

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de  
*Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
BIÓLOGA, EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA**

Presentado por la:  
Bach. QUISPE APAICO, Liseth Jhosely

AYACUCHO – PERÚ  
2021

**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**  
**Bach. Liseth Jhosely QUISPE APAICO**  
**R.D.N° 065-2021-UNSCH-FCB-D**

A los seis días del mes de agosto del año dos mil veintiuno, siendo las tres de la tarde, se reunieron a través de la plataforma virtual Google Meet, los docentes miembros del jurado calificador conformado por: Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA (presidente) encargado mediante Memorando N° 277-2021-UNSCH-FCB, quien actúa también como miembro jurado; Mg. Paula GARCIA GODOS ALCÁZAR (miembro asesora), Mg. José ALARCÓN GUERRERO (miembro 4to jurado), actuando como secretaria docente la Mg. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA, para recepcionar la sustentación de tesis titulada: **“Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos”**, presentada por la Bach. Liseth Jhosely QUISPE APAICO; previa verificación de la documentación exigida, el presidente autorizó el inicio del acto académico precisando que el sustentante dispone de cuarenta y cinco minutos, conforme lo establece el reglamento de grados y títulos de la Facultad de Ciencias Biológicas. Finalizada la sustentación, el presidente invitó a los miembros del jurado a participar con observaciones, aclaraciones y preguntas relacionadas al tema; el asesor se comprometió a cumplir con las correcciones y sugerencias realizadas. Concluida esta etapa, el presidente invitó al sustentante y a los asistentes abandonar la sala virtual a fin de proceder a la deliberación y calificación correspondiente.

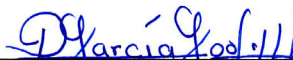
Seguidamente procedieron a la calificación, alcanzando los siguientes resultados:

<b>MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR</b>	<b>EXPOSICIÓN</b>	<b>RESPUESTA A PREGUNTAS</b>	<b>PROMEDIO</b>
Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA (Presidente)	17	17	17
Mg. Paula GARCIA GODOS ALCÁZAR (Miembro - Asesora)	18	17	18
Mg. José ALARCÓN GUERRERO (miembro 4to jurado)	17	17	17
		<b>PROMEDIO</b>	<b>17</b>

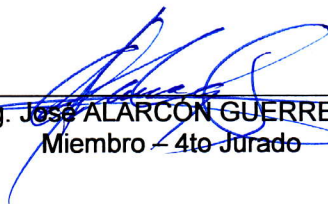
La sustentante alcanzó el promedio de 17 (diecisiete) aprobatorio. Acto seguido, el presidente invitó a la sustentante y público reingresar a la sala virtual para dar a conocer el resultado de la evaluación; finalizando el presente acto académico siendo las cinco y cuarenta minutos de la tarde, firmando al pie del presente en señal de conformidad.



Dr. Fidel Rodolfo MUJICA LENGUA  
Miembro - Jurado  
Presidente (e)



Mg. Paula GARCIA GODOS ALCÁZAR  
Miembro - Asesora



Mg. José ALARCÓN GUERRERO  
Miembro - 4to Jurado



Mg. Nilda Aurea APAYCO ESPINOZA  
Secretaria - Docente



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

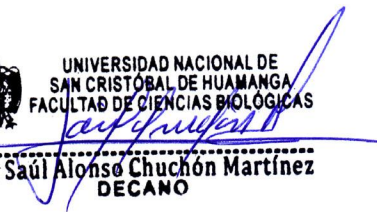
DECANATURA

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE TESIS N° 028-  
2021-FCB-D

Yo, SAÚL ALONSO CHUCHÓN MARTÍNEZ, Decano de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; autoridad encargada de verificar la tesis titulada: **“Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de Lactobacillus frente a microorganismos patógenos”**, presentado por la Bach. LISETH JHOSELY QUISPE APAICO; he constatado por medio del uso de la herramienta TURNITIN, procesado CON DEPÓSITO, una similitud de 8%, grado de coincidencia, menor a lo que determina la ausencia de plagio definido por el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-C.

