LME, en condiciones de altitud, implica una acción moderatoria de diferentes mecanismos y condiciones propias de la población ubicada a diferentes altitudes sobre el nivel del mar, la microbiota intestinal juega un rol importante regulando mecanismos en la inmunidad innata y adaptativa, que para el RN son actualmente desconocidos bajo condiciones de altitud.

La LME juega un rol importante en el establecimiento de la microbiota intestinal adecuada, su estudio como punto inicial de aparición de patologías diversas nos compromete a investigar su influencia en condiciones de altitud.

Reconocemos particularidades en la lactancia que influyen en la microbiota intestinal, como: el tipo de parto, microbiota intestinal de la madre, antibioterapia, hábitos higiénicos, entorno ambiental; y una de las más importantes el tipo de



alimentación; por tanto la LME y su influencia en la microbiota intestinal en condiciones de altitud motivó nuestro estudio.

## **1.5 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.5.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la microbiota intestinal en RN alimentados con LME a 3824 m s.n.m en el Hospital III ESSALUD Juliaca - 2020

### **1.5.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Aislar e Identificar cuáles son las cepas de microorganismos en meconio de recién nacidos alimentados con lactancia materna exclusiva.

Cuantificar el número de cepas de microorganismos en meconio de recién nacidos alimentados con lactancia materna exclusiva.

Determinar si existe diferencias entre la microbiota del recién nacido alimentados con LME a nivel del mar y a una altitud de altitud de a 3824 m s.n.m



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 MARCO TEORICO

##### 2.1.1 MICROBIOTA INTESTINAL

El cuerpo humano está compuesto por 100 billones de células microbianas, y es diverso (más de 1000 especies identificadas) La mayoría reside en el colon ( $10^{11}$ -  $10^{12}$  células/ml) y gran parte no ha sido identificada por medios de cultivo, no obstante, otras técnicas han detectado la diversidad y funcionalidad de la microbiota intestinal, permitiendo la caracterización de distintos microorganismos presentes en la salud o enfermedad, la microbiota intestinal de los adultos está dominada por dos filos: *Bacteroidetes* y *Firmicutes* (4).

Estos microorganismos mantienen una relación simbiótica con el huésped, en la cual la microbiota contribuye a múltiples procesos fisiológicos del individuo, y obtiene de este el entorno y los nutrientes que precisa para su supervivencia. La microbiota intestinal juega un papel activo en la digestión y fermentación de carbohidratos, en la producción de vitaminas, en el desarrollo y maduración del sistema inmunitario mucosa gastrointestinal (GALT) y en la defensa frente a patógenos intestinales (2).

La microbiota del metaorganismo humano no es un simple espectador. Estos microbios han evolucionado con nosotros y son fundamentales para el desarrollo normal y la homeóstasis. La disbiosis de la microbiota gastrointestinal se asocia con muchas susceptibilidades a la enfermedad, incluida la obesidad, malignidad, enfermedad hepática y patología gastrointestinal. Está claro que existe una diafonía directa e indirecta entre esta comunidad microbiana y la respuesta inmune del huésped (5).

##### 2.1.2 MICROBIOTA DEL RECIEN NACIDO

El RN considerado como aquel producto de la concepción desde el nacimiento hasta los 28 días de edad (3). Al nacimiento, cuenta con un sistema inmunitario completo, pero relativamente inmaduro, reflejo de la inmadurez de los mediadores y efectores de la respuesta inmunitaria. En este proceso de maduración los microorganismos comensales juegan un papel clave, constituyen uno de los primeros



estímulos inmunogénicos que el neonato enfrenta y su reconocimiento corre a cargo de receptores presentes en las células del sistema inmunitario inespecífico, fundamentalmente: células dendríticas (CD) y macrófagos, que reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) expresados por las bacterias, virus y hongos que componen la microbiota, toll like receptor (TLR) constituyen los receptores encargados de este reconocimiento, tras el cual se activan una serie de señales bioquímicas en el interior de las CD y los macrófagos que conducen a la tolerancia inmunitaria, es decir, a la ausencia de respuesta inmune frente a microorganismos comensales. La magnitud y calidad de esta respuesta depende del tipo de microorganismo, concentración y microambiente (2)

### 2.1.3 BENEFICIOS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL

La microbiota comensal puede interferir con infección por organismos patógenos por competencia por los sitios de unión del huésped, estimulación de mecanismos de defensa del huésped, competencia por nutrientes y activación de señalización celular eventos que limitan la producción de factores de virulencia. Los estudios también han demostrado que ciertas bacterias promueven la viabilidad celular. *E. coli*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* protegen contra las células muerte asociada con bacterias patógenas, mientras que otros estudios han demostrado que *Lactobacillus* solo protege contra la muerte celular programada mediada por citoquinas o apoptosis (5) Las bacterias también son necesarias para la maduración del intestino y son apropiadas para la contención de respuestas inflamatorias.

### 2.1.4 ADQUISICIÓN Y DESARROLLO DE LA MICROBIOTA

La microbiota está compuesta por una variedad y complejidad bacteriana; siendo que cada una asume una función individual (6), este ecosistema incluye a numerosos microorganismos necesarios para el mantenimiento de la homeostasis (7).

Este complejo ecosistema se forma a través del establecimiento sucesivo de diferentes bacterias en la infancia y la primera infancia. Las bacterias facultativas y aerotolerantes se establecen primero, seguidas de anaerobios cada vez más estrictos. Las bacterias derivan de diferentes fuentes y el patrón de colonización está influenciado por



el modo de entrega y los factores ambientales. Los microbios comensales proporcionan el impulso principal para la maduración del sistema inmune (8).

La composición inicial de la microbiota se determina desde el nacimiento y depende principalmente de dos factores: el tipo de parto y la alimentación, aunque en las unidades de cuidados intensivos neonatales, es influenciada por la terapia antibiótica prolongada, nutrición parenteral, alimentación oral retardada e intubación (7). En el parto natural, el neonato adquiere su microbiota inicial de la vagina y las heces de sus madres, mientras que en los nacidos por cesárea al no estar expuestos a la microbiota materna tienen una colonización intestinal tardía (9).

Además, que el genotipo del huésped representa un factor indeterminado cuando se intenta mostrar la transmisión vertical de los microbios de los padres a los hijos debido a que se ha sugerido que este también afecta la composición y función de la comunidad bacteriana en el intestino. Así lo demuestra un estudio realizado en gemelos monocigóticos adultos, hermanos y sus parejas matrimoniales, el cual mostró similitudes entre las comunidades microbianas intestinales de gemelos monocigóticos mientras que sus compañeros conyugales a pesar que viven en el mismo ambiente y que tienen hábitos alimentarios comparables, mostraron baja similitud que no era significativa; asimismo, en gemelos dicigóticos y hermanos su microbiota era tan similar entre sí como la microbiota de gemelos monocigóticos, a pesar de un menor nivel de genética del huésped (10).

El desarrollo de la microbiota intestinal en los niños se puede dividir en cuatro fases separadas:

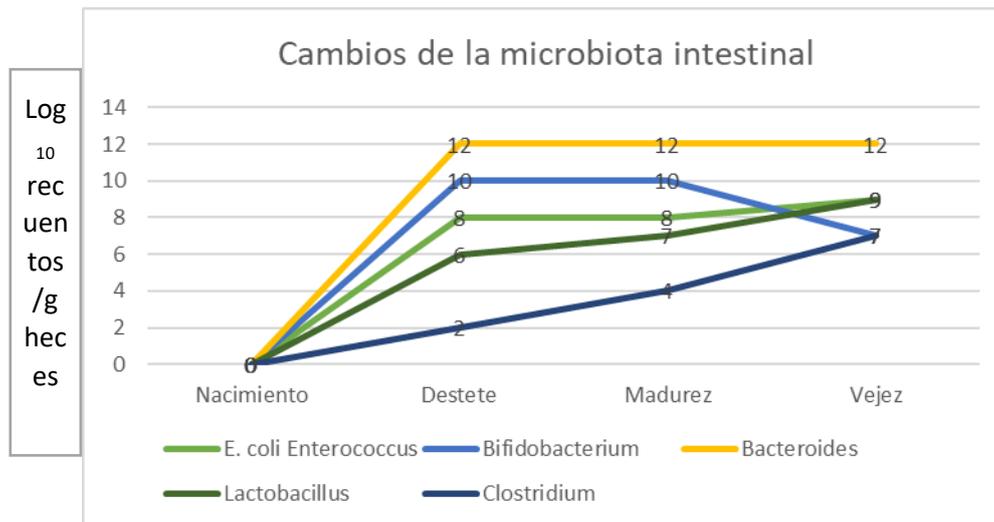
1ª Fase: alrededor de la 1ª-2ª semana de vida.

2ª fase: periodo restante de alimentación a pecho exclusivamente.

3ª Fase: tiempo entre el comienzo de la alimentación complementaria y del cese de la alimentación a pecho.

4ª Fase: periodo de conversión de los patrones de microbiota adulta empezando tras la finalización del destete (11).

**Figura 1: Cambios de la flora intestinal desde el nacimiento hasta la vejez**



Fuente: Pérez D. et al (10).

## 2.1.5 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MICROBIOTA INTESTINAL

### Edad gestacional

Karlsson et al. Describe que la microbiota de los neonatos de partos naturales a término difería de los neonatos con gestación más larga de lo previsto. Concretamente, el género *Lactobacillus* se encontró en todos los neonatos, aunque las proporciones de *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* y *Bacteroides fragilis*, difirieron entre ambos grupos. La prevalencia de proteobacterias gramnegativas fue mayor en niños nacidos de una gestación más larga de lo previsto, mientras que la prevalencia de firmicutes grampositivos fue mayor en niños nacidos a término(12).

### Tipo de parto

Gronlund et al. Demostraron que la cesárea modifica la microbiota intestinal durante más de 6 meses posparto. Los niños nacidos por cesárea presentaron una proporción menor de *Bacteroides fragilis* comparado con los neonatos nacidos por parto natural (13).

Pandey et al. Tras estudiar la microbiota fecal de niños nacidos por cesárea o parto natural, sugirieron que la microbiota de los neonatos por cesárea presentaba una diversidad bacteriana superior comparada con la de los nacidos por parto natural. Las



especies más abundantes en los neonatos por parto natural eran *Acinetobacter* sp., *Bifidobacterium* sp. y *Staphylococcus* sp. En el caso de los niños nacidos por cesárea, la microbiota fecal predominante estaba representada por *Citrobacter* sp. *Escherichia coli* y *Clostridium difficile*, sin presencia de *Bifidobacterium* sp. Se sugiere que si la microbiota intestinal es diferente en función del tipo de parto, el desarrollo del sistema inmunitario del neonato debería ser diferente. Hasta el momento, se ha descrito que un aumento en la composición de las bacterias de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (normalmente asociados al parto natural) puede inhibir el crecimiento de patógenos, produciendo componentes bactericidas y metabolitos de pH bajo que impiden su crecimiento (14)

De manera significativa, Domínguez-Bello et al. Han descrito que los recién nacidos por parto natural tienden a presentar niveles más elevados de *Lactobacillus* spp, en las heces, la piel, la boca y la nasofaringe, en concordancia con la microbiota vaginal dominante de las madres. En cambio, en los neonatos por cesárea, las comunidades bacterianas representadas en el intestino y los otros tejidos estudiados eran más parecidas a las encontradas en la superficie de la piel de los progenitores, dominadas por *Staphylococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium* spp, en contraste con sus madres, los neonatos presentaron comunidades bacterianas indiferentes entre la piel, la boca, la nasofaringe y el intestino, independientemente del tipo de parto, lo que demuestra que en los primeros días de vida la microbiota humana está homogéneamente distribuida en el cuerpo(15).

