

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA**



**“Microbiota intestinal en lactantes prematuros que reciben leche materna
o alimentación mixta”**

POR

DRA. SANDRA GABRIELA SÁNCHEZ GONZÁLEZ

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN MEDICINA**

JULIO 2024

**MICROBIOTA INTESTINAL EN LACTANTES
PREMATUROS QUE RECIBEN LECHE MATERNA O
ALIMENTACIÓN MIXTA**

DEDICATORIA

A mis padres, que me han enseñado con su ejemplo la importancia de afrontar las dificultades con perseverancia y empeño siendo siempre mi apoyo y mi inspiración.

A mi esposo, por estar a mi lado desde el primer día que inicié este proyecto y brindarme su apoyo, comprensión y cariño.

A mi hijo, lo mejor que me ha pasado, su nacimiento coincidió con la finalización de este trabajo y me motivó a dar ese último esfuerzo que necesitaba para poder terminarlo.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I Resumen.....	6
Capítulo II Marco teórico.....	8
Capítulo III Objetivos e hipótesis.....	20
Capítulo IV Material y métodos.....	21
Capítulo V Resultados.....	32
Capítulo VI Discusión.....	35
Capítulo VII Conclusión.....	41
Capítulo VIII Bibliografía.....	42
Capítulo IX Anexos.....	50

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características clínicas y perinatales de 40 recién nacidos prematuros.....	50
Tabla 2. Comparación de abundancias relativas de clases y filos entre las muestras inicial y final.....	52
Tabla 3. Estadísticas de la diversidad alfa analizando el filo.....	54

Capítulo I. Resumen

Introducción: El nacimiento prematuro es la principal causa de mortalidad en los recién nacidos, y los bebés con muy bajo peso al nacer suelen experimentar varias complicaciones. La leche materna se considera el estándar de oro de la nutrición, especialmente para los bebés prematuros con colonización intestinal retardada, porque contiene microorganismos beneficiosos, como los lactobacilos y las bifidobacterias.

Objetivo: Analizar la microbiota intestinal de lactantes prematuros alimentados con leche materna con un peso al nacer igual o inferior a 1.500 g.

Material y método: Se realizó un estudio observacional en recién nacidos prematuros con hasta 36.6 semanas de gestación y peso al nacer de 1500 g o menos, en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de Monterrey, Nuevo León, México. Un total de 40 recién nacidos prematuros se clasificaron en grupos de alimentación con leche materna (LM) y de alimentación mixta (MF) (21 en el grupo de LM y 19 en el grupo de MF), desde octubre de 2017 hasta junio de 2019. Se recolectaron muestras fecales antes de ser introducidos a cualquier tipo de alimentación. Una vez que se logró la alimentación enteral completa, se analizó la composición de la microbiota intestinal mediante la secuenciación del gen 16S rRNA. Las variables numéricas se compararon mediante la prueba t de Student o la prueba U de Mann-Whitney para variables no paramétricas. También se calcularon

dominancia, uniformidad, equitabilidad, el índice de Margalef, alfa de Fisher, índice Chao-1 e índice de diversidad de Shannon.

Resultados: No se observaron diferencias significativas a nivel de género entre los grupos. La comparación de clases indicó recuentos más altos de Alphaproteobacteria y Betaproteobacteria en la muestra inicial en comparación con la final del grupo BM ($P < 0,011$). Además, se detectaron recuentos más altos de gammaproteobacterias en la muestra final que en la inicial ($P = 0,040$). Según el índice de Margalef, alfa de Fisher y el índice Chao-1, se observó una disminución en la riqueza de especies desde la muestra inicial hasta la final, independientemente del tipo de alimentación ($P < 0,050$). Los cuatro filos predominantes fueron Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes y Proteobacteria, siendo Proteobacteria la más abundante. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre las muestras inicial y final a nivel de filo.

Conclusiones: Nuestro estudio mostró que la lactancia materna se asocia con una disminución de alfavroteobacterias y betaproteobacterias y un aumento de gammaproteobacterias, lo que contribuye a la literatura sobre la estructura de la microbiota intestinal de los prematuros con muy bajo peso al nacer.

Palabras claves:

Microbiota intestinal, leche materna, prematuro, Proteobacteria, 16S rRNA.

Capítulo II. Marco teórico.

1. Antecedentes

Se conoce como prematuro al producto de edad gestacional menor de 37 semanas de gestación y con peso al nacer menor de 2 mil 500 gramos. ¹

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año nacen en el mundo 15 millones de prematuros. De los cuales 1.1 millones mueren cada año debido a complicaciones en el parto. ²

El nacimiento pretérmino ocasiona una importante morbimortalidad infantil a nivel mundial; se coloca como la primera causa de mortalidad en los recién nacidos. Las principales razones de ingreso a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) en el prematuro son: membrana hialina, enfermedad pulmonar crónica, asfixia, sepsis, aspiración de líquido meconial, apnea, malformaciones (atresia intestinal y defectos de pared abdominal) cardiopatías y enterocolitis necrotizante. Más de las tres cuartas partes de los bebés pretérmino pueden tener una evolución adecuada si reciben cuidados sencillos, eficaces y poco costosos. ²

En Estados Unidos de América, 1 de cada 8 recién nacidos es prematuro, y aquellos de muy bajo peso al nacer experimentan complicaciones neurológicas, gastrointestinales y/o respiratorias. En México, 250 mil recién nacidos se adelantan a la fecha programada para el nacimiento, de acuerdo a cifras de la OMS. La tasa de nacimiento de prematuros es de 7.3 por cada 100. ³ En el año 2014 en el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” nacieron aproximadamente 7,000 niños,

de los cuales alrededor de 600 fueron prematuros y de ellos 100 tuvieron un peso menor a 1500 gramos.

Durante el último trimestre del embarazo el feto está expuesto continuamente a la protección de factores como citocinas y anticuerpos que obtiene al tragar líquido amniótico, el cual contiene altas cantidades de ellos. Los lactantes que nacen antes de tiempo experimentan una interrupción súbita de la exposición de su orofaringe y tracto gastrointestinal a estos factores protectores que estimulan el sistema inmunológico. Los niveles de inmunoglobulina G en el recién nacido están influenciados básicamente por el paso transplacentario de inmunoglobulina G materna. El aporte completo se logra por transporte activo a través de la placenta e inicia aproximadamente a la semana 32 de gestación.⁴⁻⁶ Por lo tanto, la supervivencia de estos niños está asociada a complicaciones a mediano y largo plazo, incluyendo septicemia, enterocolitis necrotizante, hemorragia intraventricular y secuelas del desarrollo neurológico. El bajo peso al nacer es un factor que predispone al desarrollo de diversas morbilidades, como la enterocolitis necrotizante, la hemorragia intraventricular, infección nosocomial, entre otras, por lo que muchos lactantes requieren cuidados intensivos, recibir antibioticoterapia y líquidos intravenosos por periodos prolongados.

La inestabilidad clínica normalmente impide la alimentación enteral en los primeros días de vida de los recién nacidos de bajo peso.⁷

Es de suma importancia que en la etapa neonatal se proporcione a los niños una alimentación adecuada que permita su crecimiento y desarrollo normal. Los recién

nacidos pretérmino con bajo peso al nacer requieren una alimentación para corregir su deficiencia nutricional, ya que tienen pocas reservas nutrimentales.⁸

La nutrición enteral se prefiere a la nutrición parenteral total ya que evita las complicaciones relacionadas con la cateterización vascular. El objetivo de la alimentación en lactantes de bajo peso al nacer es alcanzar la vía enteral total en el menor tiempo posible, manteniendo al mismo tiempo el crecimiento y la nutrición óptima.⁹ En los neonatos pretérmino es un reto administrar una alimentación enteral, debido a la inmadurez fisiológica del sistema gastrointestinal. A las 24 semanas, el tubo digestivo del neonato está estructuralmente completo, sin embargo, su motilidad aún está en desarrollo, la peristalsis aún no está bien regulada, por lo que a las 32 semanas es inmadura. Además, aún carecen de la habilidad para coordinar la deglución-succión, por lo que están en riesgo de tener manifestaciones de intolerancia alimentaria y eventualmente, enterocolitis.^{8, 10}

La nutrición enteral mínima es un término que refleja el intento de facilitar la maduración estructural, funcional y microbiana de un intestino inmaduro mediante la administración de pequeñas cantidades de leche, además de la nutrición parenteral suministrada rutinariamente.¹¹ Se ha observado que los prematuros que reciben nutrición enteral mínima desarrollan un mejor tránsito intestinal, que es más rápido y con patrones de motilidad intestinal normales en menor tiempo, lo que se traduce en mejor tolerancia digestiva y un menor tiempo para alcanzar la nutrición enteral completa.¹¹

Además, muchos de los biofactores protectores presentes en el líquido amniótico también se encuentran en la leche materna, conformando un método natural que promueve el adecuado desarrollo y crecimiento del bebé.¹² La leche materna del

recién nacido pretérmino en las 4 primeras semanas posnatales es más rica en nutrientes y está más cerca de aportar los requerimientos de las primeras semanas que la leche materna “madura”. ¹¹

La alimentación con leche materna, especialmente de manera exclusiva en los primeros 14 a 28 días de vida, reduce las complicaciones neonatales, mejora la progresión a alimentación enteral y permite una fuerte estimulación inmune. ¹³

Antecedentes Directos:

La leche materna es la alimentación ideal para el recién nacido debido a que contiene diferentes factores inmunes además del aporte nutricional necesario para ellos. Sin embargo, el comienzo de la lactancia materna directa antes de las 32 semanas no es una práctica común en muchas UCIN. ¹⁴⁻¹⁶

El calostro protege contra infecciones y alergias al transferir inmunidad pasiva al recién nacido por absorción intestinal de inmunoglobulinas. ¹²

Entre los beneficios que la leche materna proporciona a esta población altamente vulnerable, se incluyen la disminución de las tasas de sepsis de aparición tardía, de retinopatía del prematuro y de enterocolitis necrotizante en comparación con los bebés prematuros que reciben fórmula. ¹³

Se cree que la colonización microbiana desempeña un papel importante en la disminución de enterocolitis necrotizante. La alimentación con seno materno es uno de muchos factores que influyen en la composición de la microbiota intestinal en recién nacidos a término. ¹⁷⁻¹⁹ El recién nacido prematuro alimentado con leche

materna presenta menor retención gástrica y un vaciamiento gástrico más rápido que los alimentados con fórmula para prematuro. ¹¹

La leche materna proporciona varios compuestos bioactivos que influyen en el crecimiento, la modulación y maduración del sistema inmune, la protección en contra de patógenos y toxinas y, por último, el establecimiento de la microbiota intestinal.