En tal sentido, la tesis cumple con las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Se acompaña el INFORME FINAL DE TURNITIN correspondiente.

Ayacucho, 27 de setiembre del 2021.

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Dr. Saúl Alonso Chuchón Martínez  
DECANO

# Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos

*por* Liseth Jhosely Quispe Apaico

---

**Fecha de entrega:** 27-sep-2021 09:19a.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 1658775847

**Nombre del archivo:** 1A\_QUISPE\_APAICO\_LISETH\_JHOSELY\_Pregrado\_2021\_TURNITIN.docx (268.18K)

**Total de palabras:** 8884

**Total de caracteres:** 48914

# Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de Lactobacillus frente a microorganismos patógenos

## INFORME DE ORIGINALIDAD

8%

INDICE DE SIMILITUD

7%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://www.pediatriaintegral.es">www.pediatriaintegral.es</a> Fuente de Internet	2%
2	<a href="http://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	2%
3	<a href="http://aprenderly.com">aprenderly.com</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://www.nook.no">www.nook.no</a> Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Unviersidad de Granada Trabajo del estudiante	1%
6	<a href="http://repositorio.unsch.edu.pe">repositorio.unsch.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080">dgsa.uaeh.edu.mx:8080</a> Fuente de Internet	1%
8	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	<1%

9

Ricardo Santos, Elizabeth Paitán, Alejandrina Sotelo, Doris Zúñiga, Carlos Vílchez.

"Caracterización molecular de bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de neonatos humanos", Revista peruana de Biología, 2019

Publicación

<1 %

10

Submitted to CONACYT

Trabajo del estudiante

<1 %

11

www.scielo.org.co

Fuente de Internet

<1 %

12

tdx.cat

Fuente de Internet

<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo

A mis padres y toda mi familia por  
toda su paciencia y apoyo.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi *Alma Mater*, por darme la oportunidad de formarme como profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a los docentes de la especialidad de Microbiología, que inculcan valores y conocimientos científicos para formar profesionales que son el presente y futuro de nuestro país.

A los docentes de la especialidad de Biotecnología de la Escuela Profesional de Biología, por brindarme los equipos necesarios para la materialización de la investigación.

A mi asesora Mg. Paula García Godos Alcázar por su orientación y apoyo para la concretización de la investigación.

Al Mg. Reynán Cóndor Alarcón por su apoyo en el procesamiento estadístico del estudio.

A todas las personas que con su invaluable apoyo contribuyeron en la materialización de la investigación.



## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Género <i>Lactobacillus</i>	4
2.3. Obtención, colonización y adaptación de la microbiota intestinal	5
2.4. Composición de la microbiota intestinal	6
2.5. Distribución de la microbiota	7
2.6. Compuestos antimicrobianos de las bacterias ácido lácticas	7
2.6.1. Ácidos orgánicos	7
2.6.2. Peróxido de hidrógeno y otros metabolitos del oxígeno	7
2.6.3. Diacetilo	7
2.6.4. Acetaldehído	8
2.6.5. Bacteriocinas	8
2.7. Microorganismos patógenos	8
2.8. Definición de probiótico	9
2.9. Característica de un probiótico	9
2.10. Capacidad probiótica	10
2.11. Efecto de los probióticos en diferentes patologías	10
2.11.1. Prevención de la diarrea aguda	10
2.11.2. Tratamiento de la diarrea aguda	10
2.11.3. Diarrea asociada a antibióticos	11
2.11.4. Síndrome de intestino irritable (SII)	11
2.11.5. Erradicación de <i>Helicobacter pylori</i>	11
2.11.6. Efectos inmunomoduladores	11
2.11.7. Infección del tracto genitourinario	11
2.12. Simbióticos	12

