



Comunicación Corta

Cambios en la microbiota intestinal en neonatos pretérmino en un hospital de tercer nivel en Perú

Changes in the intestinal microbiota in preterm infants in a tertiary hospital in Peru

DOI

Lissette Flores de Valgas-Velez^{1,c}; Natali Huzco-Rutti^{1,b}; Pool Marcos-Carbajal^{2,3,a}<https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2022.152.884>

RESUMEN

Introducción: La Microbiota Intestinal (MI) del recién nacido pretérmino (RNP) es modificada por factores como la hospitalización, los antibióticos, la nutrición post natal, entre otros. **El estudio:** Investigación observacional - longitudinal con objetivo de analizar los cambios en la MI promovidos por el tipo de lactancia recibida en neonatos <37 semanas de edad gestacional. Se analizaron muestras de 23 neonatos hospitalizados en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCIN) y Neonatología. **Hallazgos:** No se encontró diferencia significativa en el desarrollo de la MI respecto al tipo de alimentación, sin embargo se observó una tendencia diferente entre los neonatos alimentados con Leche Humana (LH) que aumentaron la cantidad de *Lactococcus* y *Clostridium* mientras disminuyeron *Lactobacillus*, opuesto al grupo alimentado con Lactancia Mixta (LM) que aumentó la abundancia de *Lactobacillus* y disminuyó *Lactococcus* y *Clostridium*; **Conclusión:** Se concluye que los miembros específicos de la MI del RNP depende de la interacción dinámica entre el huésped y el tipo de selección dietética.

Palabras Clave: Microbiota intestinal; recién nacido pretérmino; leche humana, lactancia mixta; leche humana donada.

ABSTRACT

Background: The Intestinal Microbiota (IM) of the preterm newborn (RNP) is modified by factors such as hospitalization, antibiotics, postnatal nutrition, among others. **The study:** Observational - longitudinal research with the objective of analyzing the changes in IM promoted by the type of breastfeeding received in neonates <37 weeks of gestational age. Samples of 23 neonates hospitalized in the Intensive Care Units (NICU) and Neonatology were analyzed. **Findings:** No significant difference was found in the development of IM with respect to the type of feeding, however a different trend was observed among the neonates fed with Human Milk (HL) that increased the amount of *Lactococcus* and *Clostridium* while they decreased *Lactobacillus*, opposite to the group fed with Mixed Lactation (BF) that increased the abundance of *Lactobacillus* and decreased *Lactococcus* and *Clostridium*; **Conclusion:** It is concluded that the specific members of the MI of the RNP depend on the dynamic interaction between the host and the type of dietary selection.

Keywords: Gut microbiota; preterm newborn; breastfeeding; mixed lactation; donated human milk. (Source: DeCS-BIREME).

FILIACIÓN

1. Universidad Peruana Unión, Escuela profesional de Nutrición Humana. Lima, Perú.
2. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Facultad de Ciencias y Filosofía, Laboratorio de Genómica Microbiana. Lima, Perú.
3. Universidad Peruana Unión, Escuela Profesional de Medicina Humana, Laboratorio de Investigación en Biología Molecular. Lima, Perú.
 - a. Magister en Biología Molecular.
 - b. Magister en nutrición clínica.
 - c. Nutricionista.

ORCID

1. Lissette Flores de Valgas Velez / [0000-0002-2104-3865](https://orcid.org/0000-0002-2104-3865)
2. Pool Marcos-Carbajal / [0000-0002-7741-0337](https://orcid.org/0000-0002-7741-0337)
3. Natali Huzco Rutti / [0000-0001-5993-0008](https://orcid.org/0000-0001-5993-0008)

CORRESPONDENCIA

Pool Marcos Carbajal
Dirección: Carretera Central Km 19.5 Ñaña, Chosica

EMAIL

poolmarcos@upeu.edu.pe

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

FINANCIAMIENTO

Financiamiento propio.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todo el personal administrativo, médicos y enfermeras del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé en especial al Dr. Wilfredo Ingar, a la Lic. Dariela Armas y al Dr. Gonzalo Moscoso por sus aportes en esta investigación. Además, agradezco a la Universidad Peruana Unión por el impulso para la elaboración y ejecución de esta investigación.

RESPONSABILIDADES ETICAS

- **Protección de personas.** Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos.
- **Confidencialidad de los datos.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.
- **Derecho a la privacidad y consentimiento informado.** Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes y que los datos fueron recolectados después de firmado el consentimiento informado.