### **Tipo de alimentación**

Los recién nacidos alimentados con fórmulas infantiles ricas en oligosacáridos aumentan sus colonias de *Bifidobacterias* (13).

### **Condiciones de higiene.**

Malas condiciones se relacionan con colonización temprana por *Enterobacterias* (7).



## **Antibioterapia**

El uso perinatal de antibióticos, incluyendo la profilaxis intraparto, contribuye a incrementar los niveles de *Enterobacterias*, microorganismos potencialmente patógenos, en la microbiota del recién nacido durante, al menos, el primer mes de vida(16).

### **2.1.6 LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA**

La leche materna humana es la nutrición fisiológica durante los primeros meses de vida de un bebé, un período crucial para el desarrollo del sistema inmune, la programación metabólica y endocrina para el crecimiento, desarrollo y salud para toda la vida. La leche materna humana es una mezcla compleja y variable con multitud de componentes, cada uno de los cuales contribuye individualmente o en combinación a los resultados de salud (17).

La OMS define como lactancia materna exclusiva (LME) la alimentación del lactante con leche materna de la madre o de otra mujer, sin ningún suplemento sólido o líquido, lo que incluye el agua. En el 2002 durante la 55° Asamblea Mundial de Salud conocida como “Estrategia mundial para la alimentación del lactante y del niño pequeño” realizada en Ginebra, se recomendó que la LME deba realizarse durante los seis meses de vida y continuar posteriormente con alimentos complementarios hasta los dos años como mínimo (18). Lactancia materna predominante es la alimentación con leche materna o de otra mujer, más líquidos, infusiones y vitaminas. Lactancia materna complementaria es la alimentación con leche materna incluidos sólidos o semisólidos y leche no humana.

La lactancia materna es un acto natural y un comportamiento que se aprende (19). La Organización Mundial de la Salud (OMS), la Academia Americana de Pediatría (AAP) y el Comité de Lactancia de la Asociación Española de Pediatría recomiendan la lactancia materna exclusiva durante los 6 primeros meses de vida y luego continuar la complementando con otros alimentos hasta los 2 años o más (20).

### **2.1.7 IMPORTANCIA DE LA LME**

La importancia de la lactancia materna exclusiva (LME) para el recién nacido (RN) es vital, La leche humana (LH), en sí misma es un fluido biológico de naturaleza compleja, con amplia variabilidad según el momento de la lactancia, como calostro,



leche de transición o madura, entre otras consideraciones que la hacen diferente en cuanto a su composición. Sus cualidades nutricionales e inmunológicas son únicas e insustituibles. Las proteínas (lactoalbúmina, lactoferrina), vitaminas (C y del grupo B), antioxidantes endógenos ( $\alpha$ -tocoferol, retinol), pool de enzimas (catalasa, glutatión peroxidasa) y minerales (cobre, manganeso, zinc), los anticuerpos y factores de crecimiento, son esenciales en el desarrollo de los lactantes. Varía de una madre a otra y en cada mujer, en el transcurso del día e incluso en una misma mamada. La fracción más estable es la proteica y la grasa es el elemento de mayor variabilidad, y son diversos los factores que inciden en estructura, composición y en los volúmenes de secreción, que son dependientes de factores genéticos, de la nutrición materna y de su condición socioeconómica (1)

### **2.1.8 BENEFICIOS DE LA LACTANCIA MATERNA**

La lactancia ha demostrado ser un factor protector contra distintas enfermedades infectocontagiosas, del espectro atópico y cardiovasculares, así como contra la leucemia, enterocolitis necrotizante, enfermedad celíaca y enfermedades inflamatorias intestinales. Asimismo, tiene un impacto positivo en el neurodesarrollo, mejorando el coeficiente intelectual y pudiendo tener una disminución del riesgo de otras condiciones como el déficit atencional, trastorno generalizado del desarrollo y alteraciones de conducta (21).

Sus ventajas en aspectos como nutrición, inteligencia, prevención de enfermedades son reconocidas, ha demostrado ser un factor protector contra distintas enfermedades infectocontagiosas, del espectro atópico y cardiovasculares, así como contra la leucemia, enterocolitis necrotizante, enfermedad celíaca y enfermedades inflamatorias intestinales. Asimismo, tiene un impacto positivo en el neurodesarrollo, mejorando el coeficiente intelectual y pudiendo tener una disminución del riesgo de otras condiciones como el déficit atencional, trastorno generalizado del desarrollo y alteraciones de conducta (22).

.....La LM puede prevenir un 13% de la mortalidad infantil en el mundo, y disminuye el riesgo de muerte súbita del lactante en un 36%. La lactancia implica un ahorro directo en el uso de fórmulas lácteas y maderas, e indirecto en costos de salud asociados, muertes prematuras y años de vida ajustados por calidad, entre otros. Además, es



medioambientalmente amigable sin dejar trazas de huella de carbono en su producción y consumo. El uso de fórmulas lácteas y mamaderas tienen riesgos inherentes asociados, aumentan el riesgo de las alteraciones de la cavidad oral, tales como respiración bucal, maloclusión, alteración de la mordida y caries. Por último, la microbiota intestinal, la oxigenación y la termorregulación de los lactantes se ven afectadas negativamente por su uso (23),

### **2.1.9 PREVALENCIA DE LACTANCIA MATERNA**

Ningún país en el mundo cumple plenamente las normas recomendadas para la lactancia materna, según se indica en un nuevo informe de UNICEF y de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en colaboración con el Colectivo Mundial para la Lactancia Materna, una nueva iniciativa para aumentar las tasas mundiales de amamantamiento(18).

La Tarjeta de Puntuación Mundial para la Lactancia Materna, que evaluó las prácticas de lactancia materna en 194 naciones, encontró que sólo el 40% de los niños menores de seis meses reciben lactancia materna exclusiva (únicamente leche materna) y sólo 23 países, entre ellos el Perú, registran índices exclusivos de lactancia materna por encima del 60%(18).

Según la información proporcionada por la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar-ENDES 2016, a nivel nacional, la proporción de niños y niñas con lactancia materna exclusiva en el Perú es del 69.8%. Las regiones de Huancavelica (100%), Pasco (87.3%) y Loreto (77.7%) son las que registran los índices más altos, a diferencia de las regiones de Tumbes (29.6%), Ica (40.5%) y Madre de Dios (45.3%) que presentan una menor cantidad. De acuerdo al área de residencia, en el área urbana, la proporción de niños con lactancia materna exclusiva es del 63.2% mientras que en el área rural sube a 84.3% mostrando una diferencia de más de 20 puntos porcentuales (15).

La Tarjeta recopila datos de los países de todo el mundo sobre el estado de las siete prioridades establecidas por el Colectivo Mundial para la Lactancia Materna para aumentar la tasa de lactancia materna. Los 23 países que han logrado tasas de lactancia materna exclusiva por encima del 60% son: Bolivia, Burundi, Cabo Verde, Camboya,



Eritrea, Estados Federados de Micronesia, Islas Salomón, Kenya, Kiribati, Lesotho, Malawi, Nauru, Nepal, Perú, Rwanda, São Tomé y Príncipe, Sri Lanka, Swazilandia, Timor-Leste, Uganda, Vanuatu y Zambia. (15)

### 2.1.10 COMPOSICION DE LECHE MATERNA

La LH, en sí misma es un fluido biológico de naturaleza compleja, con amplia variabilidad según el momento de la lactancia, como calostro, leche de transición o madura, entre otras consideraciones que la hacen diferente en cuanto a su composición. Sus cualidades nutricionales e inmunológicas son únicas e insustituibles. Las proteínas (lactoalbúmina, lactoferrina), vitaminas (C y del grupo B), antioxidantes endógenos ( $\alpha$ -tocoferol, retinol), pool de enzimas (catalasa, glutatión peroxidasa) y minerales (cobre, manganeso, zinc), los anticuerpos y factores de crecimiento, son esenciales en el desarrollo de los lactantes. Varía de una madre a otra y en cada mujer, en el transcurso del día e incluso en una misma mamada. La fracción más estable es la proteica y la grasa es el elemento de mayor variabilidad, y son diversos los factores que inciden en estructura, composición y en los volúmenes de secreción, que son dependientes de factores genéticos, de la nutrición materna y de su condición socioeconómica (24).

La calidad microbiológica de la LH, en muchos estudios se ha mantenido al margen. La contaminación y posterior deterioro de este producto, se presenta por transferencia vertical entre la madre y el lactante. Las bacterias lácticas se transfieren al recién nacido a través de la LH. La microbiota intestinal de niños y adultos es dependiente de los hábitos de las madres lactantes. Los microorganismos piel-entéricos asociados a la LH, han sido descritos e identificados a través de cultivos de enriquecimiento y el uso de técnicas moleculares para especies del tipo *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia*, *Enterococcus*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Pseudomonas* y *Clostridium* (1)

## 2.2 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.2.1 A NIVEL INTERNACIONAL

Nyangahu, D. y Jaspan, H. Influencia de la microbiota materna durante el embarazo en la inmunidad infantil. 2019 España. Describen posibles mecanismos a través de los cuales el intestino materno microbios durante el embarazo impactan la



inmunidad infantil. Está claro que el desarrollo inmune en el feto comienza antes a la entrega y probablemente es impulsado por la translocación de microbiota o sus metabolitos desde el intestino materno hasta la unidad materno-fetal u otras superficies mucosas. Se observó que la mayor contaminación con microbios se produce en el parto cuando el recién nacido entra en contacto con la microbiota, vaginal y durante el embarazo. En conjunto, la microbiota gestacional induce una huella inmune en el feto que tiene consecuencias inmunológicas postnatales (25).

Duranti, S. y Lugli, G. et al. *Bifidobacterium bifidum* y la microbiota intestinal del lactante una caso intrigante de coevolución microbio huésped. 2019 Italia. Informa que *Bifidobacterium bifidum* se encuentra entre los primeros colonizadores del tracto gastrointestinal del recién nacido debido a su capacidad para metabolizarla leche humana. oligosacáridos (HMO). Con el fin de investigar las características biológicas que permiten a esta especie bifidobacteriana colonizar un recién nacido, se realizó un perfil espaciador bifidobacteriano transcrito internamente de muestras de heces de 50 pares madre-bebé, así como las muestras de leche materna correspondientes. La agrupación jerárquica basada en los perfiles de población bifidobacteriana encontrados en muestras fecales infantiles reveló la presencia de cuatro grupos bifidobacterianos o los denominados bifidotipos. Se demostró que *Bifidobacterium bifidum* es un miembro clave entre los bifidotipos, en el que su presencia se correlaciona con varias especies diferentes de bifidobacterias recuperadas en muestras fecales infantiles. Por esta razón, investigaron el comportamiento de alimentación cruzada facilitado por *B. bifidum* en un modelo de biorreactor que usa leche humana como sustrato de crecimiento. Los perfiles transcripcionales de esta cepa se evaluaron cuando se cultivaron en nueve glicanos específicos que típicamente constituyen HMO. Sorprendentemente, estos análisis sugieren una co-evolución extensa con el huésped y otras especies de bifidobacterias en términos de provisión de recursos y compartir, respectivamente, actividades que parecen apoyar un microbioma dominante en bifidobacterias (26).

