



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

## TRABAJO FIN DE MÁSTER

**Inmunoterapia con calostro orofaríngeo:  
Impacto en la microbiota oral y fecal de  
prematuros  $\leq 32$  semanas y/o  $\leq 1500$  gramos**

**Código de autorización COIR:** TFM.MMC.EMGC.PCG.240509

**Alumna:** Paula Cerdá Guilabert

**Tutora:** Eva María García Cantó

**Curso:** 2023-2024

## **Resumen**

Marco teórico: Los recién nacidos prematuros y/o de muy bajo peso son inmunológicamente inmaduros y presentan más riesgo de complicaciones relacionadas con la disbiosis, como enterocolitis necrotizante y sepsis. Se ha demostrado que la administración precoz de calostro orofaríngeo incrementa los niveles de sustancias defensivas, como la lactoferrina y la IgA, y favorece la tolerancia enteral. Estos beneficios se relacionan con el estímulo local del tejido linfoide y con la alteración de la microbiota en favor de bacterias protectoras.

Objetivos: El objetivo principal es describir los cambios que se producen en la microbiota oral y fecal de recién nacidos prematuros y/o de muy bajo peso con la administración precoz de calostro orofaríngeo, diferenciando si procede de su propia madre o de banco de leche. Los objetivos secundarios son analizar marcadores inmunológicos, con especial interés en la IgA, valorar parámetros clínicos, sobre todo de tolerancia enteral, y evaluar la seguridad del procedimiento de forma precisa.

Métodos: Se trata de un estudio analítico experimental aleatorizado multicéntrico tipo ensayo clínico doble ciego. Se definirá un grupo intervención y un grupo control, que recibirán una pauta de calostro o placebo, respectivamente, iniciado en las primeras 12 horas de vida durante 5 días. Se recogerán 3 muestras de saliva y heces: antes de la intervención, entre el 5º y el 7º día y a las 2 semanas de vida. Se analizarán las inmunoglobulinas A, M y G al nacimiento, a las 2 y a las 4 semanas de vida.

## **Palabras clave**

Prematuro; calostro; lactancia materna; microbiota; inmunoterapia

## **Abstract**

Background: Premature and/or very low weight newborns are immunologically immature and have higher risk of complications related to dysbiosis, such as necrotizing enterocolitis and sepsis. It has been shown that early administration of oropharyngeal colostrum increases the levels of defensive substances, such as lactoferrin and IgA, and promotes enteral tolerance. These benefits are related to the local stimulation of lymphoid tissue and the alteration of the microbiota in favor of protective bacteria.

Objectives: The main objective is to describe the changes that occur in the oral and fecal microbiota of premature and/or very low weight newborns with the early administration of oropharyngeal colostrum, differentiating whether it comes from their own mother or from a milk bank. The secondary objectives are to analyze immunological markers, with special interest in IgA, assess clinical parameters, especially enteral tolerance, and accurately evaluate the safety of the procedure.

Methods: This is a multicenter randomized experimental analytical study type double-blind clinical trial. An intervention group and a control group will be defined, which will receive a regimen of colostrum or placebo, respectively, started in the first 12 hours of life for 5 days. 3 samples of saliva and feces will be collected: before the intervention, between the 5th and 7th day and at 2 weeks of age. Immunoglobulins A, M and G will be analyzed at birth, at 2 and 4 weeks of life.

## **Keywords**

Premature; colostrum; human milk; microbiota; immunotherapy

# ÍNDICE

▪ <b>Aspectos preliminares:</b>	
○ Resumen / Palabras clave.....	2
○ Abstract / Keywords.....	3
▪ <b>Cuerpo del TFM:</b>	
○ Introducción: Estado actual del tema.....	5
○ Hipótesis.....	9
○ Objetivos.....	9
○ Metodología.....	10
a. Diseño, lugar y tiempo de ejecución.....	10
b. Sujetos.....	10
c. Tamaño muestral y procedimiento.....	11
d. Variables a estudio.....	11
e. Recogida de variables.....	12
f. Análisis de datos.....	13
g. Dificultades y limitaciones.....	14
○ Plan de trabajo.....	15
○ Aspectos éticos.....	15
○ Aplicabilidad y utilidad de resultados.....	16
○ Presupuesto.....	17
▪ <b>Bibliografía.....</b>	<b>18</b>