COMO CITAR

Flores de Valgas-Velez L, Huzco-Rutti N, Marcos-Carbajal P. Cambios en la microbiota intestinal en neonatos pretérmino en un hospital de tercer nivel en Perú. Rev. Cuerpo Med. HNAAA [Internet]. 15 de junio de 2022 [citado 15 de junio de 2022];15(2). DOI: [10.35434/rcmhnaaa.2022.152.884](https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2022.152.884)



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional.

Versión Impresa: ISSN: 2225-5109

Versión Electrónica: ISSN: 2227-4731

Cross Ref. DOI: 10.35434/rcmhnaaa

OJS: <https://cmhnaaa.org.pe/ojs>

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año nacen unos 15 millones de niños pretérmino (<37 semanas de gestación). Oscilando la tasa de nacimientos prematuros entre el 5% y 18% de los recién nacidos. En 2015 aproximadamente un millón de niños menores de 5 años murieron por complicaciones relacionadas con la prematuridad⁽¹⁾. Asimismo, el Fondo Internacional de Emergencia de las Naciones Unidas para la infancia (UNICEF), estima que Perú tiene una tasa de mortalidad infantil de 19,6% en menores de cinco años por complicaciones del nacimiento prematuro⁽²⁾.

Según la OMS las complicaciones en prematuros ocasionan un incremento en la morbilidad y mortalidad neonatal, representando un alto costo económico para las familias y la sociedad. Las complicaciones potencialmente mortales en los prematuros son la enterocolitis necrosante (NEC) y la sepsis que están relacionadas con alteraciones en el microbioma intestinal (disbiosis). Además, implica riesgo futuro de asma, atopía, obesidad y enfermedades psicosociales. Por ende, las bacterias entéricas se estiman esenciales para mantener el entorno fisiológico debido a que ejerce efectos protectores, estructurales y metabólicos en el epitelio⁽³⁾.

Los RNP están expuestos a varios factores que afectan el desarrollo de la MI: la hospitalización, la edad gestacional, el uso de antibióticos y la alimentación⁽⁴⁾. Además, se ha reportado que el factor alimentación tiene gran importancia, afirmando que, la leche materna es el mejor alimento para el prematuro por ser mejor tolerado, y poseer múltiples beneficios por sus componentes bioactivos como oligosacáridos que previenen la colonización de patógenos entéricos, e incluso cuando la leche es de donantes⁽⁵⁾. En este sentido, Brasil reporta la disminución del 73% de la mortalidad infantil, que atribuye a los bancos de leche humana (BLH); en comparación con las fórmulas artificiales, que se le conceden menos beneficios e incluso se le ha atribuido la incidencia de NEC⁽⁶⁾. No obstante, Walker et al.⁽⁷⁾ señaló que la fórmula que contiene prebióticos y probióticos puede ayudar a superar un proceso de colonización inicial inadecuado y establecer un sistema inmune de la mucosa normal.

Por tanto, el objetivo de la presente investigación es determinar la MI en neonatos pretérmino y observar los cambios introducidos por el tipo de lactancia en un hospital de tercer nivel del Perú.

EL ESTUDIO

Este estudio de enfoque cuantitativo, de diseño observacional - longitudinal. Incluye a recién nacidos pretérmino sin ninguna anomalía gastrointestinal congénita fueron inscritos después de obtener el consentimiento dentro de las primeras 120 h. La recolección de datos fue en un periodo de 8 meses (abril a diciembre) del 2017, en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) y en la unidad de Neonatología del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, Lima-Perú.

Muestra.

De los 54 individuos que se obtuvieron muestras para este estudio, solo se tomaron en cuenta 23 neonatos pretérmino (<37ss) que cumplieron con los criterios de inclusión; haber nacido antes de las 37 semanas de gestación, no presentar sepsis en el periodo de estudio y haberse realizado los análisis en los dos tiempos de estudio. La muestra fue dividida en dos grupos de acuerdo con el tipo de alimentación que recibieron hasta el momento del segundo análisis, en un grupo los neonatos alimentados con leche humana (LH) que incluyen los alimentados con leche materna exclusiva y/o leche humana pasteurizada o donada y en el otro los que tomaron lactancia mixta (LM), considerándose a la leche humana y/o fórmula para prematuro.

Recolección de muestras

Las muestras de meconio y heces fueron recolectadas cuando el neonato se encontraba en su incubadora en UCIN o en cuidados intermedios de Neonatología.

El meconio se recolectó desde las primeras horas del nacimiento hasta el quinto día, mientras que la muestra de heces fue el día 30 (± 10 días). Ambas muestras fueron recogidas del pañal del bebé, almacenándose en frascos estériles con la ayuda de paletas estériles, luego fue codificado, manteniéndose en una temperatura de 5°C para su posterior transporte y análisis.