Esto se debe a que la leche materna contiene microorganismos benéficos tales como los lactobacilos y bifidobacterias y es reconocido que la microbiota intestinal también tiene un papel crucial en el desarrollo del sistema inmune. ²⁰⁻²²

La microbiota de los recién nacidos prematuros es diferente de la de los lactantes nacidos a término y se caracteriza por un retraso en la colonización de los intestinos y una escasez en las especies bacterianas, en contraste con la microbiota de múltiples cepas aeróbicas y anaeróbicas de bebés nacidos a término. ²³

Diversos factores relacionados tanto al recién nacido como a su entorno influyen en la composición de la microbiota intestinal. Una manera de minimizar alteraciones en ella es por medio de la leche materna. ²⁴

La colonización intestinal afecta el sistema inmune neonatal, especialmente en recién nacidos con una respuesta inmadura que no cuentan con el apoyo de los componentes bioactivos de la leche materna. ²⁴ El recién nacido prematuro se caracteriza por tener un retraso en la colonización que está aún más comprometida por la infusión de nutrición parenteral total en ellos, lo que resulta en un mayor riesgo de invasión por bacterias patógenas. Además, el intestino prematuro es más susceptible a la invasión microbiana que el intestino de recién nacidos a término. ²⁵

La colonización bacteriana y la respuesta inmune inadecuadas predisponen a la enterocolitis necrotizante, una enfermedad gastrointestinal grave de los recién nacidos prematuros. ²⁵ Los análisis de heces infantiles muestran que la densidad y distribución de especies bacterianas bajas o con sobre crecimiento bacteriano son comúnmente asociados a esta enfermedad. ²⁶

En la mayoría de los casos de niños prematuros no es posible que la madre los alimente con seno materno ya que los recién nacidos se encuentran hospitalizados en estado clínicamente inestable. Por esta razón, se han realizado algunos estudios clínicos en los que el calostro se administra en cantidades tan pequeñas que el niño no necesita tragar. ^{13,27}

El calostro interactúa con el tejido linfoide en la orofaringe y es administrado mediante aplicadores solamente en la mucosa de las mejillas para su absorción durante los primeros días de vida. Estudios han demostrado que esta técnica es segura, factible y bien tolerada incluso por los prematuros más pequeños, sin embargo, se requiere de trabajos más extensos que reproduzcan estos efectos para comprobar su eficacia. Dicho procedimiento posee bajo riesgo y ofrece un alto beneficio para los recién nacidos vulnerables. ^{13,27}

Así mismo, se ha sugerido que los oligosacáridos de la leche materna interfieren con la adhesión de las bacterias en la cavidad oral, lo que se traduce en una reducción en el riesgo de otitis media e infecciones del tracto respiratorio inferior. De igual manera, la inmunoglobulina A secretora es un anticuerpo que inhibe la

unión de patógenos a la barrera epitelial de la mucosa respiratoria e intestinal, razones por lo cual la administración orofaríngea del calostro a recién nacidos pretérmino puede ser considerada un complemento. ²⁸

Las bifidobacterias y lactobacilos son los principales microorganismos que se observaron en la microbiota de las heces de los bebés alimentados con leche materna.²⁰

Las bifidobacterias comprenden las bacterias intestinales predominantes para los primeros 3 a 6 días de vida en los bebés a término alimentados con leche materna, representan hasta el 90% del recuento total de bacterias de la microbiota intestinal. Los recién nacidos alimentados con fórmula tienen aproximadamente 20% menos bifidobacterias en el intestino. ²⁹

La leche materna contiene cantidades significativas de bifidobacterias que deben ser consideradas como una posible fuente importante de bacterias en el establecimiento de la microbiota intestinal del recién nacido. ³⁰ El tracto gastrointestinal neonatal experimenta cambios estructurales y funcionales que son influenciados por la dieta. ³¹

En los últimos 10 años, el uso de técnicas de microbiología molecular ha contribuido al conocimiento sobre el desarrollo de la microbiota intestinal a un nivel que anteriormente era imposible de lograr con técnicas de cultivo clásicas, cuando sólo el 25% de las bacterias de este ecosistema se han cultivado hasta la fecha. Nuestro conocimiento del desarrollo de la microbiota se ha beneficiado mucho de estas últimas tecnologías. ³²

Pocos estudios han empleado análisis independientes a los cultivos fecales para investigar la diversidad bacteriana en las heces de recién nacidos.

La metagenómica estudia el conjunto de genomas de los microorganismos de un determinado entorno, directamente a través de muestras de ese hábitat, sin necesidad de aislarlos y cultivarlos. El uso de esta técnica combinada con las nuevas tecnologías de secuenciación masiva ha permitido un gran avance en el estudio de la ecología y la diversidad de las comunidades microbianas de prácticamente cualquier ambiente. Obtiene secuencias del genoma de diferentes microorganismos incluidos los que no son cultivables.³³

La microbiota actualmente está siendo descrita en términos de riqueza y diversidad, composición y funcionalidad.³⁴⁻³⁶ Las técnicas actuales de análisis de microbiomas se basan en la secuenciación del gen 16 S rRNA bacteriano, identificándolo filogenéticamente.³⁴ El término Filo se utiliza en la taxonomía o clasificación tanto de animales como de los microorganismos, eucariotas y procariotas, bacterias y arqueas. Es la categoría inferior al Reino y superior de la Clase. Todos los miembros de un mismo filo comparten ciertas características, como un plan general de organización y mayor similitud entre sus ADN que con especies pertenecientes a otros filos. El Reino Bacteria comprende unos 30 Filos.^{36, 37} De acuerdo a investigaciones disponibles, la microbiota intestinal "normal" o "sana" se compone de los Filos de bacterias: Firmicutes, que incluye a los Lactobacilos, y Bacteroidetes (> 90 %), seguido de Actinobacteria y Verrucomicrobia.³⁵⁻³⁷

Estos estudios a nivel molecular, facilitados por las técnicas de análisis de metagenómica están transformando nuestra comprensión de cómo el microbioma intestinal modula morfológica, gastrointestinal e inmunológicamente el desarrollo y la biología del recién nacido en general. En el nacimiento, el tracto intestinal del bebé es funcionalmente inmaduro y estéril. En consecuencia, el período neonatal es una fase crítica, tanto para el desarrollo digestivo como para la colonización intestinal.³¹

El tracto gastrointestinal humano alberga una comunidad microbiana muy compleja. A pesar de la alta variabilidad entre individuos, los estudios recientes de metagenómica han identificado diferentes enterotipos de microbiota en los seres humanos, y las alteraciones de ellas relacionadas con enfermedades. Sin embargo, la mayoría de los estudios de metagenómica se han centrado en las poblaciones adultas, los informes en recién nacidos son escasos. La colonización microbiana del tracto digestivo comienza en el nacimiento y proporciona señales esenciales para el desarrollo inmune y la maduración intestinal. Los primeros estudios de metagenómica en el desarrollo de la microbiota intestinal se enfocan sobre todo en los bebés nacidos a término y no en la relación entre la microbiota y la enterocolitis necrotizante en los recién nacidos prematuros.³⁸

El análisis de la microbiota se llevará a cabo empleando metagenómica, la cual es una técnica que permite el análisis global de la microbiota a nivel de Filo. En este proyecto no se realizará la búsqueda de patógenos específicos, sino el cambio en la composición de la microbiota.

Cabe mencionar que la exposición por vía orofaríngea de los factores contenidos en la leche materna no ocurren en el lactante hasta que puede alimentarse por vía oral. El retraso o la falta de exposición a la leche de la madre tras el nacimiento para los neonatos prematuros pueden contribuir a morbilidades.^{12,13}

Cuando es administrado oralmente, las citocinas del calostro interactúan con el tejido linfoide en la cavidad bucal, absorbiendo los factores inmunológicos mediante la mucosa oral estimulando el sistema inmune.

2. Planteamiento del problema y justificación

El estudio es importante debido a la considerable cantidad de recién nacidos pretérmino que hay en nuestra población y que muestran complicaciones que llegan incluso a poner en riesgo su vida. En los últimos años se ha registrado un aumento de niños prematuros y casi 40 mil bebés requerirán cuidados intensivos neonatales. En comparación con las múltiples condiciones aeróbicas y anaeróbicas de la microbiota de los bebés nacidos a término, la microbiota de los bebés prematuros se caracteriza por presentar un retraso en la colonización intestinal y una disminución de las especies bacterianas³⁹.

Las bifidobacterias son las bacterias intestinales predominantes durante los primeros tres a seis días de vida en los lactantes a término alimentados con leche materna⁴⁰. Estas bacterias representan casi el 90% del recuento bacteriano total de la microbiota intestinal. Los intestinos de los recién nacidos alimentados con fórmula contienen aproximadamente un 20 % menos de bifidobacterias que los de

los recién nacidos alimentados con leche materna y un mayor número de Bacteroides, Clostridium y Enterobacteriaceae.

ORIGINALIDAD

Se realizó una revisión de la literatura en las bases de datos Medline/PubMed, Wiley Online Library, Clinical Key en inglés utilizando los términos “colostrum”, “neonate”, “preterm”, “breast milk”, “gut bacterial colonization”, “intestinal flora”, “microbiota” “metagenomics” sin encontrar información que correlacione el uso de calostro por absorción en mucosa oral en recién nacidos pretérmino con cambios en la habilidad de colonizar el intestino del neonato o modificar su microbiota. Actualmente no existe un estudio en México en el que se documenten los cambios en la microbiota intestinal en pacientes pretérmino menores a 1500 gramos con y sin administración de leche materna.