## Introducción: Estado actual del tema

Los recién nacidos prematuros y/o de muy bajo peso son inmunológicamente inmaduros y presentan más riesgo de complicaciones, como enterocolitis necrotizante y sepsis<sup>(1)</sup>. En ellos, los beneficios de la lactancia materna frente a las fórmulas artificiales han sido ampliamente descritos y han llevado a la creación de bancos de leche materna donada<sup>(2)</sup>.

El calostro se produce en los primeros días tras el parto y contiene una elevada cantidad de IgA secretora, lactoferrina, citoquinas antiinflamatorias y factores de crecimiento, comparado con la leche madura. La concentración de estos factores inmunoprotectores es mayor en la leche de madres de recién nacidos pretérmino que en aquellos nacidos a término<sup>(3)</sup>. Recientemente se ha extendido la administración de calostro orofaríngeo en neonatos prematuros durante las primeras horas vida. Varios estudios han demostrado que es una terapia segura<sup>(5)</sup>, que incrementa los niveles de sustancias defensivas, como la lactoferrina y la IgA<sup>(3,4)</sup>, y que favorece la tolerancia a la nutrición enteral<sup>(1,5)</sup>. También se ha postulado que podría proteger frente a enterocolitis necrotizante, sepsis, neumonía asociada a ventilación o displasia broncopulmonar, pero la evidencia existente hasta la fecha es inconsistente<sup>(1,5,6,7)</sup>.

En una revisión sistemática reciente, de Nasuf AWA et al<sup>(5)</sup>, incluyen 6 estudios que comparan la administración precoz de calostro orofaríngeo, en las primeras 48 horas, en recién nacidos prematuros <37 semanas de gestación frente a otras estrategias (placebo, no calostro, calostro tardío o nasogástrico). Se concluye que la evidencia disponible hasta la fecha es de baja calidad (pequeño tamaño muestral e imprecisión), y que no existen diferencias significativas respecto a la incidencia de enterocolitis necrotizante, sepsis tardía, displasia broncopulmonar, retinopatía o mortalidad. Sí se objetiva que se alcanza la nutrición enteral completa más precozmente de forma significativa, con una media de 2.58 días menos. No se han notificado efectos adversos, aunque los datos en muchas ocasiones son insuficientes y descriptivos, no numéricos.

Respecto a la influencia sobre la respuesta inmune, un ensayo clínico reciente de 2022<sup>(1)</sup>, aleatorizado y doble ciego, compara en 106 pacientes de  $\leq 32$  semanas de gestación la administración de calostro (materno propio o donado pasteurizado) frente a

placebo, y analiza las concentraciones séricas de inmunoglobulinas. Se objetiva que el grupo calostro presenta de forma significativa una duración menor para completar nutrición enteral, alcanzar el peso al nacimiento y ser dado de alta. Se observa un aumento de IgA en el grupo calostro a los 7 y a los 28 días (multiplicado por 3.8 y 5, respectivamente), con una diferencia estadísticamente significativa el día 28. También se identifica un descenso significativo de IgG y un ascenso significativo de IgM en ambos grupos.

Otro ensayo clínico aleatorizado<sup>(3)</sup>, también comparado con placebo, realizado en prematuros extremos de <28 semanas de gestación, muestra un incremento significativo de los factores inmunodefensivos IgA y lactoferrina en orina en el grupo calostro. Por otra parte, se objetiva en el grupo calostro un descenso significativo de IL-1 $\beta$  en orina y de TGF- $\beta$ 1 e IL-8 en saliva, todos ellos relacionados con la inflamación de la mucosa intestinal. El estudio de Martín-Álvarez E et al<sup>(4)</sup> también muestra un incremento significativo de IgA en el grupo calostro al mes de la intervención, que podría reflejar un estímulo de la producción endógena de IgA.