La identificación, aislamiento y recuento de bacterias se realizó mediante protocolos establecidos en el laboratorio de microbiología de Bioservice SRL, donde se utilizó los medios Baird Parker para *Staphylococcus*, agar MacConkey para *Enterobacteriaceae*, en Man Rogosa y Sharpe para *Bifidobacterium* y *Lactobacillus* y agar TSC para *Clostridium*. La identificación presuntiva de las colonias en los agares se realizó mediante evaluación macroscópica, microscópica y pruebas bioquímicas. Luego para el recuento de las colonias cada placa se multiplicó por el factor de dilución y factor de volumen sembrado ($\text{UFC/ml} = \text{N}^\circ \text{ UFC} \times 10^{-x} \times 10$), así reportar el número de colonias/ml (UFC/ml).

Instrumentos

Se utilizó fichas para recabar información de la historia clínica como: características sociodemográficas, y datos pre y perinatales; como el peso al nacer, longitud, edad gestacional, tipo de alimentación, uso de nutrición parenteral, uso de antibióticos (la cantidad de antibióticos para cada paciente se midió por días de terapia y se calculó como la suma total del número de días de todos los antibióticos utilizados), etc. Otra ficha para el registro de recolección del primer meconio (con fecha y hora), igualmente para las muestras de heces.

Análisis de datos

La base de datos fue digitada en el programa Microsoft Excel y, posteriormente, fue exportada al paquete estadístico STATA versión 13 para los análisis correspondientes.

Se elaboraron tablas descriptivas con las variables sociodemográficas y clínicas de los neonatos. Donde se mostraron frecuencias para las variables de naturaleza cualitativa mientras que para las variables de naturaleza cuantitativa se mostraron medias y desviaciones estándar.

Por otro lado, las concentraciones de la microbiota en meconio y heces fueron categorizadas según puntos de corte, siendo “ausente” cuando no hubo concentración, “menor” cuando la concentración fue menor a 10⁶ UFC y “mayor” cuando la concentración era mayor o igual a 10⁶ UFC. De esta manera se pudo obtener variables cualitativas que se expresaron en frecuencias en una tabla descriptiva.

Siendo así, para el análisis estadístico inferencial se aplicó la prueba Exacta de Fisher relacionando los distintos tipos de cepas de microbiota en meconio y heces con el tipo de alimentación y las distintas variables cualitativas del estudio. También se ejecutó una comparación de las concentraciones de las cepas de microbiota en meconio y heces de acuerdo al tipo de alimentación recibida mediante la prueba t de student para datos pareados.

Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional de la Universidad Peruana Unión y por el comité de ética del Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé. Esta investigación no incluye experimentos humanos ni el sometimiento de los participantes a un tipo de alimentación, las muestras se distribuyeron de acuerdo con el tipo de alimentación recibida según los protocolos ya establecidos por UCIN y neonatología de la institución de salud.

HALLAZGOS

Para el análisis de la microbiota intestinal (MI) se utilizaron métodos de cultivos, tanto para describir la MI en muestras de meconio y el desarrollo en heces, en dos grupos de neonatos prematuros; alimentados con LH (n=11) y LM (n=12).

Se presentaron algunos factores que condicionan el estado de la MI entre los cuales podemos observar que el 82,61% de los neonatos fueron prematuros moderados a tardíos y solo el 17,39% fueron muy prematuros. Y al distribuirlos en grupos según tipo de alimentación el grupo LH tuvo neonatos de menor edad gestacional (EG) (32,36 ± 2,98 semanas de EG) mientras que el grupo LM tuvo neonatos mayores (34,25 ± 1,48 semanas de EG). Por otro lado, el uso de antibióticos que fue desigual entre los grupos: los neonatos del grupo LH utilizaron en promedio 11,09 ± 15,21 días mientras que el grupo LM solo estuvo en terapia antibiótica por 3,92 ± 4,25 días (Ver tabla 1).

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los neonatos pretérmino. Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, UCIN- Neonatología. 2017.