CONTRIBUCIÓN DEL PROYECTO

1. Contribuye a mejorar la práctica clínica de los médicos neonatólogos en el abordaje de pacientes prematuros y disminuir su morbilidad.
2. Descripción de la microbiota intestinal en prematuros de muy bajo peso alimentados exclusivamente con leche materna y su comparación con los prematuros con alimentación mixta.
3. Nos permitirá conocer la prevalencia de enterocolitis necrotizante, sepsis y otras morbilidades en los prematuros de muy bajo peso al nacer.

4. Describir la mortalidad asociada a la prematurez.

Capítulo III. Objetivos e hipótesis

Objetivo principal

1. Analizar la microbiota intestinal de lactantes prematuros alimentados con leche materna con un peso al nacer igual o inferior a 1.500 g.

Objetivos específicos

1. Describir las características clínicas de los pacientes prematuros.
2. Describir la prevalencia específica de cada tipo de morbilidad en los pacientes prematuros.
3. Describir la mortalidad asociada a la prematurez.

Hipótesis

Hipótesis alterna: En el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”, la leche materna administrada por vía oral desde el nacimiento modifica favorablemente la microbiota intestinal en recién nacidos prematuros menores de 1500 gramos de peso.

Hipótesis nula: La leche materna administrada por vía oral desde el nacimiento no modifica favorablemente la microbiota intestinal en recién nacidos prematuros menores de 1500 gramos de peso.

Capítulo IV. Material y métodos

A) Diseño metodológico del estudio:

Estudio observacional, longitudinal, comparativo y prospectivo.

B) Descripción del diseño:

Se realizó un estudio observacional, longitudinal, comparativo y prospectivo en recién nacidos prematuros con hasta 36,6 semanas de gestación o menos al momento del nacimiento y un peso al nacer igual o inferior a 1500 g⁴¹, nacidos en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González en Monterrey, noreste de México. Se incluyeron lactantes prematuros durante el período de octubre de 2017 a junio de 2019. Se excluyeron los lactantes con anomalías gastrointestinales congénitas. También se excluyeron los lactantes que fueron trasladados a otra institución o que tenían expedientes incompletos. El número de sujetos en cada etapa del estudio se describió mediante un diagrama de flujo (Figura 1).

Se alentó a las madres de bebés en la unidad de cuidados intensivos neonatales (UCIN) a que proporcionaran leche materna a sus bebés prematuros. El investigador o personal calificado se reunió con cada madre que participaría en el estudio y explicó el protocolo estandarizado para la extracción de leche materna. Las madres recibieron instrucciones para extraer manualmente aproximadamente 10.0 ml de leche tan pronto como fue posible después del parto. Dentro de las

primeras 24 horas del nacimiento del prematuro se recolectó leche materna, la cual se almacenó en la UCIN en un refrigerador exclusivo para muestras de leche materna. Se capacitó al personal de salud para el almacenamiento y administración de leche materna.⁴²

Generalmente se prefería la lactancia materna y se utilizaba fórmula (fórmula NAN® para bebés prematuros, compuesta por: 3,4 g de proteínas/100 kcal, DHA-ARA, triglicéridos de cadena media, suero de leche, leche desnatada en polvo, vitaminas, lactosa y lecitina de soja). en caso de que la cantidad de leche materna fuera insuficiente para cubrir las necesidades de los lactantes. Tan pronto como se pudo iniciar una estimulación enteral mínima (decisión del neonatólogo tratante), se inició la alimentación con un estímulo mínimo (0,5 mL/kg/h por día durante tres días) y luego se aumentó a 1 mL/kg/h por día hasta que se logró alimentación enteral completa (150 ml/kg/d) en todos los recién nacidos clínicamente estables que pesaban menos de 1 kg. Los recién nacidos con peso superior a 1 kg se iniciaron con alimentación enteral (1 ml/kg/h por día) hasta alcanzar 150 ml/kg/d. No se utilizó leche de donante humana ni fortificantes de leche, y no hubo ningún banco de leche humana disponible en nuestro hospital durante el período de estudio. Se formaron dos grupos independientes en función de la disponibilidad de leche materna. Un grupo fue alimentado exclusivamente con la leche materna de su madre (BM) y el otro grupo fue alimentado con una dieta mixta que incluía leche materna y fórmula para prematuros (MF). Se incluyeron un total de 40 recién nacidos prematuros, 21 en el grupo BM y 19 en el grupo MF.

El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León (clave de registro:

PE16-00009). Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres de todos los recién nacidos.

Recopilación de muestras y datos.

Antes de cualquier intervención (administración de leche materna o alimentación mixta), se recogió una muestra de la primera evacuación intestinal de cada bebé para analizar el microbioma intestinal. Todos los bebés prematuros fueron seguidos durante su estancia en la UCIN y se obtuvo una segunda muestra de heces para su análisis después de lograr la alimentación enteral completa (definida como 150 ml/kg/día) (Tabla 1). Personal de enfermería capacitado de la UCIN obtuvieron muestras de heces utilizando un aplicador estéril y luego las colocaron en un recipiente estéril. Posteriormente, todas las muestras fueron congeladas a -70°C y almacenadas para su posterior análisis. A cada muestra se le asignó un número de identificación único. Para realizar el análisis de la microbiota intestinal por metagenómica se obtuvo el ADN total de cada una de las muestras de heces. Se llevó a cabo una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para producir millones de amplicones del gen 16S rRNA. Estos amplicones fueron sometidos a amplificación masiva generando así las secuencias de nucleótidos necesarios para análisis microbiano. Los datos moleculares (secuencias de genes de 16S rRNA) se procesaron mediante bioinformática avanzada para obtener conocimiento sobre el efecto de la intervención de la alimentación con leche materna en la microbiota fecal en los recién nacidos. Se empleó un enfoque predictivo para determinar el perfil funcional de las comunidades microbianas

fecales, lo cual añadió información valiosa al papel de la microbiota intestinal en la salud intestinal.

Además, se recogieron las características demográficas y clínicas de los recién nacidos, incluyendo el tipo de parto, tipo de alimentación, sexo, semanas de gestación, peso y morbilidades en la UCIN (Tabla 1).

C) Resguardo de muestras:

Antes de cualquier intervención (administración de leche materna o alimentación mixta), se recogió una muestra de la primera evacuación intestinal de cada bebé para analizar el microbioma intestinal. Todos los bebés prematuros fueron seguidos durante su estancia en la UCIN y se obtuvo una segunda muestra de heces para su análisis después de lograr la alimentación enteral completa (definida como 150 ml/kg/día) (Tabla 1). Enfermeras capacitadas de la UCIN obtuvieron las muestras de heces utilizando un aplicador estéril y luego las colocaron en un recipiente estéril. Posteriormente, todas las muestras biológicas fueron congeladas a -70° C y almacenadas para su posterior análisis. A cada muestra se le asignó un número de identificación único.

D) Tipo de estudio:

Estudio observacional.

E) Población de estudio:

Recién nacidos prematuros con hasta 36.6 semanas de gestación o menos y con un peso menor a 1500 g al momento del nacimiento, del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en Monterrey, Nuevo León, noreste de México en el periodo comprendido entre octubre 2017 a junio 2019.

RECOLECCIÓN DE DATOS

El presente estudio se llevó a cabo en el transcurso de 5 años, con recolección de datos recolectada a través de expedientes clínicos hasta el 31 de diciembre del 2021, con previo consentimiento informado verbal por parte de ambos padres/tutores.

1.- Características de la población

A. Criterios de inclusión:

Recién nacidos prematuros con hasta 36.6 semanas de gestación o menos al momento del nacimiento y peso al nacer de 1500 g o menos, nacidos en el Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González de Monterrey, noreste de México.

B. Criterios de exclusión:

Lactantes con anomalías gastrointestinales congénitas. Infantes que fueron trasladados a otra institución o tenían expedientes incompletos.

C. Criterios de eliminación:

Pacientes pediátricos que no pudieran completar sus muestras.

D. Lugar de referencia y método de reclutamiento:

Se reclutaron pacientes del área de Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, Pediatría, del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

CONFIDENCIALIDAD

Para salvaguardar la confidencialidad de los sujetos participantes, se identificaron los sujetos con sus iniciales y número de participante. Toda la información obtenida en la investigación como datos personales, entre otros, se resguardó de manera segura, bajo llave, en las oficinas del Departamento de Pediatría del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en una carpeta de investigación a la cual únicamente tiene acceso el personal encargado de la investigación, y de acuerdo a las regulaciones podrá tener acceso autoridades sanitarias como la Secretaría de Salud y el Comité de Ética en Investigación y/o el Comité de Investigación de nuestra Institución.

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Utilizando una fórmula para prueba de hipótesis y diferencia de dos proporciones o con la proporción de un valor de referencia, con un valor $z\alpha$ de 1.96 con nivel de significancia del 95% para dos colas, y un valor $z\beta$ de 0.84 con una potencia de 80%, se obtuvo una muestra de 19 participantes por grupo.

$$n = \frac{(p_1q_1 + p_2q_2)(K)}{(p_1 - p_2)^2}$$

valor P1	0.95
valor Q1	0.05
valor P2	0.6
valor Q2	0.4
valor K	10.5

p1= Proporción esperada de la variable de interés en grupo 1.

p2= Proporción esperada de la variable de interés en grupo 2.

q1= 1-p1 (complementario, sujetos que no tienen la variable de estudio)

q2= 1-p2 (complementario, sujetos que no tienen la variable de estudio)

K= Constante K determinada por valores de $z\alpha$ y $z\beta$.

N=19 pacientes por grupo.

