

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE MEDICINA**



***“ANÁLISIS DE BACTERIAS ESPECÍFICAS ENTEROPATÓGENAS Y  
COMENSALES EN MUESTRAS DE HECES DE PACIENTES PEDIÁTRICOS  
HOSPITALIZADOS”***

**Por**

**DRA. KATIA DENISSE GUZMÁN AVILÁN**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
SUB-ESPECIALISTA EN GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA**

**ABRIL 2026**

**“ANÁLISIS DE BACTERIAS ESPECÍFICAS ENTEROPATÓGENAS Y  
COMENSALES EN MUESTRAS DE HECES DE PACIENTES  
PEDIÁTRICOS HOSPITALIZADOS”**

**Aprobación de la tesis:**



---

**Dra. Med. Idalia Aracely Cura Esquivel**  
Director de la tesis



---

**Dr. Fernando García Rodríguez**  
Coordinador de Investigación



---

**Dra. Med. Idalia Aracely Cura Esquivel**  
Coordinador de Gastroenterología y  
Nutrición Pediátrica



---

**Dr. Med. Fernando Félix Montes Tapia**  
Jefe del Departamento de Pediatría



---

**Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez**  
Subdirector de Estudios de Posgrado

## DEDICATORIA Y/O AGRADECIMIENTOS

Este trabajo representa el cierre de una etapa llena de aprendizaje, retos y crecimiento personal, en la que cada experiencia vivida y cada persona han dejado una huella en mi formación. Más allá de los conocimientos adquiridos, este camino ha sido también una construcción personal, acompañada siempre de quienes han estado a mi lado.

Agradezco profundamente a mis padres, Rosy y Santos, por ser el pilar de todo lo que soy. Gracias por su amor incondicional, por impulsarme a seguir adelante incluso en los momentos más difíciles y por enseñarme, con su ejemplo, el valor del esfuerzo, la disciplina y la perseverancia. A mis hermanos, Omar y Rosy, por su apoyo constante y por su compañía.

A mi esposo, Mauricio, por ser mi compañero incondicional en cada etapa. Gracias por tu paciencia, por tu comprensión en los días largos y demandantes, y por tu amor, que ha sido mi fortaleza a lo largo de este proceso. Por sostenerme cuando más lo necesité y por celebrar conmigo cada logro.

A mis maestros de Gastroenterología, Dra. Idalia Cura y Dr. Carlos Zapata, por compartir su conocimiento, su experiencia y su pasión por esta especialidad. Gracias por cada enseñanza, cada consejo y por su ejemplo, los cuales han sido fundamentales en mi formación como especialista y en la manera en la que hoy entiendo y ejerzo la medicina.

A mis compañeros de Pediatría y de subespecialidad, Gregory, Estefany y Valeria, con quienes compartí este camino. Gracias por el aprendizaje conjunto, por el apoyo en los momentos difíciles y por las experiencias que hicieron de esta etapa algo mucho más significativo.

Y, de manera muy especial, a mi hijo, Santos Mauricio, a quien dedico este logro. Me acompañaste desde el inicio de tu vida en la etapa final de este proceso, siendo testigo de cada esfuerzo. Eres mi mayor motivación, mi inspiración constante y el motor que me impulsa a seguir creciendo cada día.

A todos ustedes, gracias por formar parte de este camino.

# TABLA DE CONTENIDO

	Página
Capítulo I RESUMEN	
Resumen .....	1
Capítulo II INTRODUCCIÓN	
2.1 Microbiota intestinal, disbiosis y desarrollo humano	3
2.2 Composición de la microbiota humana .....	4
2.3 Modificadores de la microbiota intestinal .....	5
2.4 Eje cerebro-intestino-microbiota.....	7
2.5 Metodologías del estudio de la microbiota intestinal	8
2.6 Planteamiento del problema .....	8
2.7 Pregunta de investigación .....	9
2.8 Justificación .....	9
2.9 Antecedentes .....	9
Capítulo III HIPÓTESIS	
3.1 Hipótesis nula .....	13
3.2 Hipótesis alterna .....	13
Capítulo IV OBJETIVOS	
4.1 Objetivo principal .....	14
Capítulo V Material y métodos .....	15
5.1 Diseño del estudio, población y ámbito.....	15
5.2 Caracterización clínica y antecedentes .....	15
5.3 Exposición a antibióticos, probióticos y suplementos	15
5.4 Muestras y procedimientos microbiológicos.....	15
5.5 Evaluación del patrón colibacilar y definición - operativa de microbiota alterada.....	16

<b>5.6</b> Detección molecular por PCR.....	16
<b>5.7</b> Comparaciones analíticas y análisis estadístico...	16
Capítulo VI RESULTADOS	
<b>6.1</b> Características clínicas y antecedentes perinatales de la cohorte .....	17
<b>6.2</b> Exposición a antibióticos, probióticos y suplementos nutricionales.....	17
<b>6.3</b> Diagnósticos concomitantes y perfil terapéutico	18
<b>6.4</b> Aislamiento de patógenos entéricos por copro- cultivo dirigido, distribución de bacterias comensales e identificación de microbiota alterada	18
<b>6.5</b> Comparación entre microbiota colibacilar presente y ausente .....	24
<b>6.6</b> Asociación entre uso de antibióticos y presencia/ausencia de microbiota.....	25
<b>6.7</b> Impacto de la vía de nacimiento en la distribución microbiana .....	26
<b>6.8</b> Correlaciones entre comensales, patógenos y exposiciones clínicas.....	27
<b>6.9</b> Comparación entre uso de probióticos y perfil microbiano .....	29
<b>6.10</b> Comparación entre lactancia materna y composición microbiana .....	30
Capítulo VII DISCUSIÓN	
Discusión .....	32
Capítulo VIII CONCLUSIÓN	
Conclusión .....	37
Capítulo IX BIBLIOGRAFÍA	
Bibliografía .....	39

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
<b>1. Características clínicas, perinatales y de exposición antimicrobiana de los 91 pacientes pediátricos hospitalizados</b>	<b>19</b>
<b>2. Comparación entre microbiota colibacilar presente vs. ausente en relación con bacterias patógenas y comensales</b>	<b>24</b>
<b>3. Comparación entre microbiota colibacilar presente vs. ausente según el uso individual de antibióticos</b>	<b>25</b>
<b>4. Asociación entre la vía de nacimiento y la presencia de bacterias patógenas y comensales</b>	<b>27</b>
<b>5. Correlaciones de Spearman entre presencia de bacterias comensales, patógenas y diversas exposiciones clínicas</b>	<b>28</b>
<b>6. Comparación del perfil microbiano según uso o no uso de probióticos</b>	<b>29</b>
<b>7. Comparación de la presencia de patógenos y comensales intestinales según antecedente de lactancia materna</b>	<b>30</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

16S rRNA: ARN ribosomal 16S (marcador para caracterización bacteriana)

DA: diarrea aguda

DE: desviación estándar

EC: enfermedad de Crohn

FISH: fluorescence in situ hybridization (hibridación fluorescente in situ)

IC: intervalo de confianza

IL-6: interleucina 6

IL-8: interleucina 8

IMC: índice de masa corporal

OTUs: operational taxonomic units (unidades taxonómicas operacionales)

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

p / p-value: valor p (significancia estadística)

rho ( $\rho$ ): coeficiente rho de Spearman (correlación)

rt PCR: PCR con transcripción reversa (reverse transcription PCR)

SII: síndrome de intestino irritable

spp.: varias especies dentro de un género (species plural)

TEA: trastorno del espectro autista



## CAPÍTULO I: RESUMEN

**Introducción:** La hospitalización pediátrica y la exposición a antibióticos se asocian con alteraciones del microbioma intestinal y podrían modificar la resistencia a la colonización por patógenos. En este contexto, se evaluó el perfil microbiológico intestinal mediante coprocultivo dirigido y PCR para bacterias enteropatógenas y comensales en pacientes pediátricos hospitalizados.

**Objetivo:** Describir la detección de bacterias enteropatógenas y comensales en heces de pacientes pediátricos hospitalizados y explorar su asociación con variables clínicas y exposiciones (p. ej., vía de nacimiento, antibióticos, probióticos, lactancia).

**Métodos:** Estudio en **91** pacientes pediátricos hospitalizados con caracterización clínica y de exposición antimicrobiana. Se realizó coprocultivo dirigido y se clasificó el patrón de microbiota colibacilar (normal/ausente/disminución +, ++, +++), definiendo “microbiota alterada” por cambios en dicho patrón. Se aplicó PCR para enteropatógenos (incluyendo *Aeromonas* spp.) y para comensales seleccionados (*Sutterella* spp., *Ruminococcus torques*, *R. gnavus*, *Akkermansia muciniphila*). Las comparaciones se realizaron con Fisher/chi-cuadrada/Wilcoxon según correspondiera, y correlaciones con Spearman.