Variables demográficas		N (23)	%
Edad gestacional	Muy prematuros	4	17,39
	Prematuros moderados a tardíos	19	82,61
Peso al nacer	Extremadamente bajo	2	8,7
	Muy bajo	7	30,43
	Bajo	9	39,13
	Normal	5	21,74
Estatura	AEG	10	43,48
	PEG	13	56,52
Perímetro cefálico (cm)*		29,09 ± 3,53	
Sexo	Femenino	14	60,87
	Masculino	9	39,13
Tipo de parto	Espontáneo	3	13,04
	Cesárea	20	86,96
Edad de la madre (años)*		33,48 ± 11,74	
Educación de la madre	Primaria	5	21,74
	Secundaria	6	26,09
	Superior	12	52,17
Infecciones de la madre	No	5	21,74
	Si	18	78,26
Variables clínicas		Alimentación	Promedio ± DE
Nutrición parenteral	LH	18,45 ± 19,08	
	LM	8,17 ± 5,29	
Terapia Antibiótica	LH	11,09 ± 15,21	
	LM	3,92 ± 4,25	
Transfusiones	LH	1,73 ± 1,90	
	LM	0,42 ± 1,44	
Soporte ventilatorio	LH	20,90 ± 20,12	
	LM	2,17 ± 2,55	
Edad gestacional	LH	32,36 ± 2,98	
	LM	34,25 ± 1,48	

Tabla 2. Prevalencia de géneros en muestras de meconio y heces. Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, UCIN- Neonatología. 2017.

Variables*		Meconio		Heces	
		N	%	N	%
<i>Lactococcus spp.</i>	Ausente	7	41,18	16	76,19
	Menor	3	17,65	0	0
	Mayor	7	41,18	5	23,81
<i>Bifidobacterium spp.</i>	Ausente	22	95,65	12	52,17
	Menor	0	0	4	17,39
	Mayor	1	4,35	7	30,43
<i>Lactobacillus spp.</i>	Ausente	18	78,26	10	43,48
	Menor	0	0	1	4,35
	Mayor	5	21,74	12	52,17
<i>Staphylococcus spp.</i>	Ausente	16	69,57	11	47,83
	Menor	2	8,7	6	26,09
	Mayor	5	21,74	6	26,09
<i>Clostridium spp.</i>	Ausente	20	95,24	16	69,57
	Menor	0	0	4	17,39
	Mayor	3	4,76	3	13,04
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	19	82,61	8	34,78
	Menor	3	13,04	9	39,13
	Mayor	1	4,35	6	26,09

*AUSENTE: sin UFC; MENOR: UFC menor a 10⁶; MAYOR: UFC mayor a 10⁶

Los *Lactococcus* fueron los géneros predominantes en meconio encontrándose en el 58,83% de las muestras, de los cuales el 41,18% tuvieron más de un millón de UFC. Seguido por los *Staphylococcus* y *Lactobacillus* que se mostraron en el 30,4 y 21,74% respectivamente, y en ambos géneros el 21,74% tuvo un recuento mayor de un millón de UFC. Mientras que los *bifidobacterium* estuvieron ausentes el 95,65%, *Clostridium* en el 95,24% y *E. coli* en el 82,61% (Ver tabla 2).

Asimismo, en el 23,81% de las muestras de heces hubo presencia de *Lactococcus*, mientras que el 56,52% (n=13) tuvieron presencia de *Lactobacillus* de los cuales 12 obtuvieron un recuento bacteriano mayor de un millón. Por otro lado, el 52,18% de las muestras de heces presentaron *Staphylococcus*, el 65,22% *Escherichia coli* y el 30,43% *Clostridium*. En cuanto a las *Bifidobacterium* en el 47,83% de las muestras se encontró presencia de este género y en la mayoría observó un recuento > 1 000,000 UFC (Ver tabla 2).

Tabla 3. Relación entre los géneros y tipo de alimentación en heces. Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, UCIN- Neonatología. 2017.

Variables	Géneros	Heces			P
		Ausente	Menor	Mayor	
<i>Lactococcus spp.</i>	LH	8 (80,00)	0 (0,00)	2 (20,00)	0,99
	LM	8 (72,73)	0 (0,00)	3 (27,27)	
<i>Bifidobacterium spp.</i>	LH	9 (81,82)	0 (0,00)	2 (18,18)	0,01
	LM	3 (25,00)	4 (33,33)	5 (41,67)	
<i>Lactobacillus spp.</i>	LH	7 (63,64)	0 (0,00)	4 (36,36)	0,14
	LM	3 (25,00)	1 (8,33)	8 (66,67)	
<i>Staphylococcus spp.</i>	LH	4 (36,36)	4 (36,36)	3 (27,27)	0,51
	LM	7 (58,33)	2 (16,67)	3 (25,00)	
<i>Clostridium spp.</i>	LH	7 (63,64)	2 (18,18)	2 (18,18)	0,83
	LM	9 (75,00)	2 (16,67)	1 (8,33)	
<i>Escherichia coli</i>	LH	3 (27,27)	7 (63,64)	1 (9,09)	0,05
	LM	5 (41,67)	2 (16,67)	5 (41,67)	