VARIABLES A ESTUDIAR

Características

Tipo de alimentación: Leche materna exclusiva o Alimentación Mixta

Género

Vía de nacimiento

Categoría de prematurez

Apgar a los 5 minutos

Semanas de edad gestacional

Peso al nacimiento

Talla al nacimiento

Días para alcanzar la alimentación enteral completa

Días de estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos

Sepsis tardía

Retinopatía

Enterocolitis necrotizante

Conducto arterioso permeable

Síndrome de dificultad respiratoria

Displasia broncopulmonar

Hemorragia intraventricular

Mortalidad

Filo de los microorganismos del microbioma

Clase de los microorganismos del microbioma

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis estadístico descriptivo para comparar grupos entre BM y MF. Las variables continuas se representan como medias \pm desviación estándar. Para las variables categóricas se utilizaron porcentajes y frecuencias. Las variables numéricas se compararon mediante la prueba t de Student para muestras independientes con distribución normal o mediante la prueba U de Mann-Whitney para variables no paramétricas. Todos los análisis se realizaron con IBM SPSS Statistics versión 20 (IBM Corp., Armonk, NY, Estados Unidos). Un valor de $p < 0.05$ se consideró como significativo.

La dominancia, la uniformidad, la equidad, el índice de Brillouin, el índice de Margalef, el alfa de Fisher, el índice de Berger-Parker, el índice Chao-1, el índice de Simpson, el índice de Menhinick y el índice de diversidad de Shannon se calcularon utilizando el software de estadística paleontológica PAST (versión 4.03) ⁴³.

Las comparaciones estadísticas para cada grupo de muestra se realizaron mediante comparaciones por pares de Kruskal-Wallis. La significación estadística se estableció en $P < 0,050$.

La estructura de la comunidad microbiana se analizó utilizando matrices de distancia UniFrac ponderadas. Se utilizaron gráficos de análisis de coordenadas principales para visualizar los datos en estas matrices, y se utilizó un análisis de similitudes por

pares (ANOSIM) para determinar las diferencias en las comunidades microbianas entre los grupos.

Capítulo V. Resultados

Características del paciente

Un total de 40 recién nacidos prematuros que pesaban menos de 1500 g completaron el seguimiento y fueron analizados y divididos en dos grupos: 21 en el grupo BM y 19 en el grupo MF. Todos los bebés eran hispanos y el 65% (26/40) eran varones. Todos los neonatos recibieron antibióticos (ampicilina y aminoglucósidos) durante la semana inicial mientras participaban en el estudio como parte de su tratamiento en la UCIN, sin embargo, no hubo uso de antibióticos antes del parto y las madres no presentaron rotura prematura de membranas. No se observaron diferencias significativas en las características demográficas entre los dos grupos. Además, no se observaron diferencias en las características clínicas de los lactantes entre los grupos (Tabla 1).

Distribución del microbioma

Después de una estricta selección de secuencias de calidad, se analizaron 3132039 lecturas y se agruparon 2940310 lecturas. Además, para el análisis final de microbiota se utilizaron 2937522 lecturas identificadas dentro de los dominios Bacteria y Archaea. Las lecturas medias por muestra fueron 36719. Para el análisis de diversidad alfa y beta, las muestras se enrarecieron en 18000 lecturas. Luego, los datos se evaluaron de forma multivariada para determinar las diferencias entre los grupos.

Los datos se han depositado en una base de datos de acceso público: Número de acceso de GenBank SRA: SRR17156517. BioProyecto: PRJNA786526 BioMuestra: SAMN23683919.

No se observaron diferencias significativas a nivel de género entre los grupos BM y MF (tanto en el momento inicial como en el final). Se construyó un dendrograma jerárquico dual de clasificación taxonómica para ver los datos de los géneros predominantes. Las muestras con poblaciones microbianas similares se agruparon matemáticamente y se utilizaron géneros (consorcio) para la agrupación. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos de BM y MF, dada la falta de agrupación entre ambos.

En el grupo BM, las comparaciones a nivel de clase indicaron recuentos más altos de *Alphaproteobacteria* y *Betaproteobacteria* en la muestra inicial en comparación con la final ($P < 0,011$) y recuentos más altos de *Gammaproteobacteria* en la muestra final que en la muestra inicial ($P = 0,040$) (Tabla 2). Los cuatro filos predominantes fueron *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*, siendo *Proteobacteria* la más abundante (Figura 2). No se observaron diferencias significativas entre las muestras inicial y final a nivel de filo (Tabla 2).

Diversidad alfa

Se comparó la diversidad de especies entre las muestras inicial y final de ambos grupos. Se observaron diferencias significativas en los índices de Margalef, alfa de Fisher y Chao-1 en el grupo BM. En cuanto a la uniformidad, también se observaron

diferencias significativas en el índice de Margalef, alfa de Fisher, Chao-1 y Menhinick en el grupo MF ($P < 0,050$) (Tabla 3).

Diversidad beta

La estructura de la comunidad microbiana se analizó utilizando matrices de distancia UniFrac ponderadas. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el conjunto filogenético en ninguno de los grupos. Además, no se observó ninguna diferencia significativa en los valores de ANOSIM R ($R = 0,007922601$, $P = 0,242$, valor $Q = 0,24$) entre las comunidades microbianas de los grupos BM y MF.

No hubo diferencias significativas en la estructura de la microbiota intestinal entre los dos grupos después de la alimentación.

Capítulo VI. Discusión

Aunque es bien sabido que la leche materna reduce la tasa de sepsis tardía y enterocolitis necrotizante ⁴⁴, y podríamos haber esperado que el grupo de BM tuviera esta importancia clínica en comparación con el grupo de MF, estas diferencias no se observaron en nuestro estudio posiblemente debido a que no se realizó un seguimiento a más largo plazo.

Analizamos la composición de la microbiota intestinal mediante la secuenciación del gen 16S rRNA en lactantes prematuros, comparando aquellos alimentados exclusivamente con BM y aquellos alimentados con MF. En el grupo BM, la comparación de clases indicó recuentos más altos de *Alphaproteobacteria* y *Betaproteobacteria* en la muestra inicial en comparación con la final y recuentos más altos de *Gammaproteobacteria* en la muestra final que en la muestra inicial. Las tres clases (*Alfaproteobacteria*, *Betaproteobacteria* y *Gammaproteobacteria*) pertenecen al filo *Proteobacteria*.

La comunidad microbiana intestinal de recién nacidos sanos generalmente comienza con la colonización de anaerobios facultativos, seguida del establecimiento de organismos anaeróbicos obligados, como *bifidobacterias* y *Bacteroidetes* ^{45, 46}. Sin embargo, la colonización intestinal se retrasa en los bebés prematuros y el microbioma es menos diverso, con menor abundancia de *bifidobacterias* y *Bacteroidetes* y mayor abundancia de *Proteobacterias*. Múltiples factores pueden influir en la colonización inmediata del tracto gastrointestinal,

especialmente el tipo de parto (vaginal o cesárea), y tal vez las semanas de gestación, lo que podría explicar las diferencias observadas en la abundancia relativa de clases y filos en los recién nacidos según el tipo de alimentación incluso antes de la intervención ⁴⁷⁻⁴⁹. La transmisión vertical de bacterias de madre a hijo es uno de los factores más importantes que influyen en la maduración de la microbiota. Diferentes estudios describen el impacto causado por el modo de entrega. El parto por cesárea tiene una gran influencia en la colonización temprana del intestino, que se caracteriza por el agotamiento de *Bacteroidetes*, a diferencia de los bebés nacidos por vía vaginal ⁵⁰.

La mayoría de las pacientes de nuestro estudio nacieron por cesárea por decisión del ginecólogo. Observamos resultados similares a los descritos en la literatura, con menos *Bacteroidetes* en los infantes que nacieron por cesárea.

En nuestro estudio, los cuatro filos predominantes fueron *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Firmicutes* y *Proteobacteria*, siendo *Proteobacteria* la más abundante. No se observaron diferencias significativas entre las muestras inicial y final a nivel de filo y ninguna de ellas sugirió una tendencia. Sin embargo, un tamaño de muestra más alto o un estudio a largo plazo pudiese haber reflejado una diferencia significativa.

Nuestros resultados no indicaron diferencias significativas entre los grupos dentro del filo *Proteobacteria*. Sin embargo, el análisis de clases específicas de este filo reveló una disminución en los recuentos de *alfaproteobacterias* y *betaproteobacterias* en bebés prematuros que reciben leche materna. Este

resultado es significativo porque se ha descrito que el retraso en la maduración de la microbiota intestinal junto con una composición bacteriana dominada por *proteobacterias* se correlaciona con la enterocolitis necrotizante y la sepsis de aparición tardía en bebés prematuros ^{51,52}.

Se observaron recuentos más altos de *bifidobacterias*, *Bacteroidetes* y *Clostridium* en el grupo de BM en comparación con los del grupo de MF. Sin embargo, las diferencias observadas no fueron estadísticamente significativas. Se ha descrito que las *bifidobacterias* se fortalecen en el microbioma intestinal de los bebés a término que reciben leche materna en comparación con la fórmula, lo que se cree que se debe al suministro de oligosacáridos de la leche humana. Embleton et al. también describieron una mayor abundancia relativa de *Bifidobacterium* en bebés prematuros alimentados con leche materna, aunque se describió en una UCIN donde también usaban probióticos ⁵³.

Se ha descrito que la presencia de mayores cantidades de *bifidobacterias* tiene beneficios en el intestino de los prematuros y se asocia con protección contra la sepsis de aparición tardía ⁵⁴. Además, se ha propuesto que las *bifidobacterias* producen acetato, que reduce el pH luminal y favorece la función de barrera intestinal ^{55,56}. Además, este acetato puede convertirse en butirato, que se considera una molécula antiinflamatoria ⁵⁷.

La combinación de *Bifidobacterias* con otros probióticos se ha asociado con beneficios para los bebés prematuros. Una revisión sistemática que incluyó 63 ensayos (15712 recién nacidos prematuros) mostró que la combinación de una o más especies de *Lactobacillus* y una o más *Bifidobacterium spp* tenía evidencia de

calidad moderada o alta de reducción de la mortalidad por todas las causas (OR: 0,56; IC del 95%: 0,39-0,80 ³².