**Resultados:** El coprocultivo mostró aislamiento limitado; el patrón colibacilar evidenció microbiota alterada en 95% de los pacientes, con ausencia de microbiota colibacilar en 12%. Por PCR, se identificó *Aeromonas* spp. en 2.2% y no se detectaron *Shigella*, *Salmonella*, *C. difficile*, *Yersinia* ni *Campylobacter*. En comensales, *Sutterella* spp. se detectó en 66%, *R. torques* en 73%, *R. gnavus* en 92%, y no se identificó *A. muciniphila*. La presencia global de comensales se correlacionó negativamente con la presencia de patógenos ( $\rho = -0.333$ ;  $p = 0.001$ ). *Sutterella* spp. mostró correlación negativa con antibióticos ( $\rho = -0.258$ ;  $p = 0.014$ ) y positiva con parto vaginal ( $\rho = 0.247$ ;  $p = 0.018$ ), consistente con una mayor frecuencia por vía de nacimiento ( $p = 0.018$ ). El uso de probióticos no mostró

diferencias significativas, con una tendencia a menor *R. torques* (43% vs 75%;  $p = 0.087$ ).

**Conclusiones:** En esta cohorte pediátrica hospitalaria predominó un patrón compatible con disbiosis colibacilar, con baja detección de enteropatógenos clásicos y alta detección de comensales seleccionados. La relación inversa comensales–patógenos y la asociación de *Sutterella* spp. con antibióticos y vía de nacimiento sugieren que exposiciones perinatales e intrahospitalarias influyen en la composición microbiana intestinal en el entorno hospitalario.

## CAPÍTULO II: INTRODUCCIÓN

### 2.1 Microbiota intestinal, disbiosis y desarrollo humano.

La microbiota intestinal es una comunidad compleja de microorganismos que residen en el tracto digestivo, incluyendo bacterias, virus, hongos y otros microorganismos. Estos organismos desempeñan roles esenciales en la digestión de alimentos, la síntesis de vitaminas, la protección contra patógenos y la regulación del sistema inmunológico. En equilibrio, la microbiota intestinal contribuye significativamente a nuestra salud general, pero cuando se desequilibra, se relaciona con diversas enfermedades, desde problemas digestivos hasta trastornos inmunológicos, neurológicos, psiquiátricos y metabólicos. (1)

Recientemente, diversos estudios se han enfocado en entender la microbiota humana y su relación con enfermedades. Actualmente, entendemos que esta compleja comunidad de microorganismos es crucial para mantener un estado de salud óptimo (2–4). Varios estudios han demostrado que la disbiosis de la comunidad bacteriana puede conducir a enfermedades intestinales, incluyendo la diarrea aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal y enfermedades autoinmunes con síntomas gastrointestinales (4,5). Los microorganismos que componen la microbiota intestinal en condiciones fisiológicas, poseen relaciones complejas entre sí mismas y el huésped, dichas interacciones, son desarrolladas durante las primeras etapas de la vida. Los microorganismos que la componen y las relaciones que estos forman con el sistema inmune por medio de la barrera intestinal, son un factor clave en el desarrollo de una adecuada microbiota intestinal y del sistema inmunológico (6).

## 2.2 Composición de la microbiota humana

Los principales microorganismos que componen la microbiota intestinal durante las primeras etapas de la vida consisten en: *Actinobacteria* spp, *Bacteroides* spp., *Firmicutes* spp, *Fusobacterium* spp, *Proteobacteria* spp, entre otras (6,7). La composición y diversidad de la microbiota intestinal pueden verse influenciadas por múltiples factores, incluyendo la dieta, el uso de antibióticos, y condiciones de salud subyacentes (6). En el contexto pediátrico, una microbiota intestinal equilibrada es fundamental para el desarrollo inmunológico y metabólico adecuado, ya que alteraciones en esta comunidad microbiana se ha asociado con diversas entidades, como alergias, obesidad y trastornos del espectro autista (3,6,8).

La microbiota intestinal está implicada en una variedad de funciones fisiológicas esenciales, como la digestión de alimentos no digeribles, la síntesis de vitaminas (por ejemplo, vitamina K y algunas del complejo B), y la regulación del sistema inmunológico (1,2). Además, contribuye a la protección contra patógenos mediante la competencia por nutrientes y la producción de sustancias antimicrobianas.

La composición de la microbiota intestinal está en constante cambio y puede ser influenciada por una variedad de factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Los factores más estudiados que alteran la composición de la microbiota intestinal son: la dieta (9), antibióticos (10,11), e infecciones (12). La dieta juega un papel fundamental, ya que diferentes nutrientes y alimentos pueden promover o inhibir el crecimiento de distintos tipos de microorganismos (9). Además, la dieta no solo afecta de forma directa por la disponibilidad de sustrato la composición de la microbiota, sino que también, puede alterarla de forma indirecta, al exponer antígenos en los alimentos al sistema inmunológico en la luz intestinal, o la deficiencia de algunos componentes presentes en la dieta, que inhiban el crecimiento de ciertos microorganismos, por ejemplo, la vitamina A, puede inhibir el crecimiento de *Bacteroides vulgatus*, y se ha demostrado en modelos animales que

la deficiencia de vitamina A conlleva a una proliferación de este microorganismo(9,13).

### **2.3 Modificadores de la microbiota intestinal**

El uso de antibióticos puede tener un impacto significativo y a menudo adverso en la composición de la microbiota intestinal. Un exponente de este fenómeno fue un estudio prospectivo de la microbiota intestinal en pacientes que recibieron terapia con vancomicina oral, en estos pacientes la mayoría de los géneros de microbiota intestinal y las unidades taxonómicas operacionales (OTUs) fueron eliminadas en todos los sujetos analizados, incluyendo todas las OTUs basales del filo *Bacteroidetes* (14). Este tratamiento fue acompañado por una vasta expansión de géneros asociados con infecciones, como *Klebsiella* y *Escherichia/Shigella*. Tras la interrupción del antibiótico, se observaron diferencias notables en la resiliencia de la microbiota entre los individuos. Mientras que algunos lograron recuperar una composición microbiota similar a la inicial, en otros, hasta un 89% de las OTUs abundantes no pudieron ser detectadas nuevamente. La principal complicación asociada al uso de antibióticos durante la estancia hospitalaria es la infección por *Clostridium difficile*, en donde se ha demostrado que a pesar de que este microorganismo puede estar presente en el intestino de forma no patológica, el uso de antibióticos altera la composición de la microbiota intestinal, aumentando la proporción de *C.difficile* en el intestino, esto debido a su resistencia a los antibióticos y ocasionar un cuadro de colitis pseudomembranosa, condición que pone en peligro la vida.

La disbiosis intestinal, por una pérdida del equilibrio en las comunidades de microorganismos en la microbiota intestinal puede presentarse clínicamente como un cuadro de diarrea aguda (DA). Dentro de las diarreas agudas de origen infeccioso, se evalúan por los mecanismos específicos que desencadenan un aumento en la frecuencia de las deposiciones o un cambio en la consistencia y/o composición de las mismas, es así como se dividen en diarrea secretora,

caracterizada por una secreción excesiva de agua y electrolitos a la luz intestinal, donde el patógeno involucrado posee toxinas que provocan un aumento de segundos mensajeros dentro del enterocito, lo que a su vez provoca la secreción activa de iones de cloro, ocasionando un aumento del gasto fecal (15). Suele describirse como consecuencia de la presencia anormal de agentes microbianos como: *E. coli*, *V. cholerae*, *C. difficile*, *C. perfringens*, *Shigella*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Giardia lamblia*, *Y. Enterocolitica* o *S. aureus* (11,16). Este fenómeno a su vez, se ve agravado por la presencia de mediadores inflamatorios, o citocinas proinflamatorias, como lo es el caso de la IL-6, IL-8 o TNF $\alpha$  (16).

Por otro lado, las diarreas infecciosas citotóxicas se caracterizan por una lesión directa del epitelio intestinal, típicamente inducida por patógenos como *E. coli enterohemorrágica*, *Rotavirus* o *Cryptosporidium*. Por último, las diarreas agudas de origen infeccioso pueden tener como presentación una diarrea disentérica la cual se caracteriza por sangre en heces, lo que implica una inflamación del epitelio intestinal, que suele ser ocasionada por microorganismos como *Salmonella*, *Shigella*, *Entamoeba histolytica*, *C. difficile*, *Y. Enterocolitica* o *Campylobacter fetus* (11,17).

Otros factores que influyen en la composición de la microbiota intestinal incluyen la vía de nacimiento, ya que puede tener un impacto significativo en la colonización inicial de la microbiota intestinal. Los bebés nacidos por parto vaginal son expuestos a la microbiota vaginal y fecal de la madre, lo que generalmente resulta en una colonización inicial dominada por bacterias beneficiosas como *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Bacteroides*. En contraste, los bebés nacidos por cesárea son inicialmente colonizados por microorganismos de la piel y del ambiente hospitalario, lo que puede resultar en una menor diversidad microbiana y una mayor abundancia de patógenos oportunistas como *Clostridium* y *Staphylococcus* (20). Esta diferencia en la colonización inicial puede tener implicaciones a largo plazo para la salud del niño, ya que una microbiota menos diversa y equilibrada está asociada con un mayor riesgo de enfermedades. Además, la lactancia materna

versus la alimentación con fórmula también juega un papel importante en el desarrollo de la microbiota, ya que la leche materna contiene oligosacáridos que favorecen el crecimiento de bacterias beneficiosas. Estos factores, combinados con la genética del huésped y el entorno en el que vive, contribuyen a la compleja dinámica de la microbiota intestinal a lo largo de la vida (21).