Yang, B. y Chen, Y. et al. Composición de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* a nivel de especie y diversidad de microbiota intestinal en lactantes antes de las 6 semanas 2019 China en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Scitop Bio-Tech. Se recogieron un total de 112 heces de niños de etnia Han y se Investigaron los efectos de los diferentes modos de entrega y alimentación en la composición de la



microbiota intestinal de los primeros lactantes, con especial énfasis en los perfiles de *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* a nivel de especie. Las regiones 16S rRNA V3-V4, genes bifidobacterianos y lactobacilos *groEL* de heces infantiles se secuenciaron por Illumina MiSeq. La abundancia de microbiota intestinal fue significativamente diferente, donde los grupos parto vaginal estándar (SVD) y de pecho (BF) fueron más altos en comparación con la cesárea (CS), los grupos alimentados con leche en polvo (MPF) y los de alimentación mixta (MF). El género *Enterobacteriaceae* no clasificado fue dominante, seguido de *Bifidobacterium*, que fue muy abundante en los grupos SVD y BF. Las especies dominantes de *Bifidobacterium* en todos los grupos fueron *B. longum subsp. longum*, *B. longum subsp. Infantis* y *B. animalis subsp. Lactis*. *B. dentium* y la diversidad de *Bifidobacterium* en los grupos SVD y BF fueron significativamente mayores. Para los perfiles de *Lactobacillus*, *L. rhamnosus* y *L. gasseri* fueron dominantes entre todos los grupos, mientras que *Lactobacillus* Las especies en los grupos CS y MPF fueron más diversas. Las predicciones funcionales mostraron diferencias significativas entre el modo de entrega y los grupos de alimentación, como el sistema de fosfotransferasa, así como el metabolismo de la taurina y la hipotaurina. En los primeros lactantes con diferentes métodos de parto y alimentación, la microbiota intestinal, en particular las comunidades de bifidobacterias lactobacilos, mostró diferencias significativas, con fuertes implicaciones para las funciones fisiológicas (27).

Ruiz, L. Bacigalupe, R. et al. Microbiota del precolostró humano y su papel potencial como fuente de bacterias para la boca del lactante. 2019 España en el Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Se reclutó un total de 17 parejas de madres e infantes para su participación en el estudio y describieron que la leche humana representa una fuente de bacterias para el establecimiento inicial de los microbiomas orales e intestinales en el lactante amamantado, sin embargo, el origen de las bacterias en la leche humana sigue siendo en gran medida desconocido. Si bien algunas pruebas apuntan hacia una posible ruta entero mamaria endógena, otros autores han sugerido que las bacterias en la leche humana son contaminantes de la piel o de la boca del lactante. En este trabajo, se realizó la secuenciación de ARN 16S y el cultivo y aislamiento bacteriano para analizar la microbiota en muestras de precolostró materno, recolectadas de mujeres embarazadas antes del parto, y en muestras orales recolectadas de los lactantes correspondientes. La estructura de ambos ecosistemas demostró una alta proporción de taxones constantemente compartidos entre los ecosistemas, *Streptococcus*



spp, y *Staphylococcus* spp, siendo el más abundante. La secuenciación del genoma completo en aquellos aislamientos que, pertenecientes a la misma especie, se aislaron de las muestras materna e infantil en el mismo par madre-lactante, evidenció que en 8 de cada 10 pares ambos aislamientos eran > 99.9% idénticos a nivel de nucleótidos. La presencia de bacterias orales típicas en el precalostro antes del contacto con el recién nacido indica que no son una contaminación del lactante, y sugiere que al menos algunas bacterias orales llegan a la boca del lactante durante la lactancia. Sorprendentemente, se detectaron 26 grupos taxonómicos que se comparten entre el precalostro materno y el ecosistema oral infantil en al menos 5 de los pares analizados. Entre ellos, las colonias compartidas con mayor frecuencia incluían miembros de *Streptococcus* y *Staphylococcus* que también eran los grupos dominantes en los tipos de muestras correspondientes. Además, otras colonias abundantes no incluidas dentro de los grupos principales abundantes pronosticados, como *Bifidobacterium*, *Micrococcus*, *Blautia* o *Actinomyces*, también se compartieron en una proporción significativa de los pares analizados (28).

Zhuang, L. Chen, H. et al Microbiota intestinal en la vida temprana y sus implicaciones en la salud infantil, 2019 Beijing Genomics Institute, realizaron la revisión de diferentes estudios en los que encontraron que los recién nacidos por vía vaginal están expuestos a la vagina materna, y la microbiota fecal de estos recién nacidos está dominada por *Prevotella* spp. y *Lactobacillus*. Los neonatos nacidos por cesárea (CS) no entran en contacto directo con la población microbiana vaginal materna y, por lo tanto, tienen más probabilidades de tener un microbioma dominado por microbios, como *Corynebacterium*, *Staphylococcus* y *Propionibacterium* spp, que se derivan de la piel materna, el entorno hospitalario o el personal del hospital. Durante la primera semana después del nacimiento, se ha observado un predominio de actinobacterias (que comprende principalmente el género *Bifidobacterium*) para los recién nacidos por vía vaginal, mientras que Firmicutes se ha observado como la población microbiana más prevalente para los recién nacidos con CS. Por otra parte, la prevalencia de bifidobacterias aumentó continuamente en los recién nacidos por vía vaginal y CS con el tiempo. En términos de ingesta de alimentos, la microbiota intestinal de los recién nacidos está significativamente influenciada por el modo de alimentación, y las diferencias en los microbios intestinales entre lactantes alimentados exclusivamente con leche materna *versus* lactantes *con* fórmula han sido bien



documentados. Según lo informado por varios estudios, las heces de los bebés alimentados con leche materna contienen más *Lactobacilos* y bifidobacterias y menos patógenos potenciales que las heces de los lactantes alimentados con fórmula, que contienen una flora microbiana intestinal más diversa dominada por *Bacteroides*, *Clostridia*, *Estafilococos*, enterobacterias, Enterococos y *atopobio* (29).

Farzana, Y. Min, T. et al. Cesárea, alimentación con fórmula y exposición a antibióticos infantiles: impactos separados y combinados en los cambios microbianos intestinales en la infancia tardía. Canadá 2017. Estudio para cuantificar los cambios en la composición microbiana intestinal durante la infancia posterior a las exposiciones postnatales y de nacimiento más comunes que afectan la composición microbiana intestinal infantil, 166 recién nacidos a término en la cohorte de nacimiento de Desarrollo Longitudinal de Infantes Sanos de Canadá se perfilaron usando secuenciación de genes de alto rendimiento 16S. Los bebés se colocaron en grupos según combinaciones mutuamente excluyentes de modo de nacimiento (parto vaginal / cesárea), estado de lactancia (sí / no) y uso de antibióticos (sí / no) a los 3 meses de edad. Sobre la base de permutaciones repetidas de datos y ajustes para la tasa de descubrimiento falso, se identificó cambios estadísticamente significativos en la abundancia microbiana intestinal entre 3 meses y 1 año de edad dentro de cada grupo de lactantes. Observamos patrones bien conocidos de sucesión de filamentos microbianos en la infancia tardía (disminución de las proteobacterias; aumento de Firmicutes y Bacteroidetes) después del parto vaginal, la lactancia y sin exposición a antibióticos. Género *Lactobacillus*, *Roseburia*, y las especies de *Faecalibacterium* aparecieron en los 10 principales aumentos de la abundancia microbiana en estos lactantes (30).

Rutayisire, E. Huang, K. et al. El modo de parto afecta la diversidad y el patrón de colonización de la microbiota intestinal durante el primer año de vida de los bebés. China 2016 en una revisión sistemática encontró que siete de 652 estudios recuperados cumplieron los criterios de inclusión, se incluyeron en el análisis sistemático. La cesárea (CS) se asoció con una menor abundancia y diversidad de las *Actinobacterias* y *Bacteroidetes phyla*, y una mayor abundancia y diversidad del filo Firmicute desde el nacimiento hasta los 3 meses de vida. En el nivel de colonización, los géneros *Bifidobacterium* y *Bacteroides* parecen ser significativamente más frecuentes en los recién nacidos por vía vaginal en comparación con los CS entregados. Estos infantes



estaban más colonizados por los géneros *Clostridium* y *Lactobacillus*. Según los informes, es tentador decir que el modo de entrega tiene menos efecto sobre la colonización y diversidad de géneros *Bifidobacterias*, *Bacteroides*, *Clostridium* y *Lactobacillus* desde los 6 a los 12 meses de vida (9).

Walker, A. Rajashri, S. et al, Leche materna, microbiota y homeostasis inmune intestinal 2015. EE UU. Indican que los recién nacidos se adaptan al ambiente extrauterino desarrollando homeostasis inmune intestinal. La colonización bacteriana inicial apropiada es necesaria para el desarrollo inmunitario intestinal adecuado. Un determinante ambiental de una colonización adecuada es la leche materna. Aunque el recién nacido a término es capaz de desarrollar una respuesta inmune, el componente inmune efector requiere estimulación bacteriana. La leche materna estimula la proliferación de una microbiota bien equilibrada y diversa, que inicialmente influye en el cambio de una respuesta intrauterina TH2 predominante a una respuesta equilibrada TH1 / TH2 y con la activación de las células T reguladoras por la leche materna organismos específicos estimulados (*Bifidobacterias*, *Lactobacillus* y *Bacteroides*). Como ejemplo de su efecto, los oligosacáridos en la leche materna son fermentados por bacterias colónicas que producen un medio ácido para la proliferación bacteriana. Además, los ácidos grasos de cadena corta en la leche materna activan los receptores en las células T-reg y los genes bacterianos, que median preferentemente la expresión de la unión estrecha intestinal y la anti inflamación. Otros componentes de la leche materna (defensinas, lactoferrina, etc.) inhiben los patógenos y contribuyen aún más a la composición de la microbiota. La influencia de la leche materna en la microbiota intestinal inicial también evita la expresión de enfermedades inmunomediadas (asma, enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes tipo 1) más adelante en la vida a través de una respuesta inmune inicial equilibrada, lo que subraya la necesidad de amamantar como la primera fuente de nutrición (31).