Estos hallazgos estarían en relación con el estímulo del tejido linfoide a nivel local y con la alteración de la microbiota oral, que a su vez condiciona la colonización del resto del tracto gastrointestinal<sup>(6,7)</sup>. El establecimiento de la microbiota es un proceso dinámico que se inicia en la etapa intrauterina y que está condicionado por factores perinatales como el tipo de parto, la administración de profilaxis antibiótica o la diabetes gestacional. Sin embargo, su principal determinante es el tipo de alimentación recibida<sup>(8)</sup>.

La leche materna contiene una microbiota específica que actúa como fuente de bacterias probióticas para la colonización intestinal del recién nacido. Este proceso es muy importante en el prematuro, particularmente vulnerable a las alteraciones microbianas que predisponen a enfermedades como la enterocolitis necrotizante o la sepsis. Sin embargo, no siempre es posible alimentar a los recién nacidos pretérmino y/o de muy bajo peso con la leche de sus propias madres. En estos casos se emplea leche donada, que presenta una microbiota diferente, en parte porque se altera con el proceso de pasteurización y en parte porque suele proceder de madres de recién nacidos a término<sup>(9)</sup>.

En el ensayo clínico de Sohn K et al<sup>(6)</sup>, se analizaron las muestras orales de neonatos  $\leq 1500$  g expuestos a la administración de calostro orofaríngeo durante 46 horas. Se observó una diferencia significativa en la cantidad de *Staphylococcus* a las 96 horas (73% grupo placebo vs 17% grupo calostro). Con este estudio, se refuerza la hipótesis de que la microbiota oral del prematuro se altera con la administración de calostro, pero los cambios entre ambos grupos no fueron tan importantes como las diferencias en el mismo grupo a lo largo del tiempo. En un estudio observacional posterior<sup>(7)</sup>, de similares características, realizado en prematuros de 28 a 35 semanas de edad gestacional, se objetivó un incremento de bacterias beneficiosas tras el uso de calostro orofaríngeo, como *Bifidobacterium* y *Bacteroides*. Además, se demostró que la microbiota oral es dinámica y cambia a lo largo del tiempo. En este estudio, el uso de leche materna donada era superior a la procedente de su propia madre. En ambos trabajos no se observaron diferencias en los resultados clínicos.

Por otra parte, en cuanto a la comparación con la leche materna donada, en el estudio piloto de 2022 de Beghetti et al<sup>(9)</sup>, se ha observado un predominio de *Staphylococcus*, significativamente superior en la microbiota de las madres de recién nacidos pretérmino, hecho que se atribuye a una mayor exposición al entorno hospitalario y al contacto con la piel de los prematuros hospitalizados, además de a una limitación del amamantamiento directo. Por otra parte, se ha objetivado una depleción significativa de la cantidad de *Pseudomonas* en la leche de madres de prematuros, y una mayor proporción no significativa de *Streptococcus* en la leche materna donada. En cuanto al efecto de la pasteurización, se ha detectado un descenso de la abundancia relativa de *Staphylococcus* y un aumento de *Streptococcus* y *Pseudomonas*, aunque de forma no significativa. Además, recientemente se está describiendo que las bacterias de la leche materna pasteurizada, incluso cuando ya no son viables, todavía pueden estimular el sistema inmune del recién nacido y contribuir al establecimiento de la microbiota intestinal simbiótica (“ghost probiotics” o “postbiotics”).

A pesar de la importancia de la microbiota en grandes prematuros y/o de muy bajo peso, son pocos los estudios que han analizado el impacto que tiene en ella el uso del calostro orofaríngeo como terapia inmune. Por tanto, resulta de gran interés su estudio, atendiendo a posibles diferencias en función de si el calostro procede de su propia madre o de banco de leche tras proceso de pasteurización.