*AUSENTE: sin UFC; MENOR: UFC menor a 10⁵; MAYOR: UFC mayor a 10⁶

En relación a la concentración del género *Lactobacillus* fue el más abundante tanto en las heces como el meconio de los neonatos, y también se pudo observar un aumento del meconio a heces. Los géneros de *Staphylococcus* y *Lactococcus* también se encontraron abundantemente en el meconio, los cuales disminuyeron en las muestras de heces, por otro lado, en las heces, aumentó la concentración de *Bifidobacterium* y *E. coli* mientras que *Clostridium* disminuyó levemente (Ver figura 1).

Se demostró que existe correlación estadísticamente significativa entre *Bifidobacterium* y *E. Coli* con respecto al tipo de alimentación, mientras que *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Clostridium* no tienen correlación.

Tabla 4. Cambios en la abundancia de los géneros de la microbiota intestinal. Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, UCIN- Neonatología. 2017.

Géneros	Alimentación	Meconio	Heces	p
<i>Lactococcus spp.</i>	LH	1,18	2,75	0,59
	LM	11,56	0,94	0,17
<i>Bifidobacterium spp.</i>	LH	2	4,73	0,55
	LM	0	9,29	0,19
<i>Lactobacillus spp.</i>	LH	9,09	5,65	0,76
	LM	13,25	21,6	0,56
<i>Staphylococcus spp.</i>	LH	13,78	5,06	0,44
	LM	5,23	4,67	0,92
<i>Clostridium spp.</i>	LH	0	1,15	0,18
	LM	3,2	0,6	0,45
<i>Escherichia coli</i>	LH	0	1,51	0,32
	LM	0,37	10,94	0,14

Valores correspondientes a heces y meconio están descritos en concentraciones; P representa la significancia.

Finalmente, en la comparación de las concentraciones (UFC) de los distintos géneros de la microbiota intestinal, en meconio y heces segregados según el tipo de alimentación que recibieron los neonatos, indicó que a pesar de haber una diferencia entre las concentraciones de los géneros en las muestras de meconio y heces no es significativo (Ver tabla 4).

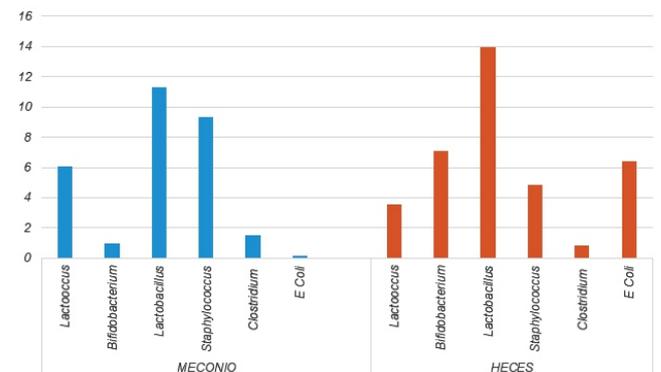


Figura 1. Abundancia de los géneros de la microbiota intestinal (UFC*106). Hospital Nacional Docente Madre Niño San Bartolomé, UCIN- Neonatología. 2017.

Además, se puede observar que el 75% de los neonatos alimentados LM presentaron *Bifidobacterium spp.*, y *Lactobacillus spp* en heces, mientras que las muestras de LH solo tuvieron una prevalencia del 18,18% y 36,36%, respectivamente. Por otro lado, la prevalencia de *E. coli* en las heces del grupo LH, fue del 72,73% pero su abundancia fue menor de un millón de UFC a diferencia de los que recibieron LM, donde el 58,34% de las muestras tuvieron *E. coli* pero su concentración fue mayor de un millón (Ver tabla 3).

DISCUSIÓN

El 82,61 % de la población total tuvieron una edad gestacional entre 32 a <37 semanas y solo el 17,39 % tuvieron entre 28 a <32 semanas. Además, el 86,96% (n=20) de los niños nacieron por cesárea. Y el 56,52% recibió profilaxis antibiótica (Ver tabla 1), siendo así que las características clínicas y demográficas reportan que los neonatos han sido expuestos a factores que influyen en la composición de la microbiota intestinal⁽⁸⁾.

Una de las limitaciones del estudio incluye el tamaño de muestra, siendo pequeño; por lo tanto, la inferencia con respecto a la causalidad es limitada. Sin embargo, se han encontrado relaciones significativas entre la microbiota intestinal y el tipo de alimentación. En general, se pudo describir mejor los géneros encontrados en muestras de meconio y heces, además su relación con el tipo de alimentación. En su mayoría los estudios con los que se discuten los resultados fueron realizados por técnicas moleculares y solo Moles et al., utilizó dos técnicas (cultivo y molecular).