Posterior a la vía de nacimiento, la dieta y el mecanismo de lactancia materna afectan la composición de la microbiota intestinal. Esto se ha visto demostrado a lo largo de varias décadas por diversos estudios, donde la diversidad de la microbiota intestinal de los niños alimentados con fórmula es mayor que los niños alimentados con lactancia materna, caracterizada por un aumento en la presencia de microorganismos como *Atopobium*, acompañada de una disminución de la composición por *Bifidobacterium* (1,8,22).

#### **2.4 Eje cerebro-intestino-microbiota**

La microbiota intestinal afecta al individuo más allá de la protección contra trastornos gastrointestinales. El eje cerebro-intestino-microbiota es una red de comunicación bidireccional que conecta el sistema nervioso central y el tracto gastrointestinal a través de señales neurológicas, hormonales e inmunológicas. Este eje permite que el cerebro influya en la función intestinal y que la microbiota intestinal, a su vez, afecte la salud mental y emocional. Estudios recientes han demostrado que los microorganismos intestinales pueden producir neurotransmisores y otros compuestos que modulan el estado de ánimo, el comportamiento y la respuesta al estrés. Alteraciones en esta comunicación pueden estar relacionadas con una variedad de condiciones, incluyendo trastornos gastrointestinales, ansiedad, depresión y enfermedades neurodegenerativas, subrayando la importancia de mantener una microbiota equilibrada para la salud general del individuo (3,23).

## **2.5 Metodologías del estudio de la microbiota intestinal.**

Existen distintas técnicas que permiten el estudio de la microbiota intestinal, originalmente el estudio de la microbiota intestinal dependía del aislamiento y cultivo de los microorganismos presentes en heces, posteriormente comenzó la caracterización de la microbiota intestinal por medio de la secuenciación del gen 16S de rRNA, o una porción de este, lo que inició la caracterización de las distintas comunidades que componen la microbiota intestinal. Actualmente los dos abordajes más utilizados para la caracterización de la microbiota intestinal son la secuenciación y clasificación taxonómica por medio del gen 16s rRNA; y el abordaje de secuenciación por metagenómica. La mayoría de los estudios de investigación que se centran en la caracterización de la microbiota intestinal en distintas condiciones o etapas de la vida utilizan alguno de estos abordajes (8,24,25).

## **2.6 Planteamiento del problema**

Los niños hospitalizados en unidades de tercer nivel presentan un perfil de riesgo elevado para disbiosis intestinal debido a la frecuente exposición a antibióticos, procedimientos invasivos y enfermedades subyacentes graves. La alteración de la microbiota en estos pacientes no solo puede afectar su recuperación inmediata, sino también predisponerlos a infecciones recurrentes, alteraciones del patrón evacuatorio y otras complicaciones a largo plazo.

A pesar de la importancia crítica de la microbiota intestinal en la salud pediátrica, existe una falta de estudios detallados que caractericen su composición y dinámica en niños hospitalizados en entornos de tercer nivel. Comprender cómo los factores hospitalarios influyen en la microbiota intestinal de estos pacientes es esencial para desarrollar estrategias de manejo y tratamiento que minimicen los efectos adversos y promuevan la recuperación y la salud a largo plazo.

## **2.7 Pregunta de investigación**

¿Qué microorganismos predominan de un conjunto seleccionado de bacterias enteropatógenas y comensales en muestras de heces de pacientes pediátricos hospitalizados?

## **2.8 Justificación**

Aunque se reconoce la relevancia de la microbiota intestinal en la salud gastrointestinal, existe una brecha sustancial en la comprensión de la disbiosis de la microbiota en niños hospitalizados. A pesar de la prevalencia y las consecuencias graves asociadas con este trastorno, la falta de estudios específicos en el noreste de México, en particular en un entorno hospitalario de tercer nivel, representa una limitación importante en la identificación de patrones microbianos y factores determinantes. La falta de información sobre la composición microbiana en niños hospitalizados en un hospital de tercer nivel dificulta la implementación de estrategias de manejo clínico eficaces y la formulación de políticas de salud pública dirigidas a esta población vulnerable. Por ende, este estudio observacional transversal se propone abordar esta laguna de conocimiento, analizando la presencia de bacterias específicas enteropatógenas y comensales en muestras de heces de niños internados en un hospital de tercer nivel en Nuevo León, México, con el objetivo de aportar información valiosa para mejorar las prácticas clínicas y la atención de la salud infantil en esta región.

## **2.9 Antecedentes**

Múltiples estudios se han centrado en la caracterización de la microbiota intestinal, en el 2012, una revisión publicada por Clemente JC et al., recopiló y describió los esfuerzos que se han realizado para la caracterización de la microbiota intestinal en distintos contextos, tales como el efecto de los antibióticos sobre la microbiota intestinal, la microbiota intestinal durante distintas etapas de la vida, y la

caracterización de la microbiota intestinal en enfermedades asociadas a disbiosis como enfermedades autoinmunes, alérgicas, obesidad, diabetes tipo 2 o enfermedad intestinal inflamatoria (6).

En el 2015, Singh et al., de la universidad de Michigan, caracterizaron la microbiota intestinal de pacientes con infecciones gastrointestinales y 75 familiares aparentemente sanos para identificar las diferencias en la composición de la microbiota intestinal en infecciones gastrointestinales (15). Encontraron variaciones en la abundancia de bacterias del filo *Proteobacteria*, *Bacteroidetes* y *Firmicutes*, el grupo de pacientes tenían una mayor abundancia de las Proteobacterias provenientes del género *Escherichia*, respecto al grupo control, donde el principal phylum identificado fue *Bacteroides*.

De forma similar en 2017, The HC. et. al, estudiaron los cambios en la composición de la microbiota intestinal durante y después de un proceso de DA (12). Se analizaron un total de 200 muestras de heces de niños vietnamitas, de las cuales 55 eran muestras de sujetos sanos sin diarrea y 145 eran muestras obtenidas de pacientes con un cuadro de DA, utilizando la secuenciación de 16S rRNA , se encontró la presencia de microorganismos patógenos (*Norovirus*, *Rotavirus*, *Salmonella*, y *Campylobacter*) en 15/54 controles, sin embargo, argumentan que la presencia de estos organismos en sujetos asintomáticos es un fenómeno que se observa en ambientes endémicos de estos patógenos. Dentro de sus hallazgos más relevantes, encontraron que el microorganismo más abundante en niños menores de 2 años infectados con cepas patogénicas de E. coli era *Streptococcus* (*S. gallolyticus* y *S. salivarius*). Además, se encontró que el índice de *Streptococcus/Bifidobacterium* tienen una correlación positiva con la cantidad de evacuaciones y la duración de la hospitalización. Estos hallazgos demuestran la importancia de las interacciones entre los distintos miembros de la microbiota intestinal.

En el 2021, Toro EM. et al., realizaron un estudio observacional en 30 niños mexicanos con DA y 15 voluntarios sanos que consistió en la recolección de una muestra de heces para la identificación por medio de rt PCR con un panel de multiplex, así como un análisis de microbiota por amplificación y secuenciación del gen 16S. En esta población se encontró que el patógeno principalmente involucrado consistía en *Norovirus* y *Campylobacter jejuni*, las muestras provenientes de pacientes con diarrea tenían una menor diversidad alfa y un cambio en la composición de la microbiota intestinal en comparación con el grupo control (4).

En un estudio por Williams B, et al. Se identificó la presencia de *Sutterella* en muestras de heces de niños con TEA, misma que no se encontró en ninguna de las muestras control (26), si bien hay estudios que demuestran la presencia de *Sutterella* como microorganismo comensal en la microbiota humana (27), la evidencia respecto al rol de *Sutterella* en humanos aun no es claro, por lo cual la identificación de esta bacteria puede ayudar a dilucidar su rol como agente patógeno.

Las bacterias del género *R. torques* y *R. gnavus* han sido identificadas en muestras de heces provenientes de pacientes con síndrome de intestino irritable (SII), enfermedad de Crohn (EC), entre otras patologías gastrointestinales, si bien estas también se han encontrado en muestras de pacientes control, tienen una mayor proporción en muestras de pacientes con enfermedades gastrointestinales (28).

*A. Muciniphila* al contrario, es una población que se ha encontrado reducida en enfermedades gastrointestinales como las previamente descritas (SII, EC), a manera de que se cree que tiene un rol protector como bacteria comensal en la microbiota intestinal (28).

Dilucidar el rol que juegan estos microorganismos específicos como comensales o patógenos, puede ayudar a encaminar los esfuerzos terapéuticos en pacientes susceptibles a sufrir enfermedades del sistema gastrointestinal.



## **CAPÍTULO III: HIPÓTESIS**

### **3.1 Hipótesis nula:**

No hay una diferencia en la composición de la microbiota de los pacientes pediátricos hospitalizados.

### **3.2 Hipótesis alterna:**

Las bacterias enteropatógenas se encontrarán en al menos 20% de los pacientes pediátricos hospitalizados, mientras que las bacterias comensales pudieran estar ausentes.

## **CAPÍTULO IV: OBJETIVOS**

### **3.1 Objetivo principal**

Identificar un conjunto seleccionado de bacterias enteropatógenas y comensales en muestras de heces de pacientes pediátricos hospitalizados.