Se formuló la siguiente pregunta PICO como guía para la investigación:

- (P) Población a estudio: Recién nacidos prematuros con edad gestacional  $\leq 32$  semanas y/o peso  $\leq 1500$  g que ingresan al nacimiento en UCI neonatal o Neonatología
- (I) Intervención: Calostro orofaríngeo, administrado directamente sobre las mejillas e iniciado en las primeras horas de vida, diferenciando el procedente de su propia madre y el de leche donada
- (C) Población de control: Recién nacidos prematuros con edad gestacional  $\leq 32$  semanas y/o peso  $\leq 1500$  g que reciben los cuidados habituales, incluyendo nutrición parenteral y enteral trófica
- (O) Resultados: Cambios en la microbiota oral e intestinal, influencia sobre parámetros inmunes (sobre todo inmunoglobulina A), evolución clínica de los pacientes (incluyendo aparición enterocolitis necrotizante, sepsis y mortalidad, y duración antibioterapia, ventilación mecánica y hospitalización), y tolerancia a nutrición enteral (analizando momento de inicio, tiempo hasta alcanzar nutrición enteral completa, ganancia ponderal y días de nutrición parenteral)

De esta forma, la cuestión a la que se pretende dar respuesta con el estudio sería:  
¿Cuál es el impacto de administración precoz de calostro orofaríngeo sobre la microbiota oral y fecal de los recién nacidos prematuros de  $\leq 32$  semanas de gestación y/o peso  $\leq 1500$  gramos?

## **Hipótesis**

La microbiota oral y fecal de los recién nacido pretérmino y/o de muy bajo peso se modifica con la administración de calostro orofaríngeo en las primeras horas de vida, y es diferente según si este procede de su propia madre o de banco de leche.

## **Objetivos**

El objetivo principal de este trabajo es describir los cambios que se producen en la microbiota oral y fecal de recién nacidos prematuros y/o de muy bajo peso con la administración precoz de calostro orofaríngeo, diferenciando si procede de su propia madre o de banco de leche.

Como objetivos secundarios se establecen:

- 1) Analizar marcadores inmunológicos, con especial interés en la IgA
- 2) Valorar parámetros clínicos, sobre todo relacionados con la tolerancia enteral
- 3) Evaluar la seguridad del procedimiento de forma precisa

## **Metodología**

### Diseño, lugar y tiempo de ejecución

Se trata de un proyecto de estudio analítico experimental aleatorizado tipo ensayo clínico doble ciego. Se desarrollará de forma multicéntrica en las unidades de Neonatología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca y el Hospital General Universitario Santa Lucía, en Murcia, España. Los pacientes serán reclutados de forma consecutiva y asignados de forma aleatoria en proporción 1:1 a un grupo intervención (calostro) o a un grupo control (placebo). Los recién nacidos de gestaciones gemelares serán aleatorizados al mismo grupo. La fase de reclutamiento abarcará inicialmente desde el 1 de septiembre de 2024 hasta el 31 de agosto de 2025, extensible en función de tamaño muestral alcanzado y disponibilidad de medios.

### Sujetos

Se estableció como criterio de inclusión la edad gestacional inferior o igual a 32 semanas y/o el peso al nacimiento menor o igual a 1500 gramos de los recién nacidos ingresados en la Unidad de Neonatología del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca y el Hospital General Universitario Santa Lucía, en Murcia, España, desde el 1 de septiembre de 2024 hasta el 31 de agosto de 2025.

Como criterios de exclusión, se definieron los siguientes:

- Condición letal
- Inestabilidad hemodinámica
- Malformación gastrointestinal grave
- Rechazo de calostro donado sin disponibilidad de calostro propio
- Transfusión sanguínea previa
- Infección materna por VIH, VHB, VHC y/o CMV

## Tamaño muestral y procedimiento

Se estableció un objetivo de tamaño muestral mínimo de 40 pacientes, teniendo en cuenta los escasos estudios publicados hasta la fecha y la casuística de ambos hospitales.