En nuestro estudio, no se utilizó leche materna de donante ni enriquecedores de leche. Además, nuestros hallazgos difieren de un ensayo similar (Asbury et al ⁵⁸) que informó una menor diversidad microbiana y menor abundancia de Clostridium en bebés prematuros que también recibían una dieta exclusiva de leche materna. Sin embargo, estos bebés prematuros estaban recibiendo fortificantes a base de leche humana. La práctica clínica varía: algunas UCIN utilizan habitualmente fortificantes para la leche materna, mientras que otras nunca los utilizan. Los estudios sobre los beneficios del uso de fortificantes muestran que no existen datos de alta calidad sobre los resultados funcionales a largo plazo y la mayoría de los fortificantes utilizados son de origen bovino ⁵³.

La diversidad alfa es la diversidad media de especies en diferentes hábitats. Se considera un enfoque ubicuo y tiene varias definiciones dependiendo del supuesto de diversidad de especies ⁵⁹. Esto significa que se puede utilizar más de un índice de diversidad. En este estudio, utilizamos 11 índices de diversidad. Los índices de diversidad se dividen en términos generales en dos tipos: índices que evalúan la riqueza de especies (cuántos tipos hay) (por ejemplo, índice de Margalef, índice de Menhinick, índice Chao-1 y alfa de Fisher ⁶⁰) e índices que evalúan la uniformidad o dominancia de las especies (cómo se distribuyen los organismos individuales entre las especies) (por ejemplo, índice de diversidad de Shannon, índice de Brillouin, índice de Simpson y uniformidad) ⁶¹. Aquí, comparamos la diversidad alfa entre las muestras inicial y final y observamos una disminución en la riqueza de

especies desde la muestra inicial hasta la final independientemente del tipo de alimentación (según los resultados del índice de Margalef, el alfa de Fisher y el índice Chao-1). (Tabla 3). Aunque esperábamos un aumento en la riqueza de especies, observamos resultados opuestos. Ma et al ⁶² encontraron que la diversidad alfa puede aumentar significativamente hasta los seis meses de edad, pero en nuestro estudio los recién nacidos no recibieron seguimiento hasta ese período. De manera similar, estudios previos han informado que la diversidad microbiana aumenta con la edad, lo que indica una microbiota más compleja con el tiempo, lo que podría explicar por qué dicha diversidad aún no se observa en nuestras muestras ⁶²⁻⁶⁵.

La principal limitación de este estudio fue que no incluimos un grupo alimentado exclusivamente con fórmula para fines de comparación. Sin embargo, nuestro protocolo de UCIN fue promover la administración de leche materna en todos los bebés prematuros. Esto significa que encontrar bebés prematuros alimentados exclusivamente con fórmula habría sido un desafío y la aleatorización no habría sido correcta éticamente. Otra limitación fue el impacto en el intestino de la administración de antibióticos que todos los recién nacidos recibieron durante la semana inicial como parte de su tratamiento en la UCIN. El tratamiento antibiótico utilizado en nuestra UCIN podría haber afectado especialmente a bacilos gramnegativos como *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* entre otros. Se sabe que la exposición a antibióticos disminuye la diversidad de la microbiota intestinal y cambia

su composición, lo que permite una cantidad mucho mayor de Proteobacteria, como se observó en nuestro estudio, y perjudica las cantidades de Clostridia y Bifidobacterium ⁵⁰.

Capítulo VII. Conclusión

En conclusión, este estudio contribuye a la literatura sobre la estructura de la comunidad microbiana intestinal de lactantes prematuros, de muy bajo peso al nacer. La lactancia materna se asocia con una disminución en los recuentos de alfa proteobacterias y beta proteobacterias y un aumento de gamma proteobacterias en bebés prematuros. Además, independientemente del tipo de alimentación, la riqueza de especies disminuye desde la muestra inicial hasta la final. La creciente evidencia en este campo sugiere que existe potencial para crear estrategias que podrían ayudar a reducir las morbilidades asociadas con los bebés prematuros con muy bajo peso al nacer mediante la manipulación de su microbiota a temprana edad³⁹. Se requieren más estudios para comprender mejor los factores que pueden afectar el desarrollo de la microbiota del recién nacido.

Capítulo VIII. Referencias

- 1 World Health Organization [Internet]. Nueva York. [2 de mayo de 2012] *Nacido Demasiado Pronto: Informe de Acción Global sobre Nacimientos Prematuros*. Disponible en: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2012/preterm_20120502/es/).
- 2 Nacimientos prematuros. Nota descriptiva No. 363. Organización Mundial de la Salud. Noviembre de 2013.
- 3 Howson CP, Kinney MV, Lawn JE. Nacidos demasiado pronto: Informe de Acción Global sobre Nacimientos Prematuros. Editores, March of Dimes, PMNCH, Save the Children, Organización Mundial de la Salud. Nueva York 2012.
- 4 Salazar L, Bequer L, Gómez T, Pérez de Alejo L, Molina OR. Niveles de inmunoglobulinas y complemento en recién nacidos sanos de Villa Clara, Cuba
Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá. 2011; 30(3):107-111.
- 5 Saji F, Samejima Y, Kamiura S, Koyama M. Dynamics of immunoglobulins at the feto–maternal interface. *Reviews of Reproduction*. 1999; 4: 81–89.
- 6 Simister NE. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*. 2003; 39(15): 1-5.
- 7 Rodriguez NA, Meier PP, Groer MW, Zeller JM, Engstrom JL, Fogg L. A Pilot Study to Determine the Safety and Feasibility of Oropharyngeal Administration of Own Mother’s Colostrum to Extremely Low Birth Weight Infants. *Adv Neonatal Care*. 2010; 10(4): 206–212.
- 8 Gasque JJ, Gómez MA. Nutrición enteral en un recién nacido prematuro (Primera de dos partes). *Revista Mexicana de Pediatría*. 2012; 79(3): 151-157.
- 9 Dutta S, Singh B, Chessell L, Wilson J, Janes M, McDonald K. Guidelines for Feeding Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients*. 2015; 7: 423-442.
- 10 Gasque JJ, Gómez MA. Nutrición enteral en un recién nacido prematuro (Segunda parte). *Revista Mexicana de Pediatría*. 2012; 79(4): 183-191.

- 11 Narbona E, Uberos J, Armadá MI, Closa R, M.L. Couce Pico Rodríguez G. Nutrición enteral y parenteral en recién nacidos prematuros de muy bajo peso. Grupo de nutrición de la SENeo. México. Ergon. 2013.
- 12 García R. Composición e inmunología de la leche humana. *Acta Pediatr Mex* 2011; 32(4):223-230.
- 13 Gephart SM, Weller M. Colostrum as Oral Immune Therapy to Promote Neonatal Health. *Advances in Neonatal Care*. 2014; 14(1):44-51.
- 14 Lucas RF, Smith RL. When Is It Safe to Initiate Breastfeeding for Preterm Infants? *Advances in Neonatal Care*. 2015; 15(2): 134–141.
- 15 Castellote C, Casillas R, Ramírez-Santana C, Pérez-Cano FJ, Castell M, Moretones MG et al. Premature Delivery Influences the Immunological Composition of Colostrum and Transitional and Mature Human Milk. *J. Nutr.* 2011; 141:1181–1187.
- 16 Meier PP, Patel AL, Bigger HR, Rossman B, Engstrom JL. Supporting Breastfeeding in the Neonatal Intensive Care Unit Rush Mother's Milk Club as a Case Study of Evidence-Based Care. *Pediatr Clin N Am*. 2013; 60: 209–226.
- 17 Underwood MA, Human milk for the premature infant. *Pediatr Clin North Am*. 2013; 60(1): 189–207.
- 18 Meier PP, Engstrom JL, Patel AL, Jegier BJ, Bruns NE. Improving the Use of Human Milk During and After the NICU Stay. *Clin Perinatol*. 2010; 37(1): 217–245.
- 19 Schanler RJ. Outcomes of Human Milk-Fed Premature Infants. *Semin Perinatol*. 2011; 35:29-33.
- 20 Mastromarino P, Capobianco D, Campagna G, Laforgia N, Drimaco P, Dileone A, et al. Correlation between lactoferrin and beneficial microbiota in breast milk and infant's feces. *Biometals*. 2014; 27:1077–1086.
- 21 Stewart CJ, Marrs ECL, Magorrian S, Nelson A, Lanyon C, Perry JD et al. The preterm gut microbiota: changes associated with necrotizing enterocolitis and infection. *Acta Pædiatrica*. 2012; 101: 1121–1127.
- 22 Pletsch D, Ulrich C, Angelini M, Fernandes G, Lee DSC. Mothers' "Liquid Gold": A quality improvement initiative to support early colostrum delivery via Oral Immune Therapy (OIT) to premature and critically ill newborns. *NICU Quality Care Council at London Health Sciences Centres Victoria*. 2012; 36-41.
- 23 Agarwal R, Sharma N, Chaudhry R, Deorari A, Paul VK, Gewolb IH et al. Effects of oral *Lactobacillus GG* on enteric-microflora in low-birth-weight

- neonates. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2003; 36(3): 397-402.
- 24 Arboleya S, Salazar N, Solís G, Fernández N, Hernández-Barranco AM, Cuesta I et al. Assessment of intestinal microbiota modulation ability of *Bifidobacterium* strains in in vitro fecal batch cultures from preterm neonates. *Anaerobe*. 2013; 19: 9-16.u
- 25 Van Haver ER, Sangild PT, Oste M, Siggers JLA, Weyns ALM, Van Ginneken CJ. Diet-dependent mucosal colonization and Interleukin 1-B responses in preterm pigs susceptible to necrotizing enterocolitis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2009; 49:90-98.
- 26 Cilieborg MS, Boye M, Sangild PT. Bacterial colonization and gut development in preterm neonates. *Early Human Development*. 2012; 88: S41–S49.
- 27 Lee J, Kim H, Jung YH, Choi KY, Shin SH, Kim E, Choi J. Oropharyngeal Colostrum Administration in Extremely Premature Infants: An RCT. *Pediatrics* 2014; 135(2):357-366.
- 28 Rodriguez NA, Meier PP, Groer MW, Zeller JM, Engstrom JL, Fogg L. A Pilot Study to Determine the Safety and Feasibility of Oropharyngeal Administration of Own Mother's Colostrum to Extremely Low Birth Weight Infants. *Adv Neonatal Care*. 2010; 10(4): 206–212.
- 29 Voreades N, Kozil A, Weir TL. Diet and the development of the human intestinal microbiome. *Frontiers in microbiology*. 2014; 5: 1-9.
- 30 Gronlund M, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Gronroos T, Salminen S et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the *Bifidobacterium* microbiota in infants at risk of allergic disease. 2007; 37: 1764-1772.
- 31 Schwartz S, Friedberg I, Ivanov IV, Davidson LA, Goldsby JS, Dahl DB. A metagenomic study of diet-dependent interaction between gut microbiota and host in infants reveals differences in immune response. *Genome Biology* 2012, 13:r32: 1-16.
- 32 Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Human Microbiome*. 2013: 1-7.
- 33 Vallès Y, Gosalbes MJ, de Vries LE, Abellán JJ, Francino MP. Metagenomics and development of the gut microbiota in infants. *Clinical Microbiology and Infection*. 2012; 18 (Suppl. 4): 21–26.