## **CAPÍTULO V: MATERIAL Y METODOS**

### **5.1 Diseño del estudio, población y ámbito**

Se realizó un estudio observacional en una cohorte de pacientes pediátricos hospitalizados. Se incluyeron 91 pacientes ingresados por diversos diagnósticos (neurrológicos, hematológicos, quirúrgicos, infecciosos, entre otros).

### **5.2 Caracterización clínica y antecedentes**

Se recabó información clínica y de antecedentes perinatales, incluyendo diagnóstico de ingreso, estado nutricional, días de internamiento, edad y antropometría, edad gestacional al nacimiento, vía de nacimiento y antecedente de lactancia materna, así como variables relacionadas con guardería, vacunación, hospitalizaciones y cirugías previas.

### **5.3 Exposición a antibióticos, probióticos y suplementos**

Se documentó la exposición reciente a antibióticos, clasificando el tiempo desde el último uso (última semana, último mes y últimos seis meses). Asimismo, se registró el uso de probióticos y de suplementos nutricionales (hierro y multivitamínicos).

### **5.4 Muestras y procedimientos microbiológicos**

Se analizaron muestras de heces mediante coprocultivo dirigido y evaluación de la microbiota colibacilar. En el coprocultivo, el aislamiento se consideró limitado y se empleó el patrón de microbiota colibacilar como aproximación para clasificar el estado de la microbiota.

## **5.5 Evaluación del patrón colibacilar y definición operativa de microbiota alterada**

El patrón colibacilar se clasificó en categorías operativas (ausente, disminución leve “+”, disminución moderada “++”, disminución marcada “+++” y patrón normal). Con base en esta clasificación, se definió “microbiota alterada” como la presencia de cambios en el patrón colibacilar.

## **5.6 Detección molecular por PCR**

Se realizó PCR dirigida para la identificación de bacterias enteropatógenas y comensales. Para enteropatógenos se incluyó, entre otros, el tamizaje de *Aeromonas* spp. y de los grupos reportados en el análisis (p. ej., *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Clostridioides difficile*, *Yersinia* y *Campylobacter* spp.). Para comensales, se analizó la presencia de *Sutterella* spp., *Ruminococcus torques*, *Ruminococcus gnavus* y *Akkermansia muciniphila*.

## **5.7 Comparaciones analíticas y análisis estadístico.**

Los resultados se expresaron como frecuencias n (%) o medidas de tendencia central según correspondiera. Para comparaciones entre grupos se emplearon la prueba exacta de Fisher, la chi-cuadrada de Pearson y la prueba de Wilcoxon (rank-sum) de acuerdo con el tipo de variable. Adicionalmente, se evaluaron correlaciones entre la presencia de bacterias comensales, patógenas y exposiciones clínicas mediante Spearman, reportando rho y valor p.

## CAPÍTULO VI: RESULTADOS

### 6.1 Características clínicas y antecedentes perinatales de la cohorte

Se incluyeron 91 pacientes pediátricos hospitalizados. Los diagnósticos de ingreso más frecuentes fueron las enfermedades de origen neurológico (29%), seguidas de las hematológicas (16%), quirúrgicas e infecciosas (cada una 12%), y los oncológicos y cardiopatas (ambos 8.8%). Los diagnósticos gastrointestinales representaron 5.5%, mientras que las enfermedades renales y respiratorias constituyeron 3.3% cada una, y las hepatopatías solo representaron el 1.1%

En cuanto al estado nutricional, 43% de los pacientes se encontraban en condición eutrófica, 27% presentaban sobrepeso u obesidad y 30% mostraban desnutrición. La media de días de internamiento fue de 18 días (DE 34), con una edad promedio de 6.4 años (DE 5). El peso medio fue de 25 kg (DE 21), la talla promedio de 109 cm (DE 39) y el índice de masa corporal (IMC) de 17.3 kg/m<sup>2</sup> (DE 5.2)

Respecto a la edad gestacional al nacimiento, 79% de los pacientes nacieron a término (37–40 semanas), 12% fueron pretérmino (<36 semanas) y 8.8% postérmino (>40 semanas). La vía de nacimiento fue cesárea en 51% de los casos y parto vaginal en 49%. La lactancia materna se reportó en 75% de los pacientes. Solo 14% refirió asistencia a guardería en los primeros años de vida. En cuanto al esquema de vacunación, 64% contaba con esquema completo y 36% incompleto. Además, 63% tenía al menos una hospitalización previa y 37% habían sido sometidos algún procedimiento quirúrgico previamente.

### 6.2 Exposición a antibióticos, probióticos y suplementos nutricionales

En la cohorte, 75% de los pacientes habían recibido antibióticos en algún momento reciente, mientras que 26% refirió no haberlos utilizado. Entre quienes recibieron antibióticos, 52% lo hizo en la última semana, 16% en el último mes y 5.5% en los últimos seis meses.

El uso de probióticos fue menos frecuente: 7.7% reportó haberlos recibido, mientras que 92% negó su uso. Entre quienes sí los usaron, 6.6% lo hizo en los últimos seis meses y 1.1% en la última semana. El uso de suplementos con hierro se documentó en 11% de los pacientes; de ellos, 9.9% los había recibido en los últimos seis meses y 1.1% en el último mes, mientras que 89% no había utilizado hierro. Por su parte, el uso de multivitamínicos se observó en 21% de la cohorte, con 8.8% reportando uso en la última semana, 2.2% en el último mes y 9.9% en los últimos seis meses; 79% no los utilizaba.

### **6.3 Diagnósticos concomitantes y perfil terapéutico**

Entre los diagnósticos concomitantes, la presencia de leucemia fue la más frecuente (15%), seguida de obesidad (7.7%), neutropenia (5.5%), malformaciones congénitas (5.5%) y tumores sólidos (4.4%). También se identificaron casos de hidrocefalia (8.8%), fiebre sin foco aparente (8.8%), colitis neutropénica (1.1%), infecciones de vías urinarias (1.1%) y síndrome colestásico (2.2%). No se registraron casos de diarrea o encefalopatía como diagnósticos concomitantes en esta serie, mientras que el dengue estuvo presente en 4.4% de los pacientes.

Los antibióticos más utilizados fueron cefalotina en 21%, ceftriaxona en 14%, meropenem en 11% y ceftazidima y metronidazol en 9.9% cada uno. El uso de vancomicina fue de 19%, mientras que ampicilina, amikacina, cefotaxima, cefepime, linezolid, piperacilina/tazobactam, clindamicina, ciprofloxacino e imipenem se emplearon con menor frecuencia (entre 2.2% y 7.7%). No se documentó uso de otros antibióticos en esta cohorte.

### **6.4 Aislamiento de patógenos entéricos por coprocultivo dirigido, distribución de bacterias comensales e identificación de microbiota alterada**

En el coprocultivo el aislamiento fue limitado. Al desglosar el patrón de microbiota colibacilar, 12% presentó ausencia de microbiota colibacilar, 11% mostró disminución leve (+), 5.5% disminución moderada (++), 66% disminución marcada (+++) y solo 5.5% mantuvo un patrón considerado normal.

La microbiota alterada (definida por cambios en el patrón colibacilar) se reportó en 95% de los pacientes, mientras que la microbiota ausente se observó en 12%.

Dentro del análisis de las bacterias enteropatógenas por PCR, se identificó *Aeromonas* spp. en 2.2% de las muestras, mientras que no se detectaron casos de *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Clostridioides difficile*, *Yersinia* ni *Campylobacter* spp. en la serie analizada.

Mientras que en el análisis por PCR de las bacterias comensales, *Sutterella* spp. se detectó en 66% de los pacientes, *Ruminococcus torques* en 73% y *Ruminococcus gnavus* en 92%. No se identificó *Akkermansia muciniphila* en ninguna muestra.

**Tabla 1. Características clínicas, perinatales y de exposición antimicrobiana de los 91 pacientes pediátricos hospitalizados**

<b>Características clínicas</b>	<b>n (%) o media (DE)</b>
	n = 91
<b>Diagnóstico</b>	
<i>Cardiopatía</i>	8 (8.8%)
<i>Gastrointestinal</i>	5 (5.5%)
<i>Hematológico</i>	15 (16%)
<i>Hepatopatía</i>	1 (1.1%)
<i>Infeccioso</i>	11 (12%)
<i>Nefropatía</i>	3 (3.3%)
<i>Neurológico</i>	26 (29%)
<i>Oncológico</i>	8 (8.8%)
<i>Quirúrgico</i>	11 (12%)

<i>Respiratorio</i>	3 (3.3%)
<b>Estado nutricional</b>	
<i>Eutrófico</i>	39 (43%)
<i>Sobrepeso/ Obesidad</i>	25 (27%)
<i>Desnutrición</i>	27 (30%)
<b>Días de internamiento</b>	
<i>Días de internamiento</i>	18 (34)
<b>Edad y medidas antropométricas</b>	
<i>Edad en meses</i>	77 (61)
<i>Peso en kg</i>	25 (21)
<i>Talla en cm</i>	109 (39)
<i>IMC</i>	17.3 (5.2)
<b>Edad gestacional al nacimiento</b>	
<i>&lt;36 semanas</i>	11 (12%)
<i>&gt;40 semanas</i>	8 (8.8%)
<i>37-40 semanas</i>	72 (79%)
<b>Vía de nacimiento</b>	
<i>Cesárea</i>	46 (51%)
<i>Parto</i>	45 (49%)
<i>Recibió lactancia materna</i>	68 (75%)
<i>Asistencia a guardería en primeros años de vida</i>	13 (14%)