En los dos grupos se administrará una pauta de 0.2 ml de calostro o placebo (0.1 ml en cada mejilla) cada 3 horas, iniciado en las primeras 12 horas de vida, durante 5 días. Se realizará de forma independiente al inicio de la nutrición enteral trófica. Durante el período del estudio quedará rechazado el uso de probióticos. Se considerará calostro la leche obtenida en los 5 primeros días tras el parto. El equipo de la Unidad de Neonatología animará a las madres de todos los pacientes a la extracción manual del calostro, para lo cual contarán con la ayuda de matronas especialistas en lactancia materna. En el grupo intervención se priorizará el uso de calostro fresco de su madre. Si no es posible obtenerlo, se ofrecerá la posibilidad de recibir calostro procedente de banco de leche, para lo cual se deberá otorgar consentimiento informado por escrito. El placebo consistirá en agua para inyección. El cegamiento se conseguirá con la administración a través de jeringuillas cubiertas por aluminio, que serán previamente preparadas por la auxiliar de enfermería responsable del banco de leche. La prescripción de la terapia será realizada en el programa informático por el facultativo a cargo del ingreso del paciente. Todos los progenitores recibirán una hoja informativa del procedimiento y deberá recogerse el consentimiento informado por escrito.

## Variables a estudio

Se definieron los siguientes 4 grupos de variables:

### **Variables explicativas:**

- Variables demográficas: Edad materna, multípara/primípara, diabetes pre/gestacional, hipertensión arterial/preeclampsia, antibiótico anteparto (>4 horas), corioamnionitis, rotura prematura de membranas prolongada (>18 horas), maduración pulmonar (parcial o completa), tipo de parto,

edad gestacional, peso al nacimiento, crecimiento intrauterino retardado, género, Apgar minuto 1, Apgar minuto 5.

**VARIABLES DE RESULTADO:**

- Variables de microbiota oral e intestinal: Índices de alfa-diversidad, beta-diversidad y abundancia de cada especie bacteriana.
- Variables clínicas de morbi-mortalidad: Enterocolitis necrotizante, cirugía por otra patología digestiva, sepsis (precoz/tardía, bacteriana/fúngica, clínica/microbiológica), días de antibioterapia, días de ventilación mecánica no invasiva, días de ventilación mecánica invasiva, neumonía asociada a ventilación, displasia broncopulmonar, hemorragia intraventricular (grado), retinopatía de la prematuridad, duración de la hospitalización, fallecimiento antes del alta.
- Variables clínicas nutricionales: Horas de vida al inicio de nutrición enteral, días para alcanzar nutrición enteral completa, días de nutrición parenteral, tiempo para recuperar peso al nacimiento, ganancia ponderal hasta el alta.
- Variables de seguridad del procedimiento: Náuseas/vómitos durante la administración, sospecha de aspiración/neumonía aspirativa confirmada, episodios de desaturación durante la administración, episodios de bradicardia durante la administración, incremento de las necesidades de oxígeno durante/después del procedimiento.

Recogida de variables

Se obtendrán 3 muestras de saliva y heces en ambos grupos, con los siguientes rangos temporales:

- 1ª Muestra: Primeras 12 horas de vida, antes de iniciar la intervención
- 2ª Muestra: Entre el 5º y el 7º día, tras finalizar la intervención
- 3ª Muestra: A las 2 semanas de vida

Para evaluar la microbiota se utilizarán los índices de alfa-diversidad, beta-diversidad y abundancia. Cada especie bacteriana será identificada por la técnica de

secuenciación genética del ARNr 16s mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La alfa-diversidad, que estima la riqueza y uniformidad de las especies bacterianas en una comunidad, se cuantificará con los índices de diversidad de Simpson y de Shannon. Una elevada alfa-diversidad se interpretará como un microbioma más saludable y maduro. La beta-diversidad mide el número y la presencia o ausencia de especies compartidas entre comunidades microbianas, y evalúa el grado en que dos o más comunidades difieren entre sí. La beta-diversidad también se utiliza para analizar los cambios en la microbiota a lo largo del tiempo y se cuantificará con el índice de disimilitud de Bray-Curtis.