Martín, V. Maldonado, A. et al. Intercambio de cepas bacterianas entre la leche materna y las heces infantiles 2012 España, indican en años anteriores, se ha demostrado que la leche humana es una fuente potencial de bacterias para el intestino infantil. Los resultados de Este trabajo confirma la presencia de las mismas cepas bacterianas específicas de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* y *Staphylococcus* en leche materna y muestras fecales infantiles. La identidad de las bacterias aisladas de la leche



materna y las heces infantiles de 20 pares madres-lactante se investigó a nivel de tensión. El ADN de *Staphylococcus*, *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* fue detectado por qRTi-PCR en casi todas las muestras analizadas. Estas muestras fueron cultivadas en diferentes medios de agar de cada colonia representativa, se seleccionó e identificó la morfología a nivel de especie combinando pruebas clásicas y técnicas moleculares (PCR, RAPD, PFGE, y / o MLST genotipado). La leche materna y las heces infantiles de 19 parejas madre-bebé compartieron diferentes estafilococos, *Lactobacillus* y cepas de *Bifidobacterium*. Significativamente, 2 pares madre-bebé compartieron 4 cepas bacterianas, aunque la mayoría de las parejas compartieron 2. Estos resultados confirman que la leche materna y las heces infantiles de parejas madre-bebé comparten la misma cepa (s), indicando que la lactancia materna podría contribuir a la transferencia bacteriana de la madre al bebé y, por lo tanto, a la colonización intestinal infantil (32).

Guzzardi, M. et al. El crecimiento cardíaco fetal está asociado con la colonización intestinal en el útero 2018 Italia, los recién nacidos fueron 57.7% varones, 73.1% nacieron por parto vaginal, todos nacieron a término. Tamaño corporal al nacer y eco cardiográfico estaban dentro de parámetros normales, se informó del estudio de sangre del cordón umbilical, concentraciones de marcadores circulantes y pre / maternos, IMC final-gravídico. Diabetes mellitus gestacional estuvo presente en 6 (23.1%) de madres. En toda la población, las bacterias más abundantes fueron a nivel de phylum, *Clostridiales* (27.27%), *Enterobacteriales* (27.03%), *Bifidobacteriales* (14.77%), *Lactobacillales* (12.50%), *Xanthomonadales* (4.03%), *Bacillales* (2.33%), *Bacteriodales* (1.57%), *Actinomycetales* (1.46%) y *Verrucomicrobiales* (1.28%) Demostramos que la colonización intestinal comienza en el útero y es asociado con el grosor de la pared del ventrículo izquierdo al nacer. Específicamente, los recién nacidos con mayor grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo se caracterizan por una reducción de la diversidad de la microbiota intestinal, debido al agotamiento funcional de taxones bacterianos involucrados en la regulación de vías de metabolismo de lípidos, proteínas y cetogénesis; y al enriquecimiento en aquellos involucrados en la síntesis de lipopolisacáridos proinflamatorio y metabolismo de carbohidratos. En particular, nosotros identificamos el agotamiento de *Lactobacillales* y enriquecimiento en *Enterobacteriales* (33).



## 2.2.2. A NIVEL DE LATINOAMÉRICA

Castañeda, C. Microbiota intestinal y salud infantil. Cuba 2018 Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Observaron que la microbiota intestinal participa en eventos de homeostasis e inmunidad intestinal de trascendencia para la salud humana. Sus interacciones con el ecosistema intestinal, participación en distintas enfermedades, y el valor de los probióticos y prebióticos son revisados. Con el objetivo de evaluar los conocimientos de la literatura médica en las últimas décadas sobre los principales aspectos de la microbiota intestinal, su relación con la inmunidad, y beneficios de probióticos y prebióticos como terapia en distintas afecciones intestinales y extraintestinales. Se realiza búsqueda en bases de datos de PubMed, Scielo, Redalycs, Latindex de publicaciones acerca de microbiota intestinal, revisiones sistemáticas de probióticos y libros afines. Se revisan las características de los procesos de colonización, desarrollo, funciones y composición de la microbiota intestinal, su inmunidad y relación con el hígado. Se actualizan los principios de la terapia con probióticos y prebióticos, y sus distintas indicaciones en enfermedades digestivas. Concluyeron que se evidencia el papel del microbioma intestinal y su relación con el ecosistema intestinal, los mecanismos participantes y el consiguiente desarrollo de su inmunidad, resaltando el rol de la lactancia materna para un adecuado proceso de implantación de la microbiota. Se analiza el uso de probióticos y prebióticos, y su eficacia en distintas enfermedades digestivas (34).

## 2.2.3. A NIVEL NACIONAL

Córdova. J. Variación de la microbiota intestinal de neonatos alimentados por lactancia materna exclusiva. 2014 Perú UNT, el objetivo de este estudio fue conocer la variación de la microbiota intestinal de los neonatos alimentados por lactancia materna exclusiva al 1er, 4to y 27mo día post parto. El estudio fue prospectivo, longitudinal y descriptivo. Se obtuvo muestra de heces el 1er, 14to, 27mo día post-parto de 18 neonatos, identificando tipo y UFC/ml bacteriano. Se identificaron principalmente: *lactobacillus sp*, *S. coagulasa negativo*, *E. coli*, *Bifidobacterium sp*, *S. aureus*. El 1er, 14to y 27mo día post-parto se identificaron mayormente: Anaerobios (7.04 +- 0.8 log UFC/ml, 10.13 + 0.82 log UFC/ml y 12.22 + 0.86 log UFC/ml respectivamente), Microanaerobios: (7.67 + 0.67 log UFC/ml, 9.76 + 0.9 log UFC/ml, 8.59 + 0.58 log UFC/ml respectivamente). En conclusión la microbiota intestinal varía según especie



bacteriana y UFC, aumentando progresivamente el 1er, 14to, 27mo día post-parto, el 1er día predominaron microanaerobios, el 14to y 27mo día post-parto anaerobios estrictos (35).

Paitán, E. Santos, R. et al. Caracterizaciones moleculares de bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de recién nacidos humanos, 2019 Perú Universidad La Molina. El objetivo de este estudio fue caracterizar molecularmente bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de neonatos humanos. Se evaluó 60 muestras de heces de neonatos (0-3 días) se enriquecieron en caldo Man Rogosa y Sharp (MRS) a 37°C/24h. Se seleccionó y se sometió a pruebas *in vitro* con sales biliares, resistencia a pH bajo y actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC25922, *E. coli* ATCC35218, *Salmonella entérico* y *Listeria inocua* mediante el ensayo difusión en agar. La identificación molecular se realizó con amplificaciones PCR-BOX y el secuenciamiento del gen 16S rRNA. Se aislaron un total de 48 cepas y todas presentaron resistencia a pH 3 y 0.3% sales biliares; 3 cepas mostraron actividad antimicrobiana frente a *E. coli* ATCC25922, 1 cepa frente a *E. coli* ATCC35218, 5 cepas frente a *L. inocua* y todas frente a *Salmonella entérica*. De las 48 cepas se obtuvieron dos perfiles BOX-PCR pertenecientes a los géneros de *Lactobacillus* y *Enterococcus*. Nueve cepas (C5<sub>2</sub>, C6<sub>1</sub>, C7<sub>1</sub>, C11<sub>2</sub>, C16<sub>2</sub>, C19<sub>2</sub>, C20, C35, y C42) presentaron un 100% de similaridad a *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917<sup>T</sup> [ACGZ01000098] y dos cepas (C15 y C40) un 99.93% y 99.80% de similaridad, respectivamente a *Enterococcus faecium* CGMCC 1.2136<sup>T</sup> [AJKH01000109]; estas cepas mostraron actividad en leche con diferencias significativas (p valor < 0.05) en la cinética de pH 3. En conclusión se encontró bacterias con potencial probiótico (36).

Huzco, Ch. Estilo de vida saludable de las madres y la microbiota Intestinal de neonatos prematuros. 2017 Perú. Estudio: cuantitativo de diseño; descriptivo, observacional y transversal. Muestra; 10 madres y 15 neonatos prematuros, del Hospital “San Bartolomé”. El análisis de la microbiota fue de muestras de meconio. La identificación de colonias fueron mediante evaluación macroscópica, microscópica y bioquímicas; el recuento de colonias se multiplicó por el factor de dilución y factor de volumen sembrado (UFC/ml = N° UFC). La variable de estilo de vida saludable, utilizó un instrumento con un alfa de conbrach 0,85. Se empleó la prueba estadística de Rho Spearman. Resultados: No existió relación estadísticamente (p>,05) entre: microbiota



intestinal de los neonatos y el estilo de vida saludable. Dimensiones: condición física o deporte y los hábitos alimenticios, existió relación negativa estadísticamente con la microbiota intestinal, en contraste con el autocuidado y cuidado médico y el consumo de drogas, tabaco y alcohol, existió relación positiva estadísticamente. No existió relación entre: sueño y recreación y manejo de tiempo y la microbiota intestinal de los neonatos. Conclusión: No existió relación estadísticamente entre: estilo de vida saludable y la microbiota intestinal. Sin embargo, existe relación en cuatro dimensiones: dos negativas, dos positivas y en dos no existe relación (37).

#### **2.2.4 A NIVEL LOCAL**

No se encontraron estudios relacionado con la microbiota intestinal de neonatos alimentados con leche materna exclusiva.a 3842 m.s.n.m.



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

##### 3.1.1 TIPO DE ESTUDIO

Estudio: observacional, analítico, transversal, prospectivo.

Según la finalidad del investigador: Básica.

Según número de mediciones de la variable de estudio: Transversal.

Según la planificación de las mediciones de la variable de estudio:

Prospectivo.

Según la intervención del investigador: Observacional.

Según el número de variables: Analítico

#### 3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

##### 3.2.1 POBLACIÓN

La población en estudio estuvo constituida por todos los RN en el Hospital III EsSalud Juliaca, en el servicio de Neonatología en el periodo comprendido entre diciembre del 2019 y febrero del 2020 que nacieron de parto vaginal, RN a término y que reciben LME.

##### 3.2.2 MUESTRA

La muestra estuvo conformada por la totalidad de RN recién nacidos de parto vaginal con LME, que cumplieron criterios de inclusión y exclusión con un total de 40 RN siendo **muestreo tipo no probabilístico intencional**.

##### 3.2.3 UNIDAD DE ESTUDIO

RN en el Hospital III EsSalud Juliaca, en el servicio de Neonatología de parto vaginal, RN a término y que reciben LME.



### 3.2.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

#### a) Criterios de inclusión

- Nacido en el hospital de EsSalud III Juliaca.
- RN a término entre 37 semanas y 41 semanas.
- RN que reciban lactancia materna exclusiva
- RN con peso adecuado para la edad
- RN de parto vaginal eutócico.
- RN de ambos sexos
- RN de gestación única.
- RN con diagnóstico clínicamente sano.

#### b) Criterios de exclusión

- RN de madre con ruptura prematura de membrana.
- RN de madre con infección del tracto urinario, vulvovaginitis y/o otras infecciones.
- RN con malformaciones congénitas digestivas.
- RN con diagnóstico de sepsis.
- RN o madre de RN con antibiótico terapia.
- RN con probióticos y prebióticos.

## 3.3 TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 3.3.1 TÉCNICA RECOLECCIÓN DE DATOS

Se empleó la ficha para recolección de datos de los RN incluidos en el estudio con código del RN, sexo, edad gestacional y peso criterios de inclusión y exclusión (ANEXO 1)

Se coordinó con el jefe del Departamento Materno Infantil y jefe de Departamento ayuda al Diagnóstico del Hospital donde se realizó la investigación, para darles a conocer el propósito del estudio y la metodología.