<b>Esquema de vacunación</b>	
Completo	58 (64%)
Incompleto	33 (36%)
<b>Hospitalizaciones previas</b>	57 (63%)
<b>Cirugías previas</b>	34 (37%)
<b>Uso de antibióticos</b>	
Uso de antibióticos	67 (74%)
No uso	24 (26%)
<b>Tiempo desde el uso de antibióticos</b>	
Última semana	47 (52%)
Último mes	15 (16%)
Últimos seis meses	5 (5.5%)
<b>Uso de probióticos</b>	
Uso de probióticos	7 (7.7%)
No uso	84 (92%)
<b>Tiempo desde el uso de probióticos</b>	
Últimos seis meses	6 (6.6%)
Últimos semana	1 (1.1%)
<b>Uso de suplementos con hierro</b>	
Uso de suplementos con hierro	10 (11%)
No uso	81 (89%)
<b>Tiempo desde el uso de hierro</b>	

<i>Último mes</i>	1 (1.1%)
<i>Últimos seis meses</i>	9 (9.9%)
<b><i>Uso de multivitamínicos</i></b>	
<i>Uso de multivitamínicos</i>	19 (21%)
<i>No uso</i>	72 (79%)
<b><i>Tiempo desde el uso de multivitamínicos</i></b>	
<i>Última semana</i>	8 (8.8%)
<i>Último mes</i>	2 (2.2%)
<i>Últimos seis meses</i>	9 (9.9%)
<b><i>Diagnósticos concomitantes</i></b>	
<i>Colitis neutropénica</i>	1 (1.1%)
<i>Neutropenia</i>	5 (5.5%)
<i>Fiebre</i>	8 (8.8%)
<i>Obesidad</i>	7 (7.7%)
<i>Leucemia</i>	14 (15%)
<i>Apendicitis</i>	3 (3.3%)
<i>Tumor sólido</i>	4 (4.4%)
<i>Infección de vías urinarias</i>	1 (1.1%)
<i>Hidrocefalia</i>	8 (8.8%)
<i>Síndrome Colestásico</i>	2 (2.2%)
<i>Dengue</i>	4 (4.4%)

### **Antibióticos usados**

<i>Ceftriaxona</i>	13 (14%)
<i>Cefalotina</i>	19 (21%)
<i>Ceftazidima</i>	9 (9.9%)
<i>Vancomicina</i>	17 (19%)
<i>Metronidazol</i>	9 (9.9%)
<i>Ampicilina</i>	2 (2.2%)
<i>Amikacina</i>	4 (4.4%)
<i>Cefotaxima</i>	4 (4.4%)
<i>Cefepime</i>	4 (4.4%)
<i>Meropenem</i>	10 (11%)
<i>Linezolid</i>	4 (4.4%)
<i>Piperacilina/tazobactam</i>	6 (6.6%)
<i>Clindamicina</i>	4 (4.4%)
<i>Ciprofloxacino</i>	3 (3.3%)
<i>Imipenem</i>	7 (7.7%)
<b>Patógenos aislados</b>	
<i>Aeromonas spp.</i>	2 (2.2%)
<b>Microbiota aislada</b>	
<i>Suterella spp</i>	60 (66%)
<i>Ruminococcus torques</i>	66 (73%)
<i>Ruminococcus gnavus</i>	84 (92%)

### MICROBIOTA EN COPROCULTIVO

<i>Microbiota colibacilar ausente</i>	11 (12%)
<i>Microbiota colibacilar disminuida +</i>	10 (11%)
<i>Microbiota colibacilar disminuida ++</i>	5 (5.5%)
<i>Microbiota colibacilar disminuida +++</i>	60 (66%)
<i>Microbiota colibacilar normal</i>	5 (5.5%)

Distribución de diagnósticos primarios, estado nutricional, medidas antropométricas, antecedentes perinatales y frecuencia de uso de antibióticos, probióticos y suplementos. Los datos se reportan como frecuencias absolutas (%) o medias (DE).

### 6.5 Comparación entre microbiota colibacilar presente y ausente

Al comparar a los pacientes con microbiota colibacilar presente (aproximadamente 88% de la cohorte) frente a aquellos con microbiota colibacilar ausente (12%), no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de patógenos enteropatógenos (incluyendo *Aeromonas* spp.) ni en la distribución de las bacterias comensales evaluadas (*Sutterella* spp., *R. torques*, *R. gnavus*). Por ejemplo, *Sutterella* spp. estuvo presente en 66% de los pacientes con microbiota y en 64% de aquellos con microbiota ausente/disminuida ( $p > 0.999$ ), mientras que *R. torques* se observó en 70% y 91%, respectivamente ( $p = 0.278$ ), y *R. gnavus* en 91% y 100% ( $p = 0.592$ ). Ninguna de estas diferencias alcanzó significancia estadística.

**Tabla 2. Comparación entre microbiota colibacilar presente vs. ausente en relación con bacterias patógenas y comensales**

<b>Variables</b>	<b>Microbiota colibacilar presente, n = 80<sup>1</sup></b>	<b>Microbiota colibacilar ausente, n = 11<sup>1</sup></b>	<b>p-value<sup>2</sup></b>
<b><i>Shigella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Aeromonas</i> spp.</b>	2 (2.5%)	0 (0%)	>0.999
<b><i>C.difficile</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	

<b><i>Yersinia</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Campylobacter spp.</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Sutterella spp.</i></b>	53 (66%)	7 (64%)	>0.999
<b><i>Akkermansia muciniphila</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Ruminococcus torques</i></b>	56 (70%)	10 (91%)	0.278
<b><i>Ruminococcus gnavus</i></b>	73 (91%)	11 (100%)	0.592

<sup>1</sup> Media (IC) o Frecuencia

<sup>2</sup> Fisher's exact test; Wilcoxon rank sum test; Pearson's Chi-squared test

Se presenta la frecuencia de patógenos enteropatógenos y comensales en ambos grupos como frecuencia absoluta y relativa.

## 6.6 Asociación entre uso de antibióticos y presencia/ausencia de microbiota

Al analizar el uso de antibióticos individuales en función de la presencia o ausencia de microbiota, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los antibióticos evaluados, incluyendo cefalosporinas de tercera y cuarta generación, vancomicina, metronidazol, carbapenémicos y otros fármacos ( $p > 0.05$  para todas las comparaciones). Las frecuencias de uso fueron similares entre los grupos con microbiota presente y ausente, lo que sugiere que la simple presencia/ausencia de microbiota, tal como se definió en este estudio, no se asoció de forma categórica con la exposición reciente a un antibiótico específico.

<b>Variables</b>	<b>Microbiota presente, n = 80<sup>1</sup></b>	<b>Microbiota ausente, n = 11<sup>1</sup></b>	<b>p-value<sup>2</sup></b>
<b>Ceftriaxona</b>	11 (14%)	2 (18%)	0.654
<b>Cefalotina</b>	17 (21%)	2 (18%)	>0.999
<b>Ceftazidima</b>	9 (11%)	0 (0%)	0.593
<b>Vancomicina</b>	17 (21%)	0 (0%)	0.117

<b>Metronidazol</b>	6 (7.5%)	3 (27%)	0.074
<b>Ampicilina</b>	2 (2.5%)	0 (0%)	>0.999
<b>Amikacina</b>	4 (5.0%)	0 (0%)	>0.999
<b>Cefotaxima</b>	3 (3.8%)	1 (9.1%)	0.408
<b>Cefepime</b>	4 (5.0%)	0 (0%)	>0.999
<b>Meropenem</b>	10 (13%)	0 (0%)	0.603
<b>Gentamicina</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Linezolid</b>	4 (5.0%)	0 (0%)	>0.999
<b>Piperacilina/ Tazobactam</b>	5 (6.3%)	1 (9.1%)	0.549
<b>Clindamicina</b>	4 (5.0%)	0 (0%)	>0.999
<b>Trimetoprim sulfametoaxol</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Ciprofloxacino</b>	3 (3.8%)	0 (0%)	>0.999
<b>Imipenem</b>	7 (8.8%)	0 (0%)	0.592
<sup>1</sup> Media (IC) o Frecuencia			
<sup>2</sup> Fisher's exact test; Wilcoxon rank sum test; Pearson's Chi-squared test			
Frecuencias de exposición reciente a antibióticos por fármaco y su comparación entre los grupos con microbiota colibacilar presente y ausente.			

## 6.7 Impacto de la vía de nacimiento en la distribución microbiana

Al comparar los pacientes nacidos por cesárea frente a aquellos nacidos por parto vaginal, no se observaron diferencias en la frecuencia de patógenos enteropatógenos, que fue muy baja en ambos grupos. Sin embargo, se identificó una mayor frecuencia de *Sutterella* spp. en los pacientes nacidos por parto vaginal (78%) en comparación con los nacidos por cesárea (54%), diferencia que alcanzó significancia estadística ( $p = 0.018$ ).

Las frecuencias de *R. torques* (74% vs. 71%;  $p = 0.765$ ) y *R. gnavus* (91% vs. 93%;  $p > 0.999$ ) fueron similares entre ambos grupos, sin diferencias significativas.