Por otra parte, la abundancia relativa de una especie bacteriana se refiere al número de especies individuales presentes en una comunidad. Se interpretará como beneficioso una elevada abundancia de especies protectoras, como *Bifidobacterium* o *Lactobacillus*, y una baja abundancia de especies patogénicas, como *Proteus* o *Enterobacter*.

Para el estudio inmunológico, se incluirán las inmunoglobulinas A, M y G en las analíticas rutinarias realizadas al nacimiento (antes de la 1ª dosis de calostro), a las 2 y a las 4 semanas de vida. El análisis de las variables clínicas será realizado a posteriori, con la revisión de las historias clínicas electrónicas.

Se elaborará un checklist que deberá ser cumplimentado por parte de enfermería, en el que se recogerán parámetros relacionados con la seguridad del procedimiento (constantes vitales y tolerancia digestiva).

### Análisis de datos

Se llevará a cabo un análisis por protocolo, en el que sólo se incluirán los pacientes que cumplan el plan de tratamiento. Se comparará el grupo intervención y el grupo control, y se realizará un análisis de subgrupos en aquellos que reciban calostro en función de si procede de su propia madre o de banco de leche. Para el procesamiento de los resultados se empleará el sistema informático IBM SPSS Statistics® (versión 29). Se considerará un p valor <0.05 como estadísticamente significativo.

## Dificultades y limitaciones

Este proyecto no está exento de dificultades. Por un lado, requiere una gran coordinación de todos los sanitarios implicados para lograr el inicio precoz que se pretende. Se ha establecido un límite temporal de 12 horas, ya que es el que se ha considerado, por una parte, factible tras la estabilización inicial del recién nacido prematuro y, por otra parte, clínicamente relevante, ya que el objetivo es evitar la colonización por gérmenes nosocomiales que pudiera producirse si se retrasase más. Además, para lograr la obtención de calostro propio materno en esas primeras horas, es fundamental el papel de matronas especialistas en lactancia materna, que puedan instruir a las madres en la extracción manual del mismo y reforzarles sus potenciales beneficios, tanto para sus recién nacidos pretérmino como para ellas mismas en la esfera psicosocial. Los técnicos auxiliares de enfermería responsables del banco de leche tendrán una labor importante en cuanto a la preparación y distribución de las jeringuillas tanto de calostro como de placebo. Enfermería, por su parte, deberá monitorizar de forma estrecha el procedimiento de administración y registrar y alertar de posibles eventos adversos derivados del mismo. Los neonatólogos deberán informar sobre los detalles del estudio a los progenitores de forma adecuada y comprensible y serán los encargados de prestar atención a la temporalidad de la administración del calostro o placebo y de la recogida de muestras.

En cuanto a los posibles sesgos del trabajo, la principal limitación que presenta es que la microbiota del recién nacido pretérmino está influenciada por múltiples factores, relacionados con la gestación (p.ej. la diabetes materna), el parto (p.ej. la finalización por vía vaginal o cesárea, la amniorrexis prolongada o la profilaxis antibiótica) y las comorbilidades propias de la prematuridad (p.ej. la inmadurez intestinal o la exposición a gérmenes nosocomiales en las Unidades de Cuidados Intensivos). Para combatir y tratar de reducir este sesgo, por una parte, se analizarán de forma precisa potenciales factores de confusión y se ajustarán los resultados en función de estos, y, por otra parte, se evitarán terapias innecesarias que puedan influir de forma negativa en los resultados del estudio, como el uso no justificado de antibioterapia empírica o la administración de probióticos.

		2024				2025		2026
Actividades/Tareas	Participantes	1-5	6	7-8	9-12	1-9	10-12	1-4
Búsqueda bibliográfica y elaboración del proyecto	PCG	X						
Presentación al CEIm	PCG		X					
Difusión en la Unidad Neonatal	PCG, JAA, JLC			X				
Inclusión de casos y controles	PCG, JAA, JLC				X	X		
Análisis microbiológico de muestras	GLG				X	X		
Introducción de datos. CRD	PCG, JAA, JLC				X	X		
Análisis e interpretación de los resultados	PCG, JAA, JLC						X	
Elaboración de conclusiones y preparación de publicación	PCG, JAA, JLC							X