Entre las bacterias encontradas en el meconio predominó el género *Lactococcus* (58,52%) seguido de *Staphylococcus* (30,43%) y *Lactobacillus* (21,74%). Especies semejantes encontró Moles et al., en España (2013)⁽⁹⁾ reportando que el género predominante fue *Staphylococcus* en el 50% de las muestras, asimismo Drell et al., en Estonia (2014)⁽¹⁰⁾, describió una prevalencia del 70%. Este predominio de la familia *Staphylococcaceae* en la MI de los recién nacidos, Adlerberth et al., lo ha relacionado con una mejor condición higiénica durante el parto⁽¹¹⁾ mientras Itani et al.,⁽¹²⁾ lo relacionó con el parto por cesárea y la edad gestacional siendo que los neonatos <33 ss de EG tienen mayor prevalencia de *Staphylococcus* (p=0,036). Además, Drell hizo una correlación entre una mayor abundancia del género *Staphylococcus* y la edad gestacional en neonatos de EBP con concluyendo que, el riesgo de adquirir infecciones a través de la colonización por *Staphylococcus* es máximo en la primera semana de vida⁽¹⁰⁾. Además, según Gosalbes et al., la MI del meconio puede estar agrupada en dos tipos diferentes de acuerdo a la diversidad bacteriana, riqueza y composición, MI menos diversa y dominada por bacterias entéricas se asocia significativamente con un historial de eczema atópico en la madre (P = 0,038), mientras que si es dominada por bacterias ácido lácticas está asociado significativamente con problemas respiratorios en el lactante (P = 0,040)⁽¹³⁾.

Por otro lado, los resultados del estudio reportaron que, en las heces, el género más prevalente fue *Escherichia coli* (65,2%) seguido de *Lactobacillus* (56,52%) y *Staphylococcus* (52,17%), resultados similares encontró Moles et al.,⁽⁹⁾ donde la prevalencia fue de *Enterococcus* (93%) seguida de *E. Coli* (71,4%) y *Staphylococcus* (50%). Las diferencias entre los resultados pueden atribuirse a la metodología de los estudios, siendo que Moles utilizó más recursos y medios de cultivos además del método molecular por lo cual pudo describir todas las bacterias presentes en la MI, mientras que en este estudio se cultivaron una limitada cantidad de géneros bacterianos.

En contraste, Drell et al.⁽¹⁰⁾, encontró mayor prevalencia de

Enterococcus (aprox. 80%) *Staphylococcus* (aprox. 65%) y *Escherichia* (aprox. 40%). Lo que puede estar relacionado según Jiménez et al., con el tipo de alimentación, evidenciando que los bebés alimentados con leche materna tuvieron mayor prevalencia de *Staphylococcus Epidermis* específicamente, a diferencia de los alimentados con fórmula para prematuro⁽¹⁴⁾. Al mismo tiempo, en el presente estudio el 47,83% de las muestras de heces fueron colonizadas por *Bifidobacterium spp.*, prevalencia mayor a la reportada por Moles et al.⁽¹⁵⁾, (<10%) y Jacquot, et al.⁽¹⁶⁾, (11%) quienes reportaron pocos neonatos colonizados por este género; tales resultados pueden atribuirse según Jacquot a la edad gestacional, señalando que la diversidad bacteriana aumenta más lentamente en neonatos extremadamente prematuros (EG <28 semanas) que en lactantes prematuros moderados (EG ≥ 28 semanas). Resultados que pueden ser acogidos en esta investigación, para atribuir la mayor prevalencia y abundancia de *Bifidobacterium* encontrados a que el 82,61% de los neonatos nacieron con una EG >32 semanas⁽¹⁶⁾. Por último, el género *Lactobacillus* fue el más abundante en ambas muestras de meconio y heces. Resultados que difieren con Drell et al.,⁽¹⁰⁾ donde el género más abundante en meconio fue *Staphylococcus* y en heces *Escherichia / Shigella*. Estas diferencias halladas se pueden atribuir al país de origen, puesto que la microbiota intestinal puede variar significativamente entre países de bajos ingresos y de altos ingresos⁽¹⁷⁾.