- 34 Peterson J, Garges S, et al. The NIH HMP Working Group. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Research*. 2009; 19(12):2317–2323. [PubMed: 19819907]
- 35 The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. 2012; 486(7402):207–214. [PubMed: 22699609]
- 36 Hollister E, Gao C, Versalovic J. Compositional and Functional Features of the Gastrointestinal Microbiome and Their Effects on Human Health. *Gastroenterology*. 2014; 146(6):1449–1458. [PubMed: 24486050]
- 37 Lambeth SM, Carson T, Lowe J, Ramaraj T, Leff JW, Luo L, et al. Composition, Diversity and Abundance of Gut Microbiome in Prediabetes and Type 2 Diabetes. *J Diabetes Obes*. 2015 December 26; 2(3): 1–7. doi:10.15436/2376-0949.15.031.
- 38 Arboleya S, Ang L, Margolles A, Yiyuan L, Dongya Z, Liang X et al. Deep 16S rRNA metagenomics and quantitative PCR analyses of the premature infant fecal microbiota. *Anaerobe*. 2012; (18): 378e380.
- 39 Unger S, Stintzi A, Shah P, Mack D, O'Connor DL. Gut microbiota of the very-low-birth-weight infant. *Pediatr Res* 2015; 77: 205-213 [PMID: 25310760 DOI: 10.1038/pr.2014.162]
- 40 Parra-Llorca A, Gormaz M, Alcántara C, Cernada M, Nuñez-Ramiro A, Vento M, Collado MC. Preterm Gut Microbiome Depending on Feeding Type: Significance of Donor Human Milk. *Front Microbiol* 2018; 9: 1376 [PMID: 29997594 DOI: 10.3389/fmicb.2018.01376]
- 41 Cutland CL, Lackritz EM, Mallett-Moore T, Bardají A, Chandrasekaran R, Lahariya C, Nisar MI, Tapia MD, Pathirana J, Kochhar S, Muñoz FM; Brighton Collaboration Low Birth Weight Working Group. Low birth weight: Case definition & guidelines for data collection, analysis, and presentation of maternal immunization safety data. *Vaccine* 2017; 35: 6492-6500 [PMID: 29150054 DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.01.049]
- 42 Seige JK, P. Smith B, Ashley PL, Cotten CM, Claudia Herbert C, King BA, et al. Early Administration of Oropharyngeal Colostrum to Extremely Low Birth Weight Infants. *Breastfeeding Medicine*. 2013; 8(6): 491-495.
- 43 Hammer Ø, Harper DAT, Paul R. Past: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol Electron* 2001; 4: 1

- 44 Walls Castellanos M, Claud EC. The microbiome, guard or threat to infant health. *Trends Mol Med* 2021; 27: 1175-1186 [PMID: 34518093 DOI: 10.1016/j.molmed.2021.08.002]
- 45 Cong X, Judge M, Xu W, Diallo A, Janton S, Brownell EA, Maas K, Graf J. Influence of Feeding Type on Gut Microbiome Development in Hospitalized Preterm Infants. *Nurs Res* 2017; 66: 123-133 [PMID: 28252573 DOI: 10.1097/NNR.000000000000208]
- 46 Saturio S, Nogacka AM, Alvarado-Jasso GM, Salazar N, de Los Reyes-Gavilán CG, Gueimonde M, Arbolea S. Role of Bifidobacteria on Infant Health. *Microorganisms* 2021; 9 [PMID: 34946017 DOI: 10.3390/microorganisms9122415]
- 47 Cong X, Judge M, Xu W, Diallo A, Janton S, Brownell EA, Maas K, Graf J. Influence of Feeding Type on Gut Microbiome Development in Hospitalized Preterm Infants. *Nurs Res* 2017; 66: 123-133 [PMID: 28252573 DOI: 10.1097/NNR.000000000000208]
- 48 Westaway JAF, Huerlimann R, Kandasamy Y, Miller CM, Norton R, Staunton KM, Watson D, Rudd D. The bacterial gut microbiome of probiotic-treated very-preterm infants: changes from admission to discharge. *Pediatr Res* 2022; 92: 142-150 [PMID: 34621029 DOI: 10.1038/s41390-021-01738-6]
- 49 Healy DB, Ryan CA, Ross RP, Stanton C, Dempsey EM. Clinical implications of preterm infant gut microbiome development. *Nat Microbiol* 2022; 7: 22-33 [PMID: 34949830 DOI: 10.1038/s41564-021-01025-4]
- 50 Beghetti I, Barone M, Brigidi P, Sansavini A, Corvaglia L, Aceti A, Turrone S. Early-life gut microbiota and neurodevelopment in preterm infants: a narrative review. *Front Nutr* 2023; 10: 1241303 [PMID: 37614746 DOI: 10.3389/fnut.2023.1241303]
- 51 Granger CL, Embleton ND, Palmer JM, Lamb CA, Berrington JE, Stewart CJ. Maternal breastmilk, infant gut microbiome and the impact on preterm infant health. *Acta Paediatr* 2021; 110: 450-457 [PMID: 33245565 DOI: 10.1111/apa.15534]

- 52 Shin NR, Whon TW, Bae JW. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends Biotechnol* 2015; 33: 496-503 [PMID: 26210164 DOI: 10.1016/j.tibtech.2015.06.011]
- 53 Embleton ND, Sproat T, Uthaya S, Young GR, Garg S, Vasu V, Masi AC, Beck L, Modi N, Stewart CJ, Berrington JE. Effect of an Exclusive Human Milk Diet on the Gut Microbiome in Preterm Infants: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw Open* 2023; 6: e231165 [PMID: 36857051 DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2023.1165]
- 54 Stewart CJ, Embleton ND, Marrs ECL, Smith DP, Fofanova T, Nelson A, Skeath T, Perry JD, Petrosino JF, Berrington JE, Cummings SP. Longitudinal development of the gut microbiome and metabolome in preterm neonates with late onset sepsis and healthy controls. *Microbiome* 2017; 5: 75 [PMID: 28701177 DOI: 10.1186/s40168-017-0295-1]
- 55 Fukuda S, Toh H, Hase K, Oshima K, Nakanishi Y, Yoshimura K, Tobe T, Clarke JM, Topping DL, Suzuki T, Taylor TD, Itoh K, Kikuchi J, Morita H, Hattori M, Ohno H. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate. *Nature* 2011; 469: 543-547 [PMID: 21270894 DOI: 10.1038/nature09646]
- 56 Alcon-Giner C, Dalby MJ, Caim S, Ketskemety J, Shaw A, Sim K, Lawson MAE, Kiu R, Leclaire C, Chalklen L, Kujawska M, Mitra S, Fardus-Reid F, Belteki G, McColl K, Swann JR, Kroll JS, Clarke P, Hall LJ. Microbiota Supplementation with Bifidobacterium and Lactobacillus Modifies the Preterm Infant Gut Microbiota and Metabolome: An Observational Study. *Cell Rep Med* 2020; 1: 100077 [PMID: 32904427 DOI: 10.1016/j.xcrm.2020.100077]
- 57 Rivière A, Gagnon M, Weckx S, Roy D, De Vuyst L. Mutual Cross-Feeding Interactions between Bifidobacterium longum subsp. longum NCC2705 and Eubacterium rectale ATCC 33656 Explain the Bifidogenic and Butyrogenic Effects of Arabinoxylan Oligosaccharides. *Appl Environ Microbiol* 2015; 81: 7767-7781 [PMID: 26319874 DOI: 10.1128/AEM.02089-15]