## Plan de trabajo

\*PCG: Dra. Paula Cerdá Guilabert (investigadora principal, MIR de Pediatría HCUVA); JAA: Dr. Juan José Agüera Arenas (jefe de sección de Neonatología HCUVA); JLC: Dr. José Luis Leante Castellanos (jefe de sección de Neonatología HUSL); GLG: Ginés Luengo Gil (coordinador de investigación HUSL)

## Aspectos éticos

El presente estudio ha sido desarrollado guiado por los valores de la Declaración de Helsinki y ha sido sometido a evaluación y aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica de los dos hospitales participantes.

Durante su diseño, se han analizado las posibles implicaciones bioéticas que pudiera presentar, del siguiente modo:

- **Riesgos y beneficios:** Se ha considerado mínimo el riesgo de la administración orofaríngea de calostro, pues los estudios publicados hasta la fecha no han reportado ningún efecto adverso. Además, se ha establecido como objetivo secundario realizar una evaluación precisa de posibles complicaciones que pudieran producirse durante el procedimiento. Se ha

estimado elevado su potencial beneficio dados los resultados publicados previamente en la literatura de mejora de tolerancia enteral e incremento de sustancias inmunodefensivas, todo ello en relación a un estímulo del crecimiento de bacterias protectoras en la microbiota de todo el tracto gastrointestinal.

- **Equidad y justicia:** Se han diseñado criterios de inclusión y exclusión basados en fundamentos científicos, con el objetivo de evitar cualquier forma de discriminación o sesgo injustificado. Para garantizar igualdad de oportunidad en la participación en el estudio, todos los sanitarios implicados en el proyecto se comprometen a dar a los progenitores o tutores legales una explicación clara, con un lenguaje comprensible y adaptado y en el idioma que entiendan, solicitando ayuda de un intérprete en caso necesario.
  
- **Confidencialidad y privacidad:** Se asegurará la confidencialidad de los participantes a través de la seudonimización de los datos desde el momento de la inclusión y aleatorización.
  
- **Consentimiento informado:** Al tratarse de pacientes pediátricos, serán los progenitores o tutores legales quienes recibirán una explicación clara y detallada, tanto verbal como escrita, de los objetivos, procedimientos, riesgos y beneficios potenciales del estudio, y deberán otorgar su consentimiento por escrito. Si se requiere, se solicitará además consentimiento para recibir leche donada procedente de banco.
  
- **Divulgación de resultados:** Se llevará a cabo a través de comunicaciones en congresos científicos y publicación en revistas biomédicas para el conocimiento de la comunidad sanitaria de los resultados obtenidos.

## **Aplicabilidad y utilidad de resultados**

Con el presente estudio se pretende demostrar que la administración orofaríngea de calostro en grandes prematuros durante sus primeros días de vida es una terapia

segura y tiene un efecto beneficioso en la colonización intestinal por bacterias protectoras, y que estas, a su vez, favorecen la respuesta inmune y la tolerancia enteral.

Por lo tanto, la utilidad de estos resultados sería, por una parte, aumentar la evidencia científica que existe respecto a su uso y, por otra parte, aplicarlos para dejar establecida una pauta estandarizada de administración de calostro orofaríngeo, entendido como inmunoterapia, en las unidades de Neonatología de los hospitales participantes.

## Presupuesto

El proyecto se realizará incluido en la asistencia clínica habitual de la sección de Neonatología del servicio de Pediatría del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca y el Hospital General Universitario Santa Lucía. Por lo tanto, los recursos personales necesarios serán los propios de estas unidades, a nivel de personal médico, enfermería y auxiliares de enfermería, sin costes adicionales. La recogida de datos y el análisis estadístico se llevará a cabo por los autores del estudio.

El análisis de la microbiota será realizado por un microbiólogo asociado al Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria. Se estima un coste de 25€ por cada muestra de saliva y de 25€ por cada muestra de heces. Por lo tanto, con un tamaño muestral estimado de 40 pacientes, el gasto inicial previsto asciende a 6000€.