Para tal actividad, se solicitó la firma del consentimiento informado de las madres donde se explicó las condiciones del trabajo, confidencialidad y la privacidad de la información recolectada (ANEXO 2)

El trabajo de investigación fue autorizado bajo Dictamen del Comité de Ética en Investigación del Hospital EsSalud III Juliaca (ANEXO 3)

### **3.3.2 TÉCNICA RECOLECCIÓN DE MUESTRA Y ANÁLISIS DE LA MICROBIOTA**

- a. Para la toma de muestra se practicaron medidas de bioseguridad (uso de guantes limpios, respirador N°95 y guardapolvos), se utilizó un mechero Bunsen para crear un campo estéril alrededor de los materiales y todo el material utilizado fue estéril para evitar contaminación por agentes externo.
- b. Se tomó muestras frascos y espátulas estériles, al tercer día de nacido en cada caso.
- c. Las muestras fueron codificadas para su identificación en relación a cada recién nacido con números arábigos
- d. Cada muestra de meconio fue aplicada en caldo Tioglicolato, a fin de lograr preservación y favorecer el crecimiento en condiciones de anaerobiosis, empleando la Campana para Anaerobiosis (figura 2) por un lapso de tiempo de 24 a 48 horas.
- e. **PROCEDIMIENTO PARA CULTIVO 1:** Posteriormente se toma nuevamente las muestras y con ayuda de una Asa de Kohle se siembra directamente en las placas Petri previamente provistas con agar Xilose Lysine Deoxycholate (XLD) (ANEXO 6)
- f. Después de 24 horas se observó el crecimiento en el medio de cultivo XLD y se identificó el crecimiento de las diferentes colonias, procediéndose a realizar tinción de Gram, para identificarlas y clasificarlas.
- g. Para confirmar la identificación de bacterias, las colonias que crecieron en XLD, se cultivaron nuevamente en medios bioquímicos diferenciales como son Lisina Hierro Agar (LIA),



- Triple Sugar Iron Agar (TSI), citrato de SIMMONS agar, Urea agar e Indol.
- h. Bajo estos medios de cultivos diferenciales se observó el cambio de color y consistencia en cada caso, comparándose con la Cartilla de Medios Diferenciales Bioquímicos empleada universalmente.
  - i. PROCEDIMIENTO PARA CULTIVO 2: Se procedió a sembrar en Caldo Tioglicolato permaneciendo por 48 horas en condiciones de anaerobiosis sometido a la Campana de anaerobiosis.(ANEXO 6)
  - j. Después de este tiempo se observó el cambio de color y textura del Caldo Tioglicolato con lo que se admite un crecimiento de bacterias anaerobias.
  - k. Luego bajo el método de siembra por estrías se usó el medio de cultivo Man Rogosa Sharpe (MRS) para ser llevado a la estufa, esperando el crecimiento de microorganismos.
  - l. Se realizó nuevamente Tinción de Gram y la prueba de la Catalasa observándose bajo microscopia los resultados para su identificación.
  - m. El crecimiento de diferentes colonias de microorganismos nos permitió realizar una nueva siembra en medio de cultivo (MRS), la identificación de colonias con características diferentes nos permitió realizar una nueva siembra bajo condición de anaerobiosis identificándose a los *bifidobacterium sp.*
  - n. PROCEDIMIENTO PARA CUANTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA: Una vez obtenida la muestra de meconio se procedió a siembras bajo el método de estrías en 4 momentos consecutivos; debido a las limitaciones técnicas en el conteo de colonias se decide un conteo manual de colonias, las estrías encontradas en la primera etapa correspondieron a bajo crecimiento, las que aparecieron en una segunda y tercera etapa a crecimiento medio y las observadas en la cuarta etapa a un alto crecimiento.

- o. Los datos leídos fueron recogidos en la ficha de recolección de datos identificándose número de placa Petri y que creció en cada caso, microorganismo aislado, taxonomía y número. (ANEXO 4).
- p. Nuestros hallazgos encontrados a una altitud de 3824 m s.n.m. han sido comparados con un estudio a a 30 m s.n.m. la misma que nos permitió realizar algunas inferencias. Si bien Córdova J (35) toma las muestras de meconio al primer día, al día 14° y al día 27° en un estudio longitudinal, consideramos pertinente la comparación solamente con su primer muestreo, la investigación de Córdova J. se realiza a 30 m s.n.m. en RN a término, de parto vaginal y con LME.
- q. Empleándose el paquete estadístico SPSS versión 24 para Windows para datos cuantitativos, se procedió a obtener resultados empleando los estadísticos índice de Kappa porque este permite.

### 3.3.3 VARIABLES

VARIABLE INDEPENDIENTE: Microbiota Intestinal de RN

VARIABLE DEPENDIENTE: Lactancia Materna Exclusiva

**Tabla 1: Operacionalización de variables**

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DIMENSIONES	INDICADOR	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICION
VARIABLE INDEPENDIENTE	Es la alimentación del lactante con leche materna de la madre o de otra mujer, sin ningún suplemento sólido o líquido	Lactancia Materna Exclusiva	Lactancia Materna Exclusiva	Cualitativo	Nominal Dicotómica
Lactancia Materna Exclusiva					
VARIABLE DEPENDIENTE	Se entiende por microbiota al conjunto de microorganismos que	Tipo de microorganismos	<i>Lactobacillus sp</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Lactococos sp</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Enterobacter sp</i> , <i>Proteus sp</i> ,	Cualitativo	Nominal Dicotómica
Microbiota intestinal					

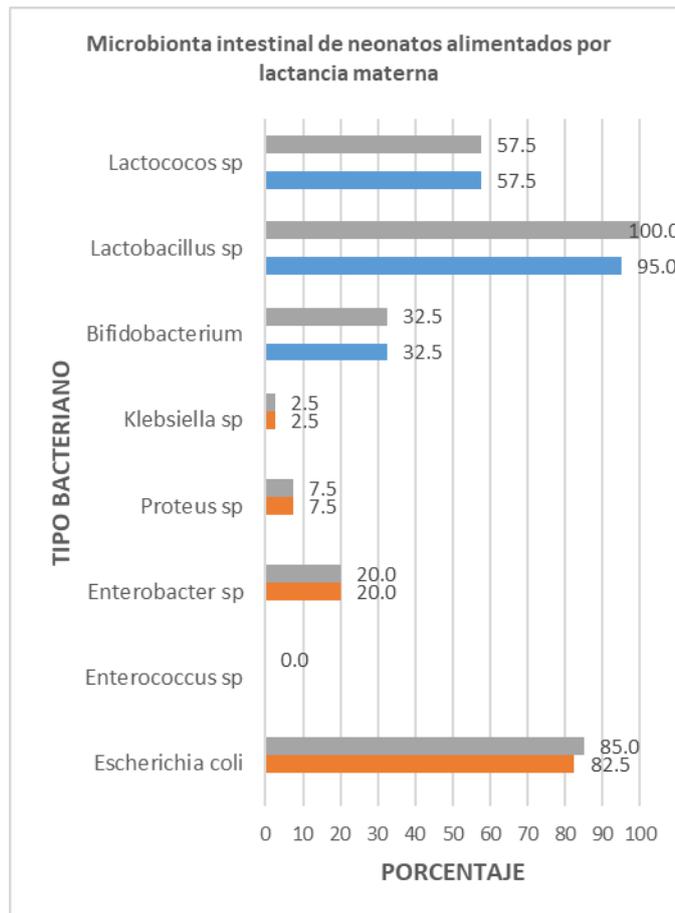


	cohabitan en el intestino.		<i>Klebsiella sp</i>			
		cuantificación	Alto bajo	medio	cualitativa	Nominal dicotomic a

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 RESULTADOS



**Figura 2: Aislamiento e identificación de cepas de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME. Hospital III EsSalud Juliaca - 2020**

Del 100% de muestras, se encontró: *Lactobacillus sp* en 95.0 %, *Escherichia coli* en 82,55 %, *Lactococos sp.* en 57,5 %, *Bifidobacterium* 32.5 %, *Enterobacter sp* 20.0, *Proteus sp* 7,5 %, %, *Klebsiella sp* 2,5%, *Enterococcus sp.*0.0 %.



**Tabla 2: Cuantificación de cepas de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME Hospital III EsSalud Juliaca - 2020**

	Frecuencia	Porcentaje
Alto	28	70,0
Bajo	2	5,0
Medio	10	25,0
Total	40	100,0

Del 100% de muestra se encontró que un 70% muestra un alto crecimiento bacteriano, 25% de crecimiento medio, y 5% de bajo crecimiento.

**Tabla 3: Diferencias entre la microbiota del RN alimentado con LME a nivel del mar y a una altitud de 3824 m s.n.m. hospital III EsSalud Juliaca – 2020**

**CULTIVADOS EN MRS**

	<i>Lactococcus sp</i>		<i>Lactobacillus sp</i>		<i>Bifidobacterium</i>	
	f	%	f	%	f	%
Negativo	17	42.50%	2	5.00%	27	67.50%
Positivo	23	57.50%	38	95.00%	13	32.50%
Total	40	100.00%	40	100.00%	40	100.00%

A 3824 m.s.n.m. encontramos que del 100% de muestras de meconio se encontró *Lactococcus sp.* en 57,5% y 42.50% no fue encontrado, para el *Lactobacillus sp.* 95.00% mostro ser positivo y 5.00% negativo, en el caso de las *Bifidobacterium* se observan en 67,50% de las muestra y es negativo en 32,50%.

**CULTIVADOS EN XLD**

	<i>Escherichia coli</i>		<i>Enterobacter sp</i>		<i>Klebsiella sp</i>		<i>Proteus sp</i>	
	f	%	f	%	f	%	F	%
Negativo	7	17.50%	32	80.00%	39	97.50%	37	92.50%
Positivo	33	82.50%	8	20.00%	1	2.50%	3	7.50%
Total	40	100.00%	40	100.00%	40	100.00%	40	100.00%

A 3824 m.s.n.m. encontramos que del 100 % de muestras de meconio se observa *Escherichia coli* 82,50% y es negativo en 17.50%, para *Enterobacter sp* 80.00% es negativo y solo 20,00% es encontrado, en el caso de *Klebsiella sp* el 97,50% es negativo y el 2,50% muestra positividad, para *Proteus sp.* 92.50 % es negativo y solo un 7,50 % es positivo.

## 4.2 DISCUSION

El presente trabajo de investigación: Microbiota Intestinal En Recién Nacidos alimentados con lactancia materna exclusiva a 3824 m.s.n.m. Hospital III EsSalud Juliaca - 2020. Que incluye a 40 RN a término, 21 de sexo masculino y 19 de sexo femenino, a los cuales se les tomó una muestra de meconio al tercer día de nacidos, para determinar la microbiota intestinal, donde nos planteamos la hipótesis siguiente: Dado que el RN recibe LME en condiciones de altitud se espera una microbiota con abundante colonización intestinal de *bifidobacterium Lactobacilos*, *Bacteroides*, *E. coli*, *Enterobacterias*, *klebsiella.*, sin diferencia en relación a nivel del mar.

Para el aislamiento e identificación de cepas de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME, del 100% de muestras, *Lactobacillus sp* en 95.0 %, *Escherichia coli* en 82,55 %, *Lactococos sp.* 57,5 %, *Bifidobacterium* 32.5 %, *Enterobacter sp* 20.0%, *Proteus sp* 7,5 %, %, *Klebsiella sp* 2,5%, *Enterococcus sp.* 0.0 %. Nuestros resultados coincidentes con Duranti, S. y Lugli, G. et al. Que demostró que *Bifidobacterium bifidum* es un miembro clave entre los bifidotipos, en el que su presencia se correlaciona con varias especies diferentes de bifidobacterias recuperadas en muestras fecales infantiles (26).