- 58 Asbury MR, Shama S, Sa JY, Bando N, Butcher J, Comelli EM, Copeland JK, Forte V, Kiss A, Sherman PM, Stintzi A, Taibi A, Tomlinson C, Unger S, Wang PW, O'Connor DL; OptiMoM Feeding Group. Human milk nutrient fortifiers alter the developing gastrointestinal microbiota of very-low-birth-weight infants. *Cell Host Microbe* 2022; 30: 1328-1339.e5 [PMID: 35987195 DOI: 10.1016/j.chom.2022.07.011]
- 59 Lozupone CA, Knight R. Species divergence and the measurement of microbial diversity. *FEMS Microbiol Rev* 2008; 32: 557-578 [PMID: 18435746 DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00111.x]
- 60 Benton MJ. The origins of modern biodiversity on land. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2010; 365: 3667-3679 [PMID: 20980315 DOI: 10.1098/rstb.2010.0269]
- 61 Kim BR, Shin J, Guevarra R, Lee JH, Kim DW, Seol KH, Lee JH, Kim HB, Isaacson R. Deciphering Diversity Indices for a Better Understanding of Microbial Communities. *J Microbiol Biotechnol* 2017; 27: 2089-2093 [PMID: 29032640 DOI: 10.4014/jmb.1709.09027]
- 62 Ma J, Li Z, Zhang W, Zhang C, Zhang Y, Mei H, Zhuo N, Wang H, Wang L, Wu D. Comparison of gut microbiota in exclusively breast-fed and formula-fed babies: a study of 91 term infants. *Sci Rep* 2020; 10: 15792 [PMID: 32978424 DOI: 10.1038/s41598-020-72635-x]
- 63 Toubon G, Butel MJ, Rozé JC, Lepage P, Delannoy J, Ancel PY, Charles MA, Aires J; EPIFLORE Study Group. Very Preterm Children Gut Microbiota Comparison at the Neonatal Period of 1 Month and 3.5 Years of Life. *Front Microbiol* 2022; 13: 919317 [PMID: 35935237 DOI: 10.3389/fmicb.2022.919317]
- 64 Chen X, Shi Y. Determinants of microbial colonization in the premature gut. *Mol Med* 2023; 29: 90 [PMID: 37407941 DOI: 10.1186/s10020-023-00689-4]
- 65 Salas AA, Willis KA, Carlo WA, Yi N, Zhang L, Van Der Pol WJ, Younge NE, Lefkowitz EJ, Lal CV. The gut microbiome of extremely preterm

infants randomized to the early progression of enteral feeding. *Pediatr Res* 2022; 92: 799-804 [PMID: 34775476 DOI: 10.1038/s41390-021-01831-w]

Capítulo IX. Anexos

Tabla 1. Características clínicas y perinatales de 40 recién nacidos prematuros.

Características	Tipo de alimentación		Valor de P
	Leche materna, n = 21	Mixta, n = 19	
Género			
Femenino	5 (24)	9 (47)	0.113
Masculino	16 (76)	10 (53)	
Vía de nacimiento			
Vaginal	6 (28)	4 (21)	0.582
Cesárea	15 (71)	15 (78)	
Categoría de prematurez			
Prematuro tardío (34-36.6 semanas de gestación)	0 (0)	2 (10)	0.225
Prematuro (28-33.6 semanas de gestación)	20 (95)	15 (79)	
Prematuro extremo (< 27.6 semanas de gestación)	1 (5)	2 (10)	
Apgar a los 5 min			
0-3	0 (0)	0 (0)	0.087
4-6	2 (9)	2 (10)	
7-10	19 (90)	17 (89)	
Semanas de gestación, media ± DE	29 ± 2	30 ± 2	0.103
Peso al nacer (g), media ± DE	1,180 ± 217	1276 ± 169	0.132
Talla al nacer (cm), media ± DE	37 ± 3	38 ± 2	0.338
Intubado al nacer	4 (19)	5 (26)	0.581

Días para alcanzar alimentación enteral completa, media \pm DE	18 \pm 10	15 \pm 8	0.346
Estancia en UCIN (días), media \pm DE	28 \pm 19	26 \pm 17	0.668
Sepsis tardía	5 (24)	2 (10)	0.413
Retinopatía	1 (5)	0 (0)	0.997
Enterocolitis necrotizante	3 (14)	4 (21)	0.685
Conducto arterioso persistente	6 (29)	5 (26)	0.994
Síndrome de dificultad respiratoria	18 (86)	19 (100)	0.239
Displasia broncopulmonar	4 (19)	3 (16)	0.991
Hemorragia intraventricular	10 (48)	5 (26)	0.202
Mortalidad	0 (0)	2 (10)	0.218

Tabla 2. Comparación de abundancias relativas de clases y filos entre las muestras inicial y final.

Clase	Tipo de alimentación					
	Leche materna, <i>n</i> = 21			Mixta, <i>n</i> = 19		
	Inicial, media ± DE	Final, media ± DE	Valor de <i>P</i>	Inicial, media ± DE	Final, media ± DE	Valor de <i>P</i>
Bacteroidia	7.468 ± 15	6.835 ± 14	0.782	1.890 ± 3	2.872 ± 11	0.612
Flavobacteri	0.245 ± 10	0.008 ± 0.004	0.106	0.404 ± 1	0.005 ± 0.005	0.041
Sphingobacteria	0.030 ± 0.09	0.001 ± 0.001	0.155	0.055 ± 0.1	0.002 ± 0.006	0.100
Cytophag	0.030 ± 0.10	0.001 ± 0.002	0.208	0.0004 ± 0.001	0.063 ± 0.268	0.320
Actinobacteria	2.270 ± 2.0	4.519 ± 9	0.261	1.396 ± 2	3.520 ± 10	0.398
Bacilli	14.975 ± 17	17.794 ± 17	0.539	19.112 ± 29	20.131 ± 26	0.875
Clostridia	1.664 ± 30	3.525 ± 6	0.177	1.517 ± 2	5.084 ± 15	0.326
Mollicutes	4.334 ± 17	0.054 ± 0.076	0.274	4.424 ± 19	4.607 ± 20	0.324
Erysipelotrichia	0.0001 ± 0.0005	0.0006 ± 0.001	0.253	0.028 ± 0.06	0.0002 ± 0.0008	0.063
Negativicutes	1.038 ± 3.0	2.440 ± 5	0.138	0.387 ± 1	0.337 ± 0.813	0.857
Alphaproteobacteria	0.989 ± 1.0	0.017 ± 0.011	0.005	0.570 ± 1	0.237 ± 0.623	0.103

Betaproteobacteria	23.550 ± 27.0	0.643 0.290	± 0.001	18.517 ± 28	12.789 ± 28	0.509
Deltaproteobacteria	1.585 ± 4.0	0.200 0.593	± 0.081	0.163 ± 0.4	0.103 0.168	± 0.582
Epsilonproteobacteria	0.130 ± 0.4	0.001 0.002	± 0.179	0.009 0.02	± 0.0009 0.002	± 0.218
Gammaproteobacteria	40.831 ± 30.0	64.381 ± 24	0.004	51.063 ± 36	50.182 ± 34	0.921
Phylum Bacteroidetes	7.775 ± 15	6.786 ± 14	0.667	2.350 ± 3	2.943 ± 11	0.762
Actinobacteria	2.282 ± 2	4.131 ± 9	0.373	1.396 ± 2	3.520 ± 10	0.391
Firmicutes	17.678 ± 19	23.761 ± 17	0.219	21.046 ± 29	25.553 ± 28	0.558
Proteobacteria	67.087 ± 24	65.243 ± 24	0.772	70.324 ± 31	63.314 ± 31	0.403

Tabla 3. Estadísticas de la diversidad alfa analizando el filo.

		Tipo de alimentación							
		Leche materna (n = 21)				Mixta (n = 19)			
Índice		Inicial,	Final,	Valor de P	Inicial,	Final,	Valor de P		
		media ± DE mediana (rango)	media ± DE mediana (rango)		media ± DE mediana (rango)	media ± DE mediana (rango)			
Riqueza de especies									
Índice de	Margalef	1.60 ± 0.43	1.37 ± 0.27	0.042	1.53	1.31	0.006 ¹		
Alpha de Fisher		2.20 ± 0.68	1.82 ± 0.41	0.037	2.05	1.71	0.007 ¹		
Índice Chao-1		8.33 ± 1.96	7.29 ± 1.23	0.044	8	7	0.007 ¹		
Índice de	Menhinick	0.9	0.7	0.079	0.8	0.7	0.007 ¹		
Dominancia de especies									
Dominancia		0.63 ± 0.18	0.60 ± 0.22	0.617	0.747 ± 0.153	0.699 ± 0.189	0.396		
Igualdad		0.26 ± 0.09	0.29 ± 0.13	0.363	0.194 ± 0.046	0.246 ± 0.080	0.020		
Índice de Brillouin		0.51 ± 0.26	0.53 ± 0.33	0.807	0.344 ± 0.226	0.392 ± 0.265	0.551		
Índice de	Simpson	98.00	0.4600	0.589 *	0.253 ± 0.153	0.301 ± 0.189	0.396		
Índice de	diversidad de Shannon	0.68 ± 0.29	0.65 ± 0.34	0.755	0.49 ± 0.250	0.51 ± 0.26	0.819		

Equidad	0.33	± 0.34	± 0.873	0.226	± 0.264	± 0.355
	0.15	0.19		0.109	0.141	
Índice de Berger–Parker	0.73	± 0.67	± 0.284	0.85	0.81	0.418 ¹
	0.16	0.20				

Figura 1. Diagrama de flujo del número de sujetos en cada etapa del estudio.