Una vez finalizado el proyecto, se redactará en forma de artículo con el objetivo de publicar los resultados en revistas biomédicas *Open Access* para facilitar su difusión. Se prevé un gasto de entorno a 2000€ derivado de la publicación y comunicación de los resultados en congresos.

Para sufragar el trabajo, en concreto el análisis microbiológico y los costes asociados a la publicación, se solicitará la “Beca SENEQ José Quero a Proyectos de Investigación”, que supone una dotación de 3000 €, y la “Beca de investigación Invest-AEP”, en la que se solicitará el resto del presupuesto necesario.

<b>Partida de RRHH</b>	<b>Cuantía (€)</b>
Propios de la unidad	0
<b>Partida de Bienes y Servicios</b>	<b>Cuantía (€)</b>
Material para el análisis microbiológico de las muestras de saliva y heces	6000

<b>Partida de Viajes y Dietas</b>	<b>Cuantía (€)</b>
Congresos y gastos de publicación	2000
<b>TOTAL</b>	<b>8000</b>

## **Bibliografía**

(1) Romero-Maldonado S, Soriano-Becerril DM, García-May PK, Reyes-Muñoz E, Muñoz-Ortíz EG, Carrera-Muñoz S, et al. Effect of Oropharyngeal Administration of Colostrum in Premature Newborns  $\leq 32$  Weeks of Gestation on the Immune Response and Neonatal Morbidity: A Double-Blind Randomized Clinical Trial. *Front Pediatr.* 2022 Jul 8;10:891491

(2) García-Lara NR, García-Algar O, Pallás-Alonso CR. Sobre bancos de leche humana y lactancia materna. *An Pediatr (Barc).* 2012;76(5):247-249

(3) Lee J, Kim HS, Jung YH, Choi KY, Shin SH, Kim EK, Choi JH. Oropharyngeal colostrum administration in extremely premature infants: an RCT. *Pediatrics.* 2015 Feb;135(2):e357-66

(4) Martín Álvarez E, Jiménez Cabanillas MV, Peña Caballero M, Serrano López L, Kajarabille N, Díaz Castro J et al. Efectos de la administración de calostro orofaríngeo en recién nacidos prematuros sobre los niveles de inmunoglobulina A. *Nutr. Hosp.* 2016 Abr;33(2):232-238

(5) Nasuf AWA, Ojha S, Dorling J. Oropharyngeal colostrum in preventing mortality and morbidity in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 Sep 7;9(9):CD011921

(6) Sohn K, Kalanetra K, Mills D et al. Buccal administration of human colostrum: impact on the oral microbiota of premature infants. *J Perinatol.* 2016;36:106-111

(7) Cortez RV, Fernandes A, Sparvoli LG, Padilha M, Feferbaum R, Neto CM, et al. Impact of Oropharyngeal Administration of Colostrum in Preterm Newborns' Oral Microbiome. *Nutrients.* 2021 Nov 24;13(12):4224

(8) Arishi RA, Lai CT, Geddes DT, Stinson LF. Impact of breastfeeding and other early-life factors on the development of the oral microbiome. *Front Microbiol.* 2023 Sep 7;14:1236601

(9) Beghetti I, Barone M, De Fazio L, Laderchi E, Biagi E, Turrone S, et al. A Pilot Study on Donor Human Milk Microbiota: A Comparison with Preterm Human Milk Microbiota and the Effect of Pasteurization. *Nutrients.* 2022 Jun 15;14(12):2483

(10) Wang N, Zhang J, Yu Z, Yan X, Zhang L, Peng H, et al. Oropharyngeal administration of colostrum targeting gut microbiota and metabolites in very preterm infants: protocol for a multicenter randomized controlled trial. *BMC Pediatr.* 2023 Oct 16;23(1):508

(11) Xu W, Judge MP, Maas K, Hussain N, McGrath JM, Henderson WA, et al. Systematic Review of the Effect of Enteral Feeding on Gut Microbiota in Preterm Infants. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs.* 2018 May;47(3):451-463