Coincidimos también con Yang, B., y Chen, y. et al. Que encuentra que el género *Enterobacteriaceae* no clasificado fue dominante, seguido de *Bifidobacterium*, que fue muy abundante en los grupos SVD y BF. Las especies dominantes de *Bifidobacterium* en todos los grupos fueron *B. longum subsp.longum*, *B. longum subsp. Infantis* y *B. animalis subsp. Lactis* *B. dentium* y la diversidad de *Bifidobacterium* en los grupos SVD y BF fueron significativamente mayores. Para los perfiles de *Lactobacillus*, *L. rhamnosus* y *L. gasseri* fueron dominantes entre todos los grupos, mientras que *Lactobacillus* Las especies en los grupos CS y MPF fueron más diversas (27). Nosotros encontramos predominio de *Enterobacterias* dentro de ello *E. coli*, y *Lactobacilus sp.* sin embargo no encontramos una clasificación precisa de especies de *Bifidobacterias sp.* por limitaciones técnicas.



Ruiz, L. Bacigalupe, R. et al. Encuentran que las colonias compartidas con mayor frecuencia incluían miembros de *Streptococcus* y *Staphylococcus*, sin embargo mencionan grupos principales abundantes de *Bifidobacterium*, *Micrococcus*, *Blautia* o *Actinomyces* (28). Nuestro reporte no muestra *Streptococcus* y *Staphylococcus* consideramos que pudiera deberse a que no empleamos un medio de cultivo favorable para su crecimiento, no negamos que pudiera existir.

Zhuang, L. Chen, H. et al afirma que durante la primera semana después del nacimiento, se ha observado un predominio de actinobacterias (que comprende principalmente el género *Bifidobacterium*) para los recién nacidos por vía vaginal. Las heces de los bebés alimentados con leche materna contienen más *Lactobacilos* y *bifidobacterias* y menos patógenos potenciales que las heces de los lactantes alimentados con fórmula, que contienen una flora microbiana intestinal más diversa dominada por *Bacteroides*, *Clostridia*, *Estafilococos*, enterobacterias, Enterococos y *atopobio* (29). Nosotros encontramos más *lactobacillus sp que bifidobacterias sp*, con la diferencia que tomamos las muestras al tercer día y Zhuang, L. Chen, H. et al lo hace dentro de la primera semana, considerando que conforme transcurre el tiempo existe una aumento en la población de *bifidobacterias sp*.

Rutayisire, E. Huang, K. et al. De los RN por cesárea los infantes estaban más colonizados por los géneros *Clostridium* y *Lactobacillus*. Según los informes, es tentador decir que el modo de parto por cesárea tiene menos efecto sobre la colonización y diversidad de géneros *Bifidobacterias*, *Bacteroides*, *Clostridium* y *Lactobacillus* desde los 6 a los 12 meses de vida (9). Nuestro estudio con una muestra de RN por parto vaginal no encontró *Clostridium*, aceptando que la mayor colonización bacteriana de *Bifidobacterias* del RN se produce en su tránsito por el canal vaginal

Paitán, E. Santos, R. et al. Pretendiendo caracterizar molecularmente bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de neonatos humanos, (0-3 días) empleando caldo Man Rogosa y Sharp (MRS). De las 48 cepas se obtuvieron dos perfiles BOX-PCR pertenecientes a los géneros de *Lactobacillus* y *Enterococcus*, las mismas que mostraron actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC25922, *E coli* ATCC35218, *Salmonella entérico* y *Listeria inocua* (36). En coincidencia encontramos *Lactobacillus sp*, con un alto porcentaje lo que implica que la LME asegura esta colonización y por lo tanto su posibilidad antimicrobiana.



Martín, V. Maldonado, A. et al. Afirma que la leche materna y las heces infantiles de parejas madre-bebé comparten la misma cepa (s), indicando que la lactancia materna podría contribuir a la transferencia bacteriana de la madre al bebé y, por lo tanto, a la colonización intestinal infantil (32), nuestro hallazgo de *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* correspondería también a esta afirmación.

Respecto a la cuantificación de cepas de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME. Del 100% de muestra de meconio se encontró que un 70% presento un alto crecimiento bacteriano, 25% presento un crecimiento bacteriano medio y 5% bajo crecimiento. Coincidentemente Yang, B., y Chen, Y. et al. Encuentran abundancia de microbiota intestinal en RN de parto vaginal estándar y de LM a diferencia de parto por cesárea y alimentados con leche en polvo y alimentación mixta (27).

Farzana, Y. Min, T. et al. Identificó cambios estadísticamente significativos en la abundancia microbiana intestinal entre 3 meses y 1 año de edad dentro de cada grupo de lactantes. Observamos patrones bien conocidos de sucesión de filamentos microbianos en la infancia tardía (disminución de las proteobacterias; aumento de Firmicutes y Bacteroidetes) después del parto vaginal, la lactancia y sin exposición a antibióticos. Género *Lactobacillus*, *Roseburia*, y las especies de *Faecalibacterium* aparecieron en los 10 principales aumentos de la abundancia microbiana en estos lactantes (30). Sostenemos que la LME es el factor más importante en la instalación de una microbiota abundante y benéfica para el intestino del RN.

Walker, A. y Rajashri, S. et al, La colonización bacteriana inicial apropiada con (*Bifidobacterias*, *Lactobacillus* y *Bacteroides*). Gracias a la influencia de la leche materna en la microbiota intestinal inicial también evita la expresión de enfermedades inmunomediadas (asma, enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes tipo 1) (31). No nos atrevemos a especular pero esto es fundamental en la etiología de la enfermedad del niño en la altitud.

Guzzardi, M. et al. En RN a término de parto vaginal y por cesarea encuentra que las bacterias más abundantes fueron a nivel de phylum, *Clostridiales* (27.27%), *Enterobacteriales* (27.03%), *Bifidobacteriales* (14.77%), *Lactobacillales* (12.50%), *Xanthomonadales* (4.03%), *Bacillales* (2.33%), *Bacteriodales* (1.57%), *Actinomycetales* (1.46%) y *Verrucomicrobiales* (1.28%) plantea que la colonización intestinal comienza



en el útero y la asocia con el grosor de la pared del ventrículo izquierdo al nacer. Nuestros hallazgos son diferentes no encontramos *Clostridium* y nuestro hallazgo de *Lactobacillus sp* llega a 95 %, tampoco podemos afirmar que el proceso de colonización inicie tan precozmente a nivel uterino, Guzzardi, M. et al. para su investigación toma las muestras meconiales muy precozmente a fin de garantizar que el RN no haya recibido LM.

En relación a diferencias entre la microbiota del RN alimentado con LME a nivel del mar y a una altitud de 3824 m s.n.m. En el cultivado en MRS, del 100% de muestras de meconio se encontró *Lactococcus sp.* en 57,5% y 42,50% no fue encontrado, para el *Lactobacillus sp.* 95,00% mostro ser positivo y 5,00% negativo, en el caso de las *Bifidobacterium* se observan en 67,50% de las muestra y es negativo en 32,50%.

Córdova, J. en Variación de la microbiota intestinal de neonatos alimentados con LME 2017, Perú, a 30 m s.n.m. indica que el comportamiento de la microbiota intestinal en 18 RN en el primer día de nacidos muestra principalmente: *Lactobacillus sp*, *Bifidobacterium sp*, *Lactobacillus sp.* 100,00%, *Bifidobacterium* se observan en 38,9% (35). Nuestro estudio se asemeja al trabajo de Cordova, J. en cuento a *Lactobacillus sp* y difiere en un pequeño porcentaje en el hallazgo de *Bifidobacterias sp.* posiblemente se deba al momento en la toma de muestra, nosotros realizamos la toma al tercer día, el mismo autor acepta que aumenta su población con el transcurrir del tiempo y con la LME. Sin embargo para *Lactococcus sp.* encontrado en más de la mitad de nuestro hallazgo no es reportado por Cordova, J.

Cultivado en XLD, del 100 % de muestras de meconio se observa *Escherichia coli* 82,50 % y es negativo en 17,50%, para *Enterobacter sp* 80,00% es negativo y solo 20,00% es encontrado, en el caso de *Klebsiella sp* el 97,50% es negativo y el 2,50% muestra positividad, para *Proteus sp.* 92,50 % es negativo y solo un 7,50 % es positivo

Córdova. J. encuentra también *Escherichia coli* 61,1%, *Enterobacter sp* 22,2%, *Klebsiella sp* 16,7%, no reporta *Proteus sp*, *Enterococcus sp.* ni *Clostridium sp.* Encuentra también *Streptococcus sp.* 22,2%, *S. aureus* 16,7%, *S coagulasa negativo* 61,1%, *Peptococcus sp.* 5,6%, *Peptoestreptococcus sp.* 22,2 %, *Fusobacterium* 5,6%, *Bacteroides sp.* 16,7%, (35).



Córdova. J. encuentra un menor porcentaje de *E. coli* en comparación con nosotros, podría deberse a los hábitos higiénicos de las madres y su colonización al momento del pasaje por el canal vaginal, existe mejor coincidencia en relación a *Enterobacte sp*, para *klebsiella sp* nuestro porcentaje es inferior a lo hallado por Córdova. J. especulamos que en ambos casos podría tratarse de una contaminación.



## V. CONCLUSIONES

En la microbiota intestinal en los RN alimentados con LME a 3824 m s.n.m. se determinó que la microbiota representativa está conformada por *Lactobacillus sp.*, *Escherichia coli*. Y *Bifidobacterium sp.*

El aislamiento y la identificación de la microbiota intestinal en RN alimentados con LME a 3824 m s.n.m. muestra un alto porcentaje de *Lactobacillus sp.*, *Escherichia coli*, *Lactococos sp.*, y *Bifidobacterium*, observándose un menor porcentaje de *Enterobacter sp.*, *Proteus sp.*, *Klebsiella sp.*, no se ha logrado una precisión en las subespecies involucradas, no encontramos *Streptococcus* y *Staphylococcus*, en razón a limitaciones en el empleo del medio de cultivo apropiado, afirmamos que la LME favorece el crecimiento de la microbiota intestinal adecuada.

En la cuantificación de microorganismos en meconio de RN alimentados con LME encontramos un alto crecimiento bacteriano en la mayoría de los casos, con microorganismos benéficos para la función intestinal del RN.

En relación a las diferencias entre la microbiota del RN alimentado con LME a 30 m s.n.m. y a una altitud de 3824 m s.n.m. nuestros hallazgos indican que existiría una similar colonización de *Lactobacillus sp.* y una mayor colonización de *Bifidobacterium sp.*, en relación a *E. coli* encontramos un alto porcentaje que difiere de las cifras reportada a nivel del mar.



## VI. RECOMENDACIONES

Realizar investigaciones en el hombre de altura desde etapas muy tempranas de la vida, en aspectos claramente definidos para el habitante del llano, que muestran características nuevas y diferentes también en el paciente pediátrico.