La relación entre el tipo de alimentación y MI en heces determinó que los neonatos alimentados con leche mixta, tuvieron mayor prevalencia y abundancia significativa de *Bifidobacterium* (p= 0,01) y *Escherichia Coli* (p = 0,05) que los alimentados con leche humana. Resultados similares encontró Cong et al., (2017)⁽¹⁸⁾ donde los neonatos alimentados con LM (LME + FPP) adquirieron la mayor abundancia de *Bifidobacteriales* durante los primeros 30 días de vida. Asimismo, Gregory et al.⁽¹⁹⁾, obtuvo mayor abundancia de *Enterobacteriales* y *Bifidobacteriales* en neonatos mayores de tres semanas postnatales que tomaron FPP.

Así mismo, Gregory sugiere que la EG (o la madurez intestinal) tuvo tanta influencia sobre la diversidad del microbioma como cualquier régimen dietético⁽¹⁹⁾. Del mismo modo, Penders asoció el uso de antibióticos con una disminución del número de *Bifidobacterium* y *Bacteroides*⁽⁸⁾, pudiéndose atribuir también en este estudio, porque los neonatos del grupo LH estuvieron más expuestos al uso de antibióticos (11,09 días en promedio) que los del grupo LM (3,92 días en promedio). Por último, Zhou et al.,⁽²¹⁾ menciona que *Escherichia / Shigella* mostró un patrón creciente antes del inicio de la NEC, lo que puede llevarnos a inferir que los neonatos alimentados con fórmula están más expuestos a NEC como se ha sugerido antes⁽⁶⁾.

Finalmente, no se observaron cambios estadísticamente significativos en el desarrollo de todos los géneros estudiados desde la primera muestra de meconio (<5 días) a la segunda de heces a los 30 días (±10) para ninguno de los dos grupos de alimentación. A diferencia de Drell et al.⁽¹⁰⁾ que encontró en su estudio que la prevalencia y abundancia de *Escherichia* aumentó significativamente (P = 0,04 y P < 0,01, respectivamente) entre una semana y un mes de edad.

Siendo el aumento de la prevalencia de 17% a 41%, valores que presentan una similitud al de este estudio donde la prevalencia aumentó de 17% a 65%. También encontró que la abundancia de *Staphylococcaceae* (el género más abundante perteneciente a esta familia fue *Staphylococcus*) disminuyó significativamente ($P < 0,001$), a diferencia de este estudio; donde la abundancia de este género también disminuyó, pero no se muestra significativo, pudiendo estar relacionado con la población de estudio ($n=50$) comparado con la de este estudio ($n=23$), que además estuvo subdividida en grupos de estudio (LH y LM).

Por otro lado, se pudo observar una tendencia diferente en la MI de acuerdo al tipo de alimentación, los del grupo de LH aumentaron la abundancia (UFC) de *Lactococcus* y *Clostridium* mientras que *Lactobacillus* disminuyeron al contrario del grupo LM, donde aumentó el número de UFC de *Lactobacillus* y disminuyó *Lactococcus* y *Clostridium*. Similar a lo reportado por Gregory⁽¹⁹⁾, donde los grupos LME y LHP tuvieron aumento más rápido de Clostridiales en comparación con el grupo FPP; sugiriendo una interacción dinámica entre el hospedador y la selección dietética de miembros específicos del microbioma que se ve alterado por la alimentación.

Los resultados indican que el tipo de alimentación tuvo un efecto significativo sobre los conteos bacterianos y la composición de la microbiota fecal, siendo la *E. coli* la especie más prevalente, adquiriendo una menor abundancia en los niños alimentados con LH que los alimentados con LM. En general, el análisis del meconio y las heces de los bebés prematuros revelaron baja diversidad de géneros y alta variabilidad interindividual. Asimismo, la identificación y caracterización de estos organismos y su interacción con el huésped deberían conducir a nuevas investigaciones que amplíen el efecto del tipo de alimentación sobre la MI y nuevas terapias que ayuden a disminuir los patógenos asociados con la sepsis y la NEC que lleve a una homeostasis de la MI.