<b>Tabla 4. Asociación entre la vía de nacimiento y la presencia de bacterias patógenas y comensales</b>			
<b>Variables</b>	<b>Cesárea, n = 46<sup>1</sup></b>	<b>Parto, n = 45<sup>1</sup></b>	<b>p-value<sup>2</sup></b>
<b><i>Shigella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Aeromonas</i> spp.</b>	1 (2.2%)	1 (2.2%)	>0.999
<b><i>C.difficile</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Yersinia</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Campylobacter</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Patógenas</b>	1 (2.2%)	1 (2.2%)	>0.999
<b><i>Suterella</i> spp.</b>	25 (54%)	35 (78%)	0.018
<b><i>Akkermansia muciniphila</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Ruminococcus torques</i></b>	34 (74%)	32 (71%)	0.765
<b><i>Ruminococcus gnavus</i></b>	42 (91%)	42 (93%)	>0.999
<sup>1</sup> Media (IC) o Frecuencia			
<sup>2</sup> Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test; Wilcoxon rank sum test			
Se describen las frecuencias de aislamiento de bacterias patógenas enteropatógenas y de bacterias comensales en función de la vía de nacimiento. Los resultados se expresan como n (%) o media (intervalo de confianza). Las pruebas estadísticas utilizadas incluyen prueba exacta de Fisher, chi cuadrada de Pearson y prueba de Wilcoxon, según el tipo de variable.			

## 6.8 Correlaciones entre comensales, patógenos y exposiciones clínicas

En el análisis de correlaciones de Spearman, la presencia de bacterias comensales mostró una correlación negativa moderada con la presencia de bacterias patógenas ( $\rho = -0.333$ ;  $p = 0.001$ ), lo que indica que, a mayor presencia de comensales, menor probabilidad de aislar patógenos enteropatógenos. No se observaron correlaciones significativas entre la presencia global de comensales y el uso de antibióticos, probióticos, hierro o multivitamínicos ( $p > 0.05$  para todas).

De forma específica, *Sutterella* spp. mostró una correlación negativa con el uso de antibióticos ( $\rho = -0.258$ ;  $p = 0.014$ ) y una correlación positiva con la vía de nacimiento por parto vaginal ( $\rho = 0.247$ ;  $p = 0.018$ ). Estos hallazgos concuerdan con los resultados de las comparaciones categóricas descritas previamente.

**Tabla 5: Correlaciones de Spearman entre presencia de bacterias comensales, patógenas y diversas exposiciones clínicas**

			Spearman's rho	p
Presencia de bacterias Comensales	-	Uso de antibióticos	-0.125	.239
Presencia de bacterias Comensales	-	Uso de probióticos	-0.139	.188
Presencia de bacterias Comensales	-	Uso de suplementos con hierro	-0.096	.365
Presencia de bacterias Comensales	-	Uso de multivitamínicos	-0.154	.146
Presencia de bacterias Comensales	-	Presencia de bacterias Patógenas	-0.333	.001
<i>Sutterella</i> spp.	-	Uso de antibióticos	-0.258	.014
<i>Sutterella</i> spp.	-	Vía de nacimiento (parto)	0.247	.018

Se muestran coeficientes de correlación de Spearman ( $\rho$ ) y valores de  $p$  entre la presencia global de bacterias comensales o de *Sutterella* spp. y diversas variables clínicas y de exposición. Un valor de  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativo.

## 6.9 Comparación entre uso de probióticos y perfil microbiano

Al comparar pacientes sin uso de probióticos frente a aquellos con uso de probióticos, no se observaron diferencias significativas en la frecuencia de patógenos enteropatógenos ni en la presencia de comensales (*Sutterella* spp., *R. torques*, *R. gnavus*) (todas las  $p > 0.05$ ). Aunque se observó una menor proporción de *R. torques* en el grupo con probióticos (43% vs. 75%), esta diferencia no alcanzó significancia estadística ( $p = 0.087$ ). La frecuencia global de comensales fue alta en ambos grupos (96% vs. 86%;  $p = 0.278$ )

**Tabla 6. Comparación del perfil microbiano según uso o no uso de probióticos**

<b>Variabes</b>	<b>Sin uso, n = 84<sup>1</sup></b>	<b>Con uso, n = 7<sup>1</sup></b>	<b>p-value<sup>2</sup></b>
<b><i>Shigella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Aeromonas</i> spp.</b>	2 (2.4%)	0 (0%)	>0.999
<b><i>C.difficile</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Yersinia</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Campylobacter</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Patógenas</b>	2 (2.4%)	0 (0%)	>0.999
<b><i>Suterella</i> spp.</b>	56 (67%)	4 (57%)	0.686
<b><i>Akkermansia muciniphila</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Ruminococcus torques</i></b>	63 (75%)	3 (43%)	0.087
<b><i>Ruminococcus gnavus</i></b>	78 (93%)	6 (86%)	0.440
<b>Coprocultivo</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Comensales</b>	81 (96%)	6 (86%)	0.278

<sup>1</sup> Media (IC) o Frecuencia

<sup>2</sup> Fisher's exact test; Wilcoxon rank sum test

Se presentan las frecuencias de detección de bacterias patógenas enteropatógenas, comensales y resultado global de comensales en pacientes sin uso y con uso de probióticos. Los datos se expresan como n (%) o media (intervalo de

confianza). Las comparaciones se realizaron mediante prueba exacta de Fisher, prueba de Wilcoxon y chi cuadrada de Pearson, según el tipo de variable.

## 6.10 Comparación entre lactancia materna y composición microbiana

Finalmente, al estratificar por lactancia materna (sí/no), no se identificaron diferencias significativas en la frecuencia de patógenos enteropatógenos; *Aeromonas* spp. se aisló exclusivamente en el grupo con lactancia, pero en una proporción muy baja (2.9%;  $p > 0.999$ ). La frecuencia de *Sutterella* spp. fue similar entre los grupos con y sin lactancia (66% vs. 65%;  $p = 0.933$ ), al igual que la de *R. torques* (76% vs. 61%;  $p = 0.147$ ) y *R. gnavus* (93% vs. 91%;  $p > 0.999$ ).

En conjunto, la lactancia materna no mostró una asociación estadísticamente significativa con la presencia de patógenos enteropatógenos ni con la distribución de las bacterias comensales evaluadas en esta cohorte.

**Tabla 7. Comparación de la presencia de patógenos y comensales intestinales según antecedente de lactancia materna**

<b>Variables</b>	<b>Sin lactancia, n = 23<sup>1</sup></b>	<b>Con lactancia, n = 68<sup>1</sup></b>	<b>p-value<sup>2</sup></b>
<b><i>Shigella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Salmonella</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Aeromonas</i> spp.</b>	0 (0%)	2 (2.9%)	>0.999
<b><i>C.difficile</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Yersinia</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Campylobacter</i> spp.</b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b>Patógenas</b>	0 (0%)	2 (2.9%)	>0.999
<b><i>Suterella</i> spp.</b>	15 (65%)	45 (66%)	0.933
<b><i>Akkermansia muciniphila</i></b>	0 (0%)	0 (0%)	
<b><i>Ruminococcus torques</i></b>	14 (61%)	52 (76%)	0.147
<b><i>Ruminococcus gnavus</i></b>	21 (91%)	63 (93%)	>0.999
<sup>1</sup> Media (IC) o Frecuencia			
<sup>2</sup> Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test; Wilcoxon rank sum test			

*Se describen las frecuencias de bacterias patógenas enteropatógenas y de bacterias comensales en pacientes con y sin antecedente de lactancia materna. Los datos se expresan como n (%) o media (intervalo de confianza). Para las comparaciones se emplearon prueba exacta de Fisher, chi cuadrada de Pearson y prueba de Wilcoxon, según correspondiera.*

## CAPÍTULO VII: DISCUSIÓN

En este estudio describimos el perfil clínico y microbiológico de una cohorte de niños hospitalizados por diversas patologías médicas y quirúrgicas, con una alta exposición previa a antibióticos y comorbilidades relevantes. A pesar de tratarse de una población de alta complejidad, la recuperación de patógenos enteropatógenos clásicos en heces fue muy baja, mientras que la detección de ciertas bacterias comensales (particularmente *Sutterella* spp., *Ruminococcus torques* y *Ruminococcus gnavus*) fue elevada, en el contexto de un patrón generalizado de microbiota colibacilar disminuida o alterada. Además, observamos asociaciones específicas entre la presencia de *Sutterella* spp. con menor uso de antibióticos y con nacimiento por parto vaginal, así como una correlación inversa entre la presencia global de comensales y la detección de bacterias patógenas. Estos hallazgos aportan evidencia sobre cómo la suma de exposiciones perinatales y hospitalarias modula la microbiota intestinal en niños.