Realizar investigaciones científicas en poblaciones más numerosas que nos permitan conocer como es el comportamiento de la microbiota intestinal, precisando especies y variaciones en condiciones de altitud, y las variantes en diferentes grupos etarios,

Reconociendo la influencia de la LME sobre la microbiota intestinal del RN fomentar la difusión de la misma en la población involucrada. Considerando que la poca práctica de la LME y la modificación en la microbiota intestinal se constituye como la causa inicial de la patología en el niño y desencadenante posterior del síndrome metabólico en el adulto.

Dadas las diferencias encontradas entre la microbiota intestinal de RN en la altitud ya nivel del mar es importante realizar investigaciones científicas que clarifique y nos den mayor precisión del tema, bajo propuestas multicentricas prospectivas.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salamanca G, Osorio M, Romero K. Calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche materna de madres donantes colombianas. *Rev Chil Nutr.* 2019;46(4):409–19.
2. La Rosa D, Gómez E, Sánchez N. Intestinal microbiota in the development of the neonate's immune system. *Rev Cubana Pediatr.* 2014;86(4):502–13.
3. Farías M, Silva B, Rozowski N. Microbiota intestinal: Rol en obesidad gut microbiota: Role in obesity. *Rev Chil Nutr.* 2011;38(2):228–33.
4. Brahm P, Valdés V. Sociedad Chilena de Pediatría CInICal OverView Benefits of breastfeeding and risks associated with not breastfeeding Beneficios de la lactancia materna y riesgos de no amamantar. *Rev Chil Pediatr [Internet].* 2017;88(1):15–21. Available from: [https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v88n1/en\\_art01.pdf](https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v88n1/en_art01.pdf)
5. Neu J. *Neonatology\_Questions\_and\_Controver(BookFi).pdf.* 2012.
6. Vázquez Z, Ramírez J, Toro-Monjaraz E, Cervantes-Bustamante R, Zárate-Mondragón F, Montijo-Barrios E, et al. Importancia de la microbiota gastrointestinal en pediatría. *Acta Pediatr Mex.* 2017;38(1):49–62.
7. Zamorano M, Herrera C. Microbiota, Probióticos, Prebióticos y Simbióticos. 2015;(5):337–54.
8. Nguyen T, Chung J, Kim H, Hong S. Establishment of an ideal gut microbiota to boost healthy growth of neonates. *Crit Rev Microbiol [Internet].* 2019;45(1):118–29. Available from: <https://doi.org/10.1080/1040841X.2018.1561643>
9. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: A systematic review. *BMC Gastroenterol [Internet].* 2016;16(1):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12876-016-0498-0>



10. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol.* 2012;2(October):94.
11. Periago M, Berruezo G, López G, Martínez C, Martínez G, Pérez C. Evolución de la microbiota intestinal en lactantes: efecto de la leche materna. *ANS Aliment Nutr y salud.* 2003;10(4):100–7.
12. Karlsson C, Molin G, Cilio C, Ahrné S. The pioneer gut microbiota in human neonates vaginally born at term-A pilot study. *Pediatr Res.* 2011;70(3):282–6.
13. López C, Mach N. NUTRICIÓN INFANTIL Influencia de la gestación, el parto y el tipo de lactancia sobre la microbiota intestinal del neonato Palabras clave. *Acta Pediatr Esp.* 2014;72(2):37–44.
14. Pandey P, Verma P, Kumar H, Bavdekar A, Patole M, Shouche Y. Comparative analysis of fecal microflora of healthy full-term Indian infants born with different methods of delivery (vaginal vs cesarean): *Acinetobacter* sp. prevalence in vaginally born infants. *J Biosci.* 2012;37(1):989–98.
15. Dominguez M, Costello E, Contreras M, Magris M, Hidalgo G. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. 2010;107(26):11971–5.
16. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). El uso perinatal de antibióticos altera la microbiota del neonato. MADRID. 2014.
17. Munblit D, Verhasselt V, Warner J. Editorial: Human milk composition and health outcomes in children. *Front Pediatr.* 2019;7(JULY):3–8.
18. OPS, OMS. Los bebés y las madres del mundo sufren los efectos de la falta de inversión en la lactancia materna. 2017. p. 2.
19. Castillo B, Rams A, Castillo A, Rizo R, Cádiz L. Lactancia materna e inmunidad: impacto social. *Medisan.* 2009;
20. Comité de Lactancia Materna de la AEP. Lactancia materna en niños mayores o “prolongada.” *Asoc Española Pediatr.* 2015;



21. Ismadi S. Composition of Breast Milk Beyond One Year. :1–4.
22. Isabel M, Palafox A, Ángel M, Ortega F. Lactancia materna exclusiva ¿Siempre? Rev Peru Ginecol y Obstet. 2014;60(2):171–6.
23. Brahm P, Valdés V. Beneficios de la lactancia materna y riesgos de no amamantar. Rev Chil Pediatr. 2017;88(1):15–21.
24. Riquez S. Efecto de la leche humana y lactancia mixta sobre el desarrollo de la microbiota intestinal en neonatos pretérmino de un hospital de tercer nivel. Lima, 2017. 2017;3:1–85. Available from: [http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/683/Joel\\_Tesis\\_bachiller\\_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/683/Joel_Tesis_bachiller_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
25. Nyangahu D, Jaspan H. Influence of maternal microbiota during pregnancy on infant immunity. Clin Exp Immunol. 2019;198(1):47–56.
26. Duranti S, Lugli G, Milani C, James K, Mancabelli L, Turrone F, et al. Bifidobacterium bifidum and the infant gut microbiota: an intriguing case of microbe-host co-evolution. Environ Microbiol. 2019;21(10):3683–95.
27. Yang B, Chen Y, Stanton C, Ross R, Lee Y, Zhao J, et al. Bifidobacterium and Lactobacillus Composition at Species Level and Gut Microbiota Diversity in Infants before 6 Weeks. :1–16.
28. Ruiz L, Bacigalupe R, García C, Boix A, Argüello H, Silva C, et al. Microbiota of human precolostrum and its potential role as a source of bacteria to the infant mouth. Sci Rep. 2019;9(1):1–13.
29. Zhuang L, Chen H, Zhang S, Zhuang J, Li Q, Feng Z. Intestinal Microbiota in Early Life and Its Implications on Childhood Health. Genomics, Proteomics Bioinforma [Internet]. 2019;17(1):13–25. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2018.10.002>
30. Yasmin F, Tun H, Konya T, Guttman DS. Cesarean Section, Formula Feeding, and Infant Antibiotic Exposure: Separate and Combined Impacts on Gut Microbial Changes in Later Infancy. 2017;5(September):1–13.



31. Walker W, Iyengar RS. Breast milk, microbiota, and intestinal immune homeostasis. *Pediatr Res*. 2015;77(1):220–8.
32. Martín V, Maldonado-Barragán A, Moles L, Rodriguez-Baños M, Campo R Del, Fernández L, et al. Sharing of bacterial strains between breast milk and infant feces. *J Hum Lact*. 2012;28(1):36–44.
33. Guzzardi M, Ait-Ali L, D’Aurizio R, Rizzo F, Saggese P, Sanguinetti E, et al. Fetal cardiac growth is associated with in utero gut colonization. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. 2019;29(2):170–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2018.10.005>
34. Guillot C. Microbiota intestinal y obesidad en la infancia Gut microbiota and obesity in childhood. *Microbiota Intest y Obes en la Infanc*. 2020;92(1):24.
35. Cordova J. VARIACION DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DE NEONATOS ALIMENTADOS POR LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA EN LA CIUDAD DE TRUJILLO. *Univ Nac Trujillo*. 2014;5.
36. Santos R, Paitán E, Sotelo A, Zúñiga D, Vílchez C. Caracterización molecular de bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de neonatos humanos. *Rev Peru Biol*. 2019;26(1):119–30.
37. Rutti C. ESTILO DE VIDA SALUDABLE DE LAS MADRES Y LA MICROBIOTA INTESTINAL DE NEONATOS PREMATUROS DE UN HOSPITAL DE LIMA EN EL 2017. *Univ San Ignacio Loyola*. 201



## ANEXOS

### ANEXO 1

#### FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

**Universidad Nacional Del Altiplano**

**Facultad de Medicina Humana**

**Hospital III EsSalud – Juliaca**

**Servicio de pediatría**

**Código recién nacido:** \_\_\_\_\_

**Fecha y hora:** \_\_\_\_\_

**Sexo:** f ( ) m ( )

**Edad gestacional:** \_\_\_\_\_

**Peso:** \_\_\_\_\_

**Celular:** \_\_\_\_\_

**Lactancia materna exclusiva**

#### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Nacido en el hospital de EsSalud III Juliaca.
- RN a término entre 37 semanas y 41 semanas
- RN con peso adecuado para la edad
- RN de parto vaginal eutócico.
- RN de sexo femenino y masculino
- RN de gestación única.
- RN con diagnóstico clínicamente sano.
- RN que reciban lactancia materna de forma exclusiva.

#### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- RN de madres con ruptura prematura de membrana.
- RN de madres con infección del tracto urinario, vulvovaginitis y/o otras infecciones.
- RN con malformaciones congénitas digestivas.
- RN con diagnóstico de sepsis.
- RN que recibieron antibiótico – terapia
- RN que reciban probióticos y prebióticos.



## ANEXO 2

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PADRES

Estimado Sr. Sra.

Su hijo/a ha sido invitado a participar en la investigación titulada **“Microbiota intestinal en recién nacidos alimentados con leche materna a 3824 m s.n.m. -Hospital EsSalud III Juliaca - 2019”**, realizado por la investigadora Mary Carmen Coya Cutisaca, Bachiller de la facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno. Y la Dra. Tania Roxana Aguilar Portugal

es un formulario de consentimiento informado cuyo objetivo es entregar toda la información necesaria para que Ud. decida si desea o no participar en esta investigación. La investigadora hablará con usted acerca de esta información y usted es libre de hacer preguntas en cualquier momento. Si usted está de acuerdo en que su hijo/a participe, se le pedirá que firme este formulario de consentimiento. Y se le dará una copia para que la guarde.

Por intermedio de este documento se le está solicitando que su hijo/a participe en este estudio, porque se necesita datos sobre microbiota intestinal en neonatos, nacidos a altitud,

El propósito de este estudio es Determinar cuáles son las cepas de microorganismos en meconio de recién nacidos alimentados con leche materna.

Este estudio permitirá identificar la tipología de los microorganismos y observar la influencia de la lactancia materna exclusiva sobre este.

La participación de su hijo/a es voluntaria, consistirá en la recolección de una muestra de meconio, la actividad tendrá una duración 1 día, se realizará en el servicio de neonatología, y alojamiento conjunto de gineco-obstetricia del hospital EsSalud III – Juliaca.

El que Ud. decida que su hijo/a participe de este estudio no conlleva riesgos para su salud ni su persona debido a que se recolectara muestra de heces eliminadas.



Si Usted no desea que su hijo/a participe no implicará sanción. Además, también puede optar por retirarse de este estudio en cualquier momento y la información que hemos recogido será descartada del estudio y eliminada.

La participación de su hijo/a es totalmente confidencial, ni su nombre ni ningún tipo de información que pueda identificarla aparecerá en los registros del estudio, ya que se utilizarán códigos. El almacenamiento de los códigos estará a cargo del investigador Responsable.