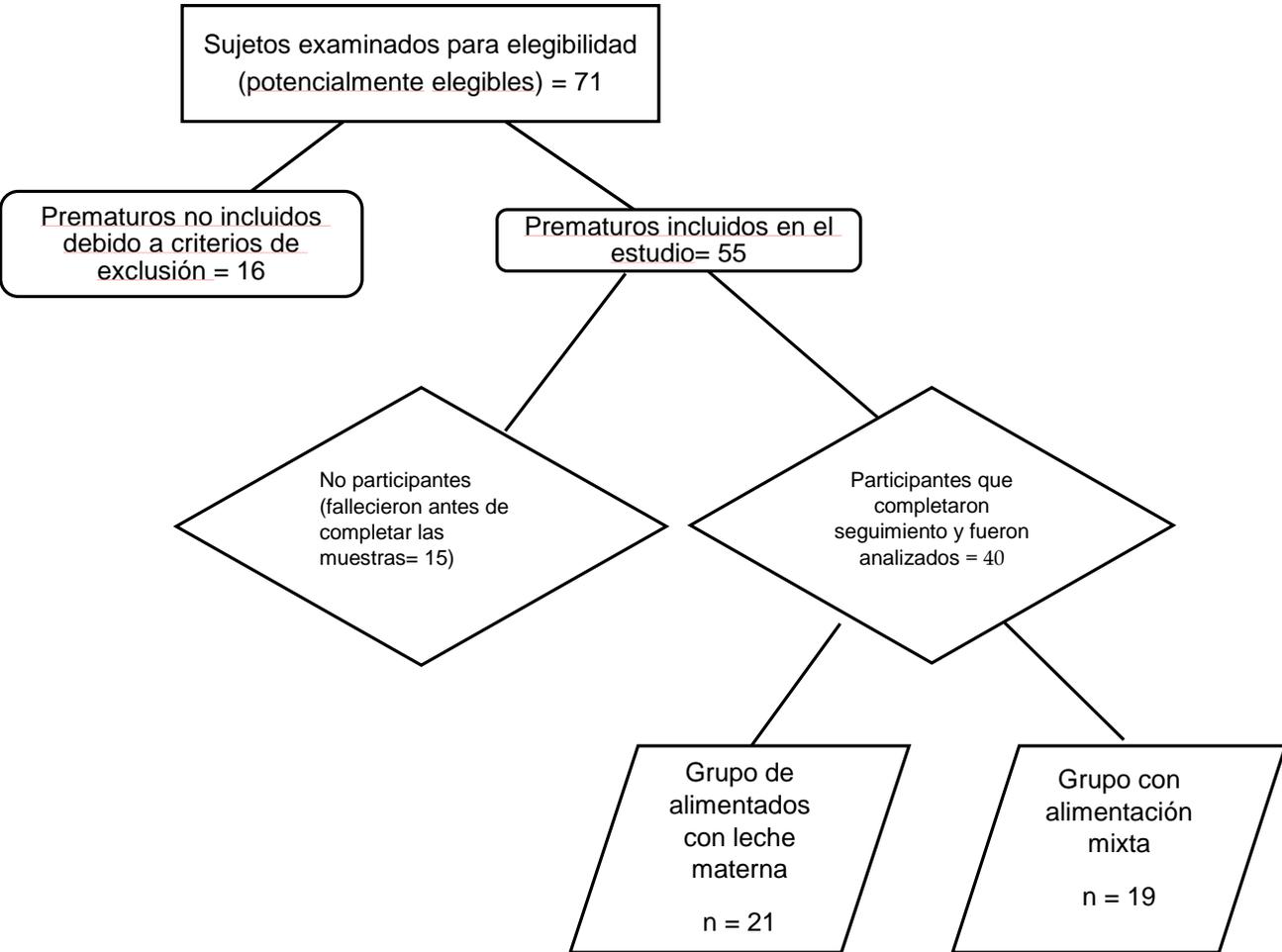
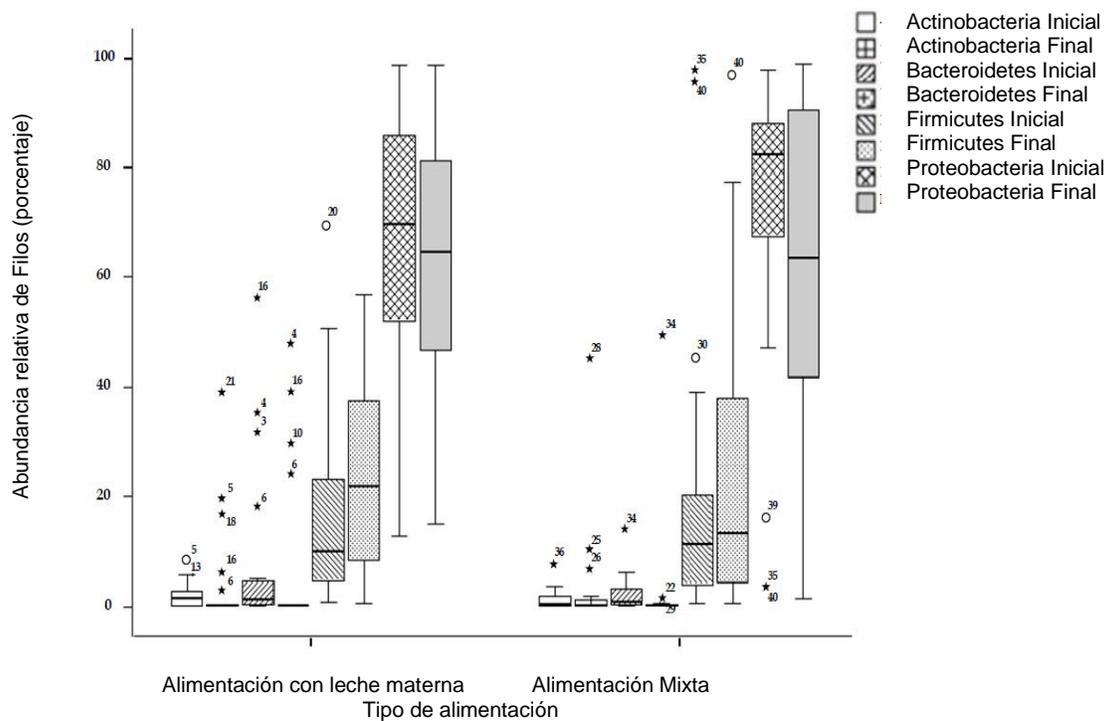


Figura 2. Abundancia relativa de Filos entre las muestras iniciales (previas a cualquier tipo de alimentación) y finales (cuando se alcanzó la alimentación enteral completa) de 40 prematuros alimentados con leche materna o con alimentación mixta.



Anexo 1. Aprobación del Comité de Ética en Investigación



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. med. MANUEL ENRIQUE DE LA O CAVAZOS

Investigador principal
Departamento de Pediatría
Presente.-

Estimado Dr. De la O:

Le informo que nuestro Comité de Ética en Investigación del Hospital Universitario "Dr. Jose Eleuterio Gonzalez", ha **evaluado y aprobado** el proyecto de investigación titulado: **"Efectos de la administración oral de leche materna para estudiar la colonización intestinal en neonatos prematuros con peso menor a 1500 gramos"** el cual quedó registrado en esta Subdirección con la clave **PE16-00009**, participando además la Dra. Sandra Gabriela Sanchez Gonzalez, Dra. med. Bárbara Gabriela Cárdenas del Castillo, Dr. med. Isaías Rodríguez Balderrama, Dra. Elvira Garza Gonzalez y el Dr. Neri A. Alvares Villalobos como Co-Investigador. De igual forma el siguiente documento:

- Protocolo en extenso, versión 1.0 de fecha Mayo del 2016.
- Formato de Consentimiento Informado, versión 1.0 de fecha Mayo 2016.
- Asentimiento Informado, versión 1.0 de fecha Mayo 2016.

Le reitero que es su obligación presentar a este Comité de Ética en Investigación un informe técnico parcial a más tardar el día en que se cumpla el año de emisión de este oficio, así como notificar la conclusión del estudio.

Será nuestra obligación realizar visitas de seguimiento a su sitio de investigación para que todo lo anterior esté debidamente consignado, en caso de no apegarse, este Comité tiene la autoridad de suspender temporal o definitivamente la investigación en curso, todo esto con la finalidad de resguardar el beneficio y seguridad de todo el personal y sujetos en investigación.

Atentamente,
"Alere Flammam Veritatis"
Monterrey N.L., 03 de Junio de 2016

DR. med. JOSE GERARDO GARZA LEAL
Presidente del Comité de Ética en Investigación

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN



COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Comité de Ética en Investigación
Comité de Investigación

Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Milras Centro, 64460 Monterrey, N.L. México Apartado Postal 1-4469
Teléfonos: (+52) 8329 4050 Ext. 2870 al 2874. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanel.com



Septiembre 15, 2014

Anexo 2. Aprobación del Comité de Investigación



UANL

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN



FACULTAD DE MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO

DR. med. MANUEL ENRIQUE DE LA O CAVAZOS

Investigador principal
Departamento de Pediatría
Presente.-

Estimado Dr. De la O:

En respuesta a su solicitud con número de Ingreso PI16-00137 con fecha del **19 de Mayo del 2016**, recibida en las Oficinas de la Secretaría de Investigación Clínica de la Subdirección de Investigación, se extiende la siguiente **DICTAMEN FAVORABLE** con fundamento en los artículos 4° párrafo cuarto y 16 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos; así como los artículos 14-16, 99 párrafo tercero, 102, 106 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud; así como de los artículos 111, 112 y 119 del Decreto que modifica a la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud publicado el día 2 de abril del 2014; Además Punto 4.4, 4.7, 6.2, 8 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos; así como por el Reglamento interno de Investigación de Nuestra Institución.

Se informa que el Comité de Investigación ha determinado que el Protocolo de Investigación clínica abajo mencionado cuenta con la calidad técnica, aspectos metodológicos y mérito científico requeridos.

"Efectos de la administración oral de leche materna para estudiar la colonización intestinal en neonatos prematuros con peso menor a 1500 gramos" el cual quedó registrado en esta Subdirección con la clave PE16-00009.

De igual forma los siguientes documentos:

- Protocolo en extenso, versión 1.0 de fecha Mayo del 2016.

Le reitero que es su obligación presentar a este Comité de Investigación un informe técnico parcial a más tardar el día en que se cumpla el año de emisión de este oficio, así como notificar la conclusión del estudio.

Será nuestra obligación realizar visitas de seguimiento a su sitio de investigación para que todo lo anterior este debidamente consignado, en caso de no apegarse, este Comité tiene la autoridad de suspender temporal o definitivamente la investigación en curso, todo esto con la finalidad de resguardar el beneficio y seguridad de todo el personal y sujetos en investigación.

Atentamente.-

"Alere Flammam Veritatis"

Monterrey, Nuevo León 03 de Junio del 2016

DR. C. GUILLERMO ELIZONDO RIOJAS
Presidente del Comité de Investigación

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN



COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Comité de Ética en Investigación
Comité de Investigación

Av. Francisco I. Madero Pte. s/n y Av. Gonzalitos, Col. Mitras Centro, 64460 Monterrey, N.L. México Apartado Postal 1-4469
Teléfonos: (+52) 8329 4050 Ext. 2870 al 2874. Correo Electrónico: investigacionclinica@meduanl.com



Septiembre 15, 2014