Al comparar nuestros resultados con otras series de niños hospitalizados, la experiencia más cercana es la de Taco-Masias et al., quienes evaluaron la prevalencia de 13 bacterias representativas de la microbiota intestinal en niños menores de cinco años con gastroenteritis aguda infecciosa en un hospital peruano. (29) En ese estudio, la frecuencia de bacterias comensales fue alta, y la lactancia se asoció con mayor carga de microbiota, mientras que la etiología viral o bacteriana del cuadro influía en el perfil de especies detectadas. Nuestra muestra en cambio estaba compuesta en su mayoría por pacientes hospitalizados por diagnósticos no gastrointestinales y con una proporción importante de enfermedades onco-hematológicas y neurológicas, la ausencia práctica de patógenos como *Salmonella* spp., *Shigella* spp. o *Campylobacter* spp. y la baja frecuencia de *Aeromonas* spp. probablemente reflejan que el motivo de hospitalización no era principalmente la diarrea aguda y que muchos pacientes habían recibido antibióticos de amplio espectro antes de la toma de la muestra. Es entonces, que los contextos de hospitalización prolongada y tratamiento antimicrobiano, la disbiosis se manifiesta

más como pérdida o alteración de la microbiota comensal que un aumento en la frecuencia de detección de enteropatógenos clásicos.

El hallazgo de una alta proporción de microbiota colibacilar disminuida o ausente, es compatible con un estado de disbiosis, donde coexisten elementos de pérdida de diversidad y de recolonización parcial. Estudios en niños hospitalizados, especialmente inmunocomprometidos, han demostrado que la hospitalización y los antimicrobianos reducen la diversidad microbiana, favorecen la pérdida de ciertos taxones y aumentan la colonización por *Clostridioides difficile* y otros potenciales patógenos oportunistas. (30) Aunque en nuestros pacientes no se detectó *C. difficile*, la combinación de un patrón colibacilar severamente disminuido y una microbiota “alterada” en la mayoría de los pacientes es congruente con esta literatura y sugiere que los efectos de la exposición antibiótica y de la hospitalización se manifiestan más en la estructura global de la comunidad que en la presencia de un patógeno específico.

La correlación negativa entre la presencia global de bacterias comensales y la detección de bacterias patógenas, lo que refuerza el papel clásico de la microbiota como barrera de colonización. Esta asociación se ha observado repetidas veces en múltiples estudios que muestran que una microbiota diversa y rica en anaerobios estrictos confiere resistencia frente a enteropatógenos, y la pérdida de taxones clave se asocia con mayor susceptibilidad a infecciones gastrointestinales y sistémicas. (31,32) En nuestro caso, aun con una cohorte muy expuesta a antibióticos, los pacientes que conservaron un perfil de comensales más robusto mostraron menor probabilidad de albergar patógenos detectables por las pruebas empleadas, lo que sugiere que la preservación de ciertos grupos bacterianos podría tener relevancia clínica incluso en escenarios de manejo intrahospitalario.

Observamos que *Sutterella* spp. fue significativamente menos frecuente en los pacientes que habían recibido antibióticos recientes y más frecuente en aquellos nacidos por parto vaginal.

Diversos trabajos sobre desarrollo temprano de la microbiota señalan que la cesárea se asocia con una colonización intestinal inicial distinta, con reducción de géneros como *Bacteroides*, *Parabacteroides* y *Sutterella* durante las primeras semanas o meses de vida. (33,34) Además, revisiones recientes resaltan que el modo de parto, la edad gestacional y la exposición perinatal a antibióticos tienen un efecto duradero sobre la microbiota, que pueden persistir más allá de la lactancia y la primera infancia. El hecho de que, en una población pediátrica más grande y hospitalizada, aún podamos detectar una mayor frecuencia de *Sutterella* en niños nacidos por parto vaginal, y una disminución asociada a la exposición antibiótica, nos habla de cómo estos estímulos o exposiciones tempranas no desaparecen por completo y se superponen con exposiciones posteriores.

No encontramos asociaciones estadísticamente significativas entre la lactancia materna y la presencia de las bacterias comensales estudiadas. Esto difiere de lo descrito por Taco-Masias et al., quienes observaron una mayor abundancia de microbiota beneficiosa en lactantes con lactancia exclusiva o mixta. (29) Esta diferencia puede ser explicada por varias diferencias metodológicas y de población: nuestra cohorte incluye niños de edades mucho más amplias, muchos fuera de la ventana crítica de colonización inicial, con múltiples hospitalizaciones y uso de antibióticos, lo que probablemente disminuye el efecto de la lactancia sobre el microbioma. Sumado a eso, el diseño transversal, el tamaño muestral limitado y la ausencia de información detallada sobre duración y exclusividad de la lactancia reducen la capacidad para detectar asociaciones más sutiles, en comparación con estudios diseñados específicamente para evaluar exposiciones perinatales y microbiota temprana.

Algo similar ocurre con el uso de probióticos, donde no observamos diferencias significativas en la presencia de patógenos o comensales. Esto es congruente con la evidencia de que, en muchos contextos, los probióticos producen una colonización mayoritariamente transitoria, con efectos discretos y cepa-dependientes sobre la composición global de la microbiota. (35,36) Varios estudios

señalan que, tras suspender el probiótico, las cepas administradas tienden a desaparecer o persistir solo durante periodos cortos, y que la magnitud de los cambios en la microbiota de base es modesta, especialmente en huéspedes con microbiota ya establecida y múltiples comorbilidades (37). En nuestra cohorte, el número de niños que había recibido probióticos fue además muy reducido, lo que limita aún más la potencia estadística; por ello, la ausencia de diferencias significativas debe interpretarse con cautela y no como evidencia de ausencia de efecto biológico.

La ausencia completa de *Akkermansia muciniphila* en las muestras analizadas también resulta interesante, dado que esta especie se ha asociado en otras poblaciones pediátricas con perfiles metabólicos y alérgicos específicos, y puede aumentar tras determinadas intervenciones probióticas o dietéticas. (32,38) Es posible que la combinación de hospitalización, uso intensivo de antibióticos, patología de base y la propia edad de los pacientes condicionen un entorno luminal poco favorable para *Akkermansia*, o bien que las técnicas empleadas (panel dirigido y no secuenciación 16S) no capten bajas abundancias de esta bacteria.

Desde el punto de vista clínico, nuestros hallazgos apoyan la noción de que los niños hospitalizados con enfermedades complejas presentan una disbiosis intestinal marcada, caracterizada menos por la presencia de grandes cargas de enteropatógenos clásicos y más por patrones de microbiota colibacilar disminuida y alteraciones en grupos comensales clave. Revisiones recientes sobre microbioma en enfermedades pediátricas sugieren que esta disbiosis puede contribuir tanto a complicaciones infecciosas como a desenlaces nutricionales, inflamatorios y neurodesarrollo a largo plazo. (39) La correlación negativa entre comensales y patógenos, y las asociaciones de *Sutterella* con parto vaginal y menor exposición antibiótica, apuntan a potenciales biomarcadores de resiliencia microbiana que merecen ser explorados en estudios longitudinales.

Este trabajo presenta varias limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio transversal de un solo centro, sin grupo control de niños sanos de la comunidad, lo que impide establecer causalidad y limita la generalización de los resultados. En segundo lugar, el tamaño muestral total es moderado y algunos subgrupos (por ejemplo, niños con probióticos o con ciertas comorbilidades específicas) son pequeños, reduciendo la potencia para detectar diferencias. En tercer lugar, utilizamos un panel dirigido de detección bacteriana y no una aproximación metagenómica o de 16S rRNA, de modo que solo pudimos evaluar un número limitado de taxones y no la diversidad alfa/beta ni la estructura completa de la comunidad. Finalmente, no se contó con información detallada sobre dieta actual, uso acumulado de antibióticos a lo largo de la vida ni exposiciones ambientales, factores que se sabe influyen de manera importante sobre la microbiota.

Entre las fortalezas del estudio destacan la caracterización clínica detallada de una cohorte pediátrica hospitalaria diversa, la integración de múltiples exposiciones relevantes (antibióticos, probióticos, suplementos, vía de nacimiento, lactancia) y el análisis combinado de patógenos y comensales intestinales. Estos elementos permiten generar hipótesis claras: que ciertos grupos comensales, como *Sutterella* y *Ruminococcus* spp., podrían actuar como marcadores de un microbioma relativamente más “resiliente” frente a la presión de antibióticos y hospitalización; y que las huellas perinatales (modo de parto) siguen siendo detectables años después, modulando la composición microbiana en niños con enfermedades complejas. Futuros estudios longitudinales, con técnicas de alta resolución y grupos de comparación sanos, serán necesarios para confirmar estos hallazgos y explorar si intervenciones dirigidas (por ejemplo, estrategias de reducción de antibióticos, probióticos de nueva generación o moduladores dietéticos) pueden restaurar o reforzar estos componentes de la microbiota en población pediátrica hospitalizada.

## CAPÍTULO VIII: CONCLUSIÓN

Al interrogar la microbiota de pacientes pediátricos hospitalizados documentamos una baja frecuencia de microorganismos enteropatógenos en coprocultivo dirigido, en contraste con una alta prevalencia de disbiosis colibacilar y de bacterias comensales seleccionadas. Las alteraciones de la microbiota van orientadas hacia un fenómeno de remodelación que a la presencia de un microorganismos patogénicos. La correlación negativa entre comensales potencialmente beneficiosos y bacterias patógenas respalda el papel de la microbiota como modulador de colonización y, eventualmente, del riesgo de infección gastrointestinal en estos niños. Asimismo, la menor frecuencia de *Sutterella* spp. en quienes recibieron antibióticos recientes y en los nacidos por cesárea apunta a que tanto las exposiciones farmacológicas intrahospitalarias como los factores perinatales dejan huellas persistentes en la composición microbiana intestinal.