Su hijo/a no se beneficiará de participar en este estudio, sin embargo, la información que pueda obtenerse a partir de su participación será de utilidad para conocer la microbiota intestinal de neonatos en la altura alimentados con leche materna, ya que este último es influyente y determinante para enfermedades autoinmunes en lo posterior.

El participar en este estudio no tiene costos para su hijo/a y no recibirá ningún pago por estar en este estudio. Si Ud. desea, se le entregará un informe con los resultados de los obtenidos una vez finalizada la investigación,

Si durante la investigación Usted algún, comentarios o preocupaciones relacionadas con la conducción de la investigación o preguntas sobre sus derechos al participar en el estudio, puede dirigirse al Presidente del Comité Ético Científico del Hospital EsSalud III - Juliaca tel: 051-322990, o dirigirse personalmente Av. José santos Chocano S/N La capilla Juliaca – Puno – Perú, en horario de 09:00 a 13:00 hrs.

Quedando claro los objetivos del estudio, las garantías de confidencialidad y la aclaración de la información, acepto voluntariamente la participación de mi hijo/a en este estudio, firmo la autorización.



### DECLARACION DE CONSENTIMIENTO

Yo, .....identificada con DNI N°  
.....en calidad de madre ( ), padre ( ), apoderado legal ( ) del  
menor.....con .....de edad.

Declaro que los investigadores Dra Tania Roxana Aguilar Portugal y Mary  
Carmen Coya Cutisaca, estudiante de la Facultad de Medicina Humana De La  
Universidad Naciona Del Altiplano – Puno.

He leído y discutido la información anterior con el investigador responsable del  
estudio y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria, puedo  
realizar preguntas en cualquier momento de la investigación.

Por lo tanto con la información completa, oportuna y sin presión, yo voluntaria y  
libremente doy mi consentimiento informado para la realización, recogo de  
muestras de meconio de mi hijo/a asi mismo tengo entendido que en cualquier  
momento puedo retirar a mi hijo/a del estudio.

Juliaca.... De..... 2020

Firma del padre o representante legal: .....

Nombre:

N° DNI:

### REVOCATORIA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, .....Identificado con DNI N°  
..... En calidad de Madre ( ), padre ( ), apoderado legal ( ) del  
menor.....

Declaro que de forma libre y consciente he decidido revocar el consentimiento  
firmado en fecha ..... para la recolección de meconio y estudio  
de microbiota intestinal, según me han explicado esto no tendrá ninguna  
consecuencia en la salud, ni en la atención de mi menor hijo.

Juliaca..... de..... Del 2020

Firma del padre o representante legal: .....

Nombre: .....

N° DNI:

### ANEXO 3

## DICTAMEN DE LA COMITÉ DE ÉTICA DEL HOSPITAL II ESSALUD JULIACA – 2020

**DICTAMEN DE COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN**

Acuerdo de Comisión de Ética: Acta N° 7 del 20 de diciembre de 2019  
Resolución de Conformación de Ética N°50GRAJUL-ESSALUD-2020

**1° Proyecto de Investigación:**

- Título: Microbiota intestinal en recién nacidos alimentados con leche materna exclusiva a 3824 msnm del Hospital-III Essalud Juliaca, 2020. Frecuencia de *Bifido bacterium*, *Lactobacilo bacteroides*, *E. coli*, *Enterobacterias* y *Klebsiella spp.*
- Código de protocolo: 1299-2019-1398
- Investigador Principal:
  - Mary Carmen Coya Cutisaca
- Co - Investigador:
  - Dra. Tania Roxana Aguilar Portugal
- Institución: Universidad Nacional del Altiplano, Puno

**2° Diseño de Estudio:**

1 Observacional	
a. Exploratorio	<input type="checkbox"/>
b. Descriptivo	<input checked="" type="checkbox"/>
c. Analítico	<input type="checkbox"/>
2. Cuasi experimental	<input type="checkbox"/>
3. Experimental	<input type="checkbox"/>

**3° Fuente de Datos**

1. Primarios	<input checked="" type="checkbox"/>
2. Secundarios	<input type="checkbox"/>

**4° Del tipo de Intervención**

1. Sin Intervención	<input checked="" type="checkbox"/>
2. Con Intervención	<input type="checkbox"/>

**5° Conclusión:**

El Comité de Ética e Investigación Dictamina que el Proyecto de Investigación:  
Microbiota intestinal en recién nacidos alimentados con leche materna exclusiva a 3824 msnm del Hospital-III Essalud Juliaca, 2020. Frecuencia de *Bifido bacterium*, *Lactobacilo bacteroides*, *E. coli*, *Enterobacterias* y *Klebsiella spp.*

**Dictamina:**                    **APROBADO**     **NO APROBADO**

**Observaciones:** Ninguna.

---

Dr. OSCAR VEGA HINOJOSA  
Especialista en Neonatología  
CMI: 37230 - 000 00294

Juliaca, 17 de enero de 2020

1



## ANEXO 4

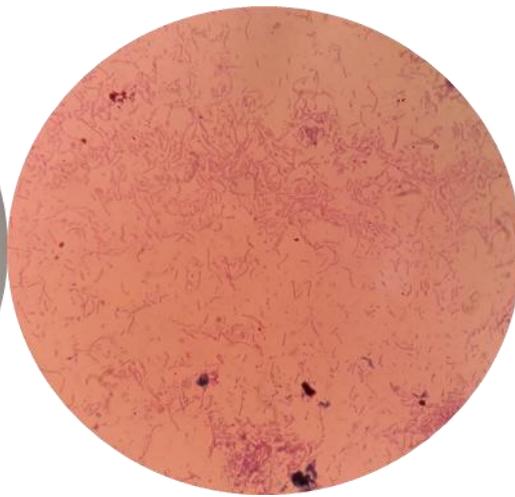
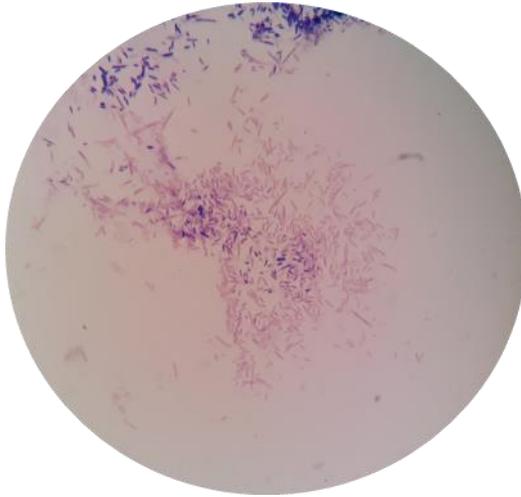
### FICHA DE IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS

CODIGO DEL RECIEN NACIDO	MEDIO MRS				MEDIO XLD							
	GRAM		CATALASA	CONCLUSIONES	MEDIOS BIOQUIMICOS DIFERENCIALES					GRAM		CONCLUSIONES
	GRAM (-)	GRAM (+)			TSI	LIA	CITRATO SIMMONS	INDOL	UREA	GRAM (+)	GRAM (-)	
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												
9												

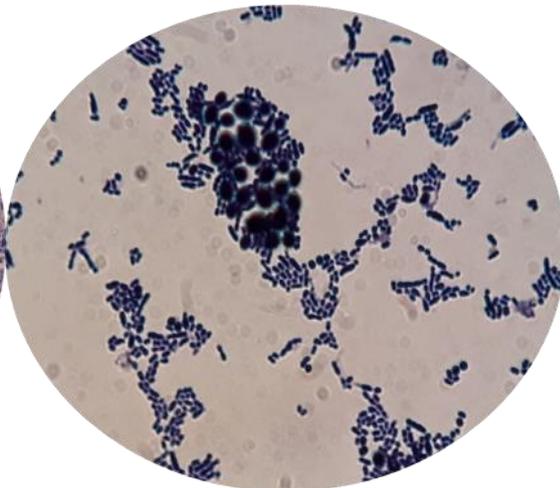
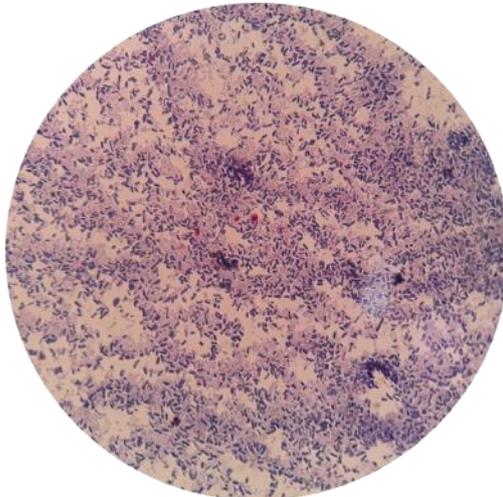
CODIGO DEL RECIEN NACIDO	UFC/GRADOS			AGAR XILOSE – LYSINE- DESOXYCHOLATE					AGAR MAN ROGOSA SHARPE		
	ALTO	MEDIO	BAJO	<i>E. Coli</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Citrobacter sp.</i>	<i>Proteus sp.</i>	<i>Klebsiella sp.</i>	<i>Bifidobacterium</i>	<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Lactococos sp.</i>
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											

## ANEXO 5

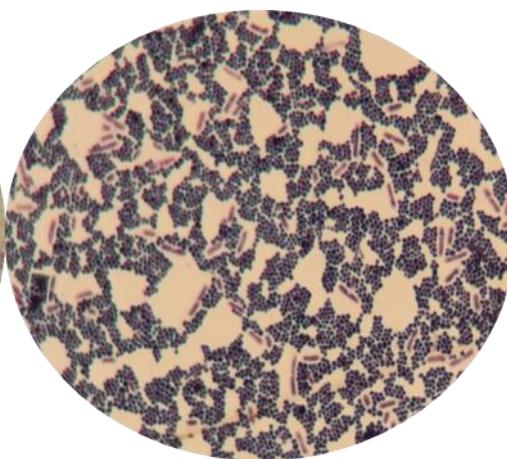
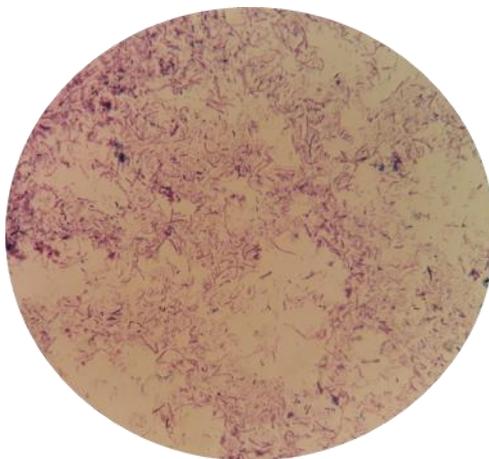
### MICROORGANISMOS OBSERVADOS BAJO MICROSCOPIA



*Bifidobacterium sp.*



*Lactococcus sp.*



*Lactobacilos sp.*

*Cocos y bacilos*

## MEDIOS DE CULTIVOS DIFERENCIALES BIOQUIMICOS



### CRECIMIENTO DE MEDIO DE CULTIVO EN XLD



### CRECIMIENTO EN MEDIO DE CULTIVO MRS