Los neonatos alimentados con leche humana tuvieron una microbiota intestinal con un menor desarrollo de bacterias entéricas, como la *Escherichia Coli* ($p=0,05$). Por tanto, hay una tendencia diferente en la microbiota intestinal de acuerdo con el tipo de alimentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Organización Mundial de la Salud (2018) [Internet]. Nacimientos prematuros. 2018 [citado el 10 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
- Día mundial del nacimiento prematuro [Internet]. [citado el 10 de marzo 2022]. Disponible en: https://www.who.int/pmnch/media/events/2014/wpd_release_es.pdf
- Belkaid Y, Hand TW. Role of the Microbiota in Immunity and Inflammation. *Cell*. 2014;157(1):121-41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011
- Parra-Llorca A, Gormaz M, Alcántara C, Cernada M, Nuñez-Ramiro A, Vento, Maximo MD P, et al. Preterm Gut Microbiome Depending on Feeding Type: Significance of Donor Human Milk. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9:1-13. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01376
- Maffei D, Schanler RJ. Human milk is the feeding strategy to prevent necrotizing enterocolitis! *Seminars in Perinatology*. 2017 Feb 1;41(1):36-40. DOI: 10.1053/j.semperi.2016.09.016
- Cristofalo EA, Schanler RJ, Blanco CL, Sullivan S, Trawoeger R, Kiechl-Kohlendorfer U, et al. Randomized trial of exclusive human milk versus preterm formula diets in extremely premature infants. *Journal of Pediatrics*. 2013;163(6):1592-1595.e1. DOI: 10.1016/j.jpeds.2013.07.011
- Walker W-A. Initial intestinal colonization in the human infant and immune homeostasis. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2013;63(SUPPL.2):8-15. DOI: 10.1159/000354907
- Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy. *Pediatrics*. 2006;118(2):511-21. DOI: 10.1542/peds.2005-2824
- Moles L, Gómez M, Heilig H, Bustos G, Fuentes S, Vos W de, et al. Bacterial Diversity in Meconium of Preterm Neonates and Evolution of Their Fecal Microbiota during the First Month of Life. *Plos One*. 2013;8(6):1-13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066986>
- Drell T, Lutsar I, Štšepetova J, Parm Ü, Metsvaht T, Ilmoja ML, et al. The development of gut microbiota in critically ill extremely low birth weight infants assessed with 16S rRNA gene based sequencing. *Gut Microbes*. 2014;5(3):37-41. doi: 10.4161/gmic.28849
- Adlerberth I, Lindberg E, Åberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, et al. Reduced enterobacterial and increased staphylococcal colonization of the infantile bowel: An effect of hygienic lifestyle? *Pediatric Research*. 2006;59(1):96-101. DOI: 10.1203/01.pdr.0000191137.12774.b2
- Itani T, Ayoub C, Melki I, Rousseau C. Anaerobe Establishment and development of the intestinal microbiota of preterm infants in a Lebanese tertiary hospital. *Anaerobe*. 2017;43:4-14. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.11.001>
- Gosalbes MJ, Llop S, Vallès Y, Moya A, Ballester F, Francino MP. Meconium microbiota types dominated by lactic acid or enteric bacteria are differentially associated with maternal eczema and respiratory problems in infants. *Clinical and Experimental Allergy*. 2013;43(2):198-211. DOI: 10.1111/cea.12063
- Jiménez E, Delgado S, Maldonado A, Arroyo R, Albújar M, García N, et al. *Staphylococcus epidermidis*: A differential trait of the fecal microbiota of breast-fed infants. *BMC Microbiology* [internet]. 2008 [citado el 10 de marzo 2022];8(143):1-11. Disponible: <https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2180-8-143>
- Moles L. Adquisición y modulación de la microbiota gastrointestinal de niños prematuros [Internet]. Universidad Complutense de Madrid; 2015. [citado el 10 de marzo 2022]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/34294/>
- Jacquot A, Neveu D, Aujoulat F, Mercier G, Jumas-bilak E, Picaud J. Dynamics and Clinical Evolution of Bacterial Gut Microflora in Extremely Premature Patients. *The Journal of Pediatrics*. 2011;158(3):390-6. DOI: 10.1016/j.jpeds.2010.09.007
- Grzeskowiak L, Collado MC, Mangani C, Maleta K, Laitinen K, Ashorn P, et al. Distinct Gut microbiota in southeastern African and northern European infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2012;54(6):812-6. DOI: 10.1097/MPG.0b013e318249039c
- Cong X, Genomics S, Judge M, Xu W, Diallo A, Janton S, et al. Influence of Infant Feeding Type on Gut Microbiome Development in Hospitalized Preterm Infants. *Nurs Res*. 2017;66(2):123-33. DOI: 10.1097/NNR.0000000000000208
- Gregory KE, Samuel BS, Houghteling P, Shan G, Ausubel FM, Sadreyev RI, et al. Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants. *Microbiome*. 2016;4(1):68. DOI 10.1186/s40168-016-0214-x
- Zhou Y, Shan G, Sodergren E, Weinstock G, Walker WA, Gregory KE. Longitudinal analysis of the premature infant intestinal microbiome prior to necrotizing enterocolitis: A case-control study. *PLoS ONE*. 2015;10(3):1-16. DOI:10.1371/journal.pone.0118632.