## CAPÍTULO IX: BIBLIOGRAFÍA

1. Aroniadis OC, Grinspan AM. The Gut Microbiome: A Primer for the Clinician. *Am J Gastroenterol*. 1 de enero de 2024;119(1S):S2-6.
2. Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci CMLS*. febrero de 2019;76(3):473-93.
3. Mangiola F, Ianiro G, Franceschi F, Fagioli S, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Gut microbiota in autism and mood disorders. *World J Gastroenterol*. 7 de enero de 2016;22(1):361-8.
4. Toro Monjaraz EM, Ignorosa Arellano KR, Loredó Mayer A, Palacios-González B, Cervantes Bustamante R, Ramírez Mayans JA. Gut Microbiota in Mexican Children With Acute Diarrhea: An Observational Study. *Pediatr Infect Dis J*. 1 de agosto de 2021;40(8):704-9.
5. Xiao Q, Chen B, Zhu Z, Yang T, Tao E, Hu C, et al. Alterations in the Fecal Microbiota Composition in Pediatric Acute Diarrhea: A Cross-Sectional and Comparative Study of Viral and Bacterial Enteritis. *Infect Drug Resist*. 21 de agosto de 2023;16:5473-83.
6. Clemente JC, Ursell LK, Parfrey LW, Knight R. The Impact of the Gut Microbiota on Human Health: An Integrative View. *Cell*. 16 de marzo de 2012;148(6):1258-70.
7. Milani C, Duranti S, Bottacini F, Casey E, Turrone F, Mahony J, et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR*. diciembre de 2017;81(4):e00036-17.
8. Fouhy F, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C, Cotter PD. Composition of the early intestinal microbiota. *Gut Microbes*. 1 de mayo de 2012;3(3):203-20.
9. Zmora N, Suez J, Elinav E. You are what you eat: diet, health and the gut microbiota. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. enero de 2019;16(1):35-56.
10. Ramirez J, Guarner F, Bustos Fernandez L, Maruy A, Sdepanian VL, Cohen H. Antibiotics as Major Disruptors of Gut Microbiota. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:572912.
11. Kim S, Covington A, Pamer EG. The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. *Immunol Rev*. septiembre de 2017;279(1):90-105.
12. The HC, Florez de Sessions P, Jie S, Pham Thanh D, Thompson CN, Nguyen Ngoc Minh C, et al. Assessing gut microbiota perturbations during the early phase of infectious diarrhea in Vietnamese children. *Gut Microbes*. 24 de agosto de 2017;9(1):38-54.
13. Hibberd MC, Wu M, Rodionov DA, Li X, Cheng J, Griffin NW, et al. The effects of micronutrient deficiencies on bacterial species from the human gut

- microbiota. *Sci Transl Med*. 17 de mayo de 2017;9(390):eaal4069.
14. Isaac S, Scher JU, Djukovic A, Jiménez N, Littman DR, Abramson SB, et al. Short- and long-term effects of oral vancomycin on the human intestinal microbiota. *J Antimicrob Chemother*. 1 de enero de 2017;72(1):128-36.
  15. Singh P, Teal TK, Marsh TL, Tiedje JM, Mosci R, Jernigan K, et al. Intestinal microbial communities associated with acute enteric infections and disease recovery. *Microbiome*. 22 de septiembre de 2015;3:45.
  16. Liu H, Guo M, Jiang Y, Cao Y, Qian Q, He X, et al. Diagnosing and tracing the pathogens of infantile infectious diarrhea by amplicon sequencing. *Gut Pathog*. 6 de abril de 2019;11:12.
  17. Walker's Pediatric Gastrointestinal Disease: Physiology, Diagnosis, Management [Internet]. [citado 21 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.wolterskluwer.com/en/solutions/ovid/walkers-pediatric-gastrointestinal-disease-physiology-diagnosis-management-8161>
  18. Dahiya D, Nigam PS. The Gut Microbiota Influenced by the Intake of Probiotics and Functional Foods with Prebiotics Can Sustain Wellness and Alleviate Certain Ailments like Gut-Inflammation and Colon-Cancer. *Microorganisms*. 20 de marzo de 2022;10(3):665.
  19. Scarpellini E, Basilico M, Rinninella E, Carbone F, Schol J, Rasetti C, et al. Probiotics and gut health. *Minerva Gastroenterol*. diciembre de 2021;67(4):314-25.
  20. Bager P, Wohlfahrt J, Westergaard T. Caesarean delivery and risk of atopy and allergic disease: meta-analyses. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*. abril de 2008;38(4):634-42.
  21. Hou K, Wu ZX, Chen XY, Wang JQ, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 23 de abril de 2022;7:135.
  22. Bezirtzoglou E, Tsiotsias A, Welling GW. Microbiota profile in feces of breast- and formula-fed newborns by using fluorescence in situ hybridization (FISH). *Anaerobe*. diciembre de 2011;17(6):478-82.
  23. Margolis KG, Cryan JF, Mayer EA. The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*. abril de 2021;160(5):1486-501.
  24. Perez-Muñoz ME, Arrieta MC, Ramer-Tait AE, Walter J. A critical assessment of the “sterile womb” and “in utero colonization” hypotheses: implications for research on the pioneer infant microbiome. *Microbiome*. 28 de abril de 2017;5:48.
  25. Fraher MH, O'Toole PW, Quigley EMM. Techniques used to characterize the gut microbiota: a guide for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 27 de marzo de 2012;9(6):312-22.
  26. Williams BL, Hornig M, Parekh T, Lipkin WI. Application of Novel PCR-Based Methods for Detection, Quantitation, and Phylogenetic Characterization of

- Sutterella Species in Intestinal Biopsy Samples from Children with Autism and Gastrointestinal Disturbances. Biron C, editor. *mBio*. 2012 Jan 10;3(1).
27. Hiippala K, Kainulainen V, Kalliomäki M, Arkkila P, Satokari R. Mucosal Prevalence and Interactions with the Epithelium Indicate Commensalism of *Sutterella* spp. *Frontiers in Microbiology*. 2016. Oct 26.
  28. Png CW, Lindén SK, Gilshenan KS, Zoetendal EG, McSweeney CS, Sly LI, et al. Mucolytic bacteria with increased prevalence in IBD mucosa augment in vitro utilization of mucin by other bacteria. *The American Journal of Gastroenterology* 2010 Nov 1;105(11):2420-8.
  29. Taco-Masias AA, Fernandez-Aristi AR, Cornejo-Tapia A, Aguilar-Luis MA, Del Valle LJ, Silva-Caso W, et al. Gut microbiota in hospitalized children with acute infective gastroenteritis caused by virus or bacteria in a regional Peruvian hospital. *PeerJ*. 2020;8:e9964.
  30. Mohandas S, Soma VL, Tran TDB, Sodergren E, Ambooken T, Goldman DL, et al. Differences in Gut Microbiome in Hospitalized Immunocompetent vs. Immunocompromised Children, Including Those With Sickle Cell Disease. *Front Pediatr*. 2020;8:583446.
  31. Arrieta MC, Stiemsma LT, Amenyogbe N, Brown EM, Finlay B. The intestinal microbiome in early life: health and disease. *Front Immunol*. 2014;5:427.
  32. Bankole T, Li Y. The early-life gut microbiome in common pediatric diseases: roles and therapeutic implications. *Front Nutr*. 2025;12:1597206.
  33. Princival L, Rebelo F, Williams BL, Coimbra AC, Crovesy L, Ferreira AL, et al. Association Between the Mode of Delivery and Infant Gut Microbiota Composition Up to 6 Months of Age: A Systematic Literature Review Considering the Role of Breastfeeding. *Nutr Rev*. 8 de diciembre de 2021;80(1):113-27.
  34. Wang J, Lin L. Early-life gut microbiota development from maternal vertical transmission. *Gynecol Obstet Clin Med*. 1 de junio de 2021;1(2):79-82.
  35. Horne RG, Freedman SB, Johnson-Henry KC, Pang XL, Lee BE, Farion KJ, et al. Intestinal Microbial Composition of Children in a Randomized Controlled Trial of Probiotics to Treat Acute Gastroenteritis. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:883163.
  36. van Best N, Trepels-Kottek S, Savelkoul P, Orlikowsky T, Hornef MW, Penders J. Influence of probiotic supplementation on the developing microbiota in human preterm neonates. *Gut Microbes*. 9 de noviembre de 2020;12(1):1-16.
  37. O'Brien CE, Meier AK, Cernioglo K, Mitchell RD, Casaburi G, Frese SA, et al. Early probiotic supplementation with *B. infantis* in breastfed infants leads to persistent colonization at 1 year. *Pediatr Res*. febrero de 2022;91(3):627-36.
  38. Mennini M, Reddel S, Del Chierico F, Gardini S, Quagliariello A, Vernocchi P, et al. Gut Microbiota Profile in Children with IgE-Mediated Cow's Milk

- Allergy and Cow's Milk Sensitization and Probiotic Intestinal Persistence Evaluation. *Int J Mol Sci.* 6 de febrero de 2021;22(4):1649.
39. Dai K, Ding L, Yang X, Wang S, Rong Z. Gut Microbiota and Neurodevelopment in Preterm Infants: Mechanistic Insights and Prospects for Clinical Translation. *Microorganisms.* 22 de septiembre de 2025;13(9):2213.