2.13. Prebióticos	12
2.13.1. <i>Micosis vulvovaginales</i>	12
III. MATERIALES Y METODOS	13
3.1. Lugar de ejecución	13
3.2. Material biológico	13
3.3. Metodología	13
3.3.1. Traslado de muestras biológicas	13
3.3.2. Aislamiento de bacterias ácido lácticas	13
3.3.3. Identificación de las cepas aisladas	13
3.3.4. Prueba del efecto antimicrobiano in vitro	14
3.3.5. Evaluación de la capacidad probiótica	15
3.4. Análisis estadístico	16
III. RESULTADOS	17
IV. DISCUSIÓN	33
V. CONCLUSIONES	41
VI. RECOMENDACIONES	43
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	51

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Especies de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	19
Tabla 2. Características macroscópicas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	20
Tabla 3. Características microscópicas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	21
Tabla 4. Identificación de especies de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	22
Tabla 5. Diámetro de los halos de inhibición de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.*	23
Tabla 6. Capacidad probiótica de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Efecto antimicrobiano de cepas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a microorganismos patógenos Gram negativos.	24
Figura 2. Efecto antimicrobiano de cepas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a microorganismos patógenos Gram positivos.	25
Figura 3. Efecto antimicrobiano de cepas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 90028.	26
Figura 4. Efecto antimicrobiano de cepas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a microorganismos patógenos.	27
Figura 5. Porcentaje de microorganismos patógenos inhibidos por <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	28
Figura 6. Efecto antimicrobiano de cepas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	30
Figura 7. Efecto antimicrobiano de cepas de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	31

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Prueba estadística ANOVA de los diámetros del halo de inhibición de las cepas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados frente a <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076. 2019.	53
Anexo 2. Prueba estadística ANOVA de los diámetros del halo de inhibición de las cepas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922. 2019.	54
Anexo 3. Prueba estadística ANOVA de los diámetros del halo de inhibición de las cepas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados frente a <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315. 2019.	55
Anexo 4. Porcentaje del efecto antimicrobiano de <i>Lactobacillus</i> aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	56
Anexo 5. Identificación de bacterias ácido lácticas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	57
Anexo 6. Caracterización bioquímica y agrupación con API 50 CHL de las cepas de <i>Lactobacillus</i> ; aisladas de muestras de secreciones vaginales de mujeres búlgaras en edad reproductiva 2008.	58
Anexo 7. Características clave de los <i>Lactobacillus</i> del grupo A (obligatoriamente homofermentativos).	59
Anexo 8. Características clave de los <i>Lactobacillus</i> del grupo B (facultativamente heterofermentativos).	60
Anexo 9. Sala de espera del consultorio CRED atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	61
Anexo 10. Medio Lactobacilli	62
Anexo 11. Observación macroscópica de las cepas aisladas de las muestras de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	63
Anexo 12. Observación microscópica de la cepa aislada de la muestra de heces del infante de 2 a 6 meses de edad atendidos en el	64

	Centro de Salud Los Licenciados 2019.	
Anexo 13.	Cepas patógenas proporcionadas por el Laboratorio de Biotecnología	65
Anexo 14.	Efecto antimicrobiano de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a Salmonella enteritis ATCC 13076.	66
Anexo 15.	Siembra de cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados en los hidratos de carbono en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga 2019.	67
Anexo 16.	Observación de la fermentación de los hidratos de carbono de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	68
Anexo 17.	Evaluación de la tolerancia a sales biliares de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	69
Anexo 18.	Evaluación de la tolerancia a jugo gástrico de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	70
Anexo 19.	Constancia de autorización del Centro de Salud Los Licenciados 2019.	71
Anexo 20.	Consentimiento informado para las madres de los infantes atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.	72
Anexo 21.	Matriz de consistencia.	73

## RESUMEN

La investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados. Las cepas de *Lactobacillus* fueron aisladas en caldo y agar Lactobacilli, identificadas mediante características macroscópicas, microscópicas y la fermentación de azúcares. Luego se realizó la prueba antimicrobiana *in vitro* mediante la técnica de difusión de pocillos en agar, las cepas de *Lactobacillus* con un inóculo de  $10^9$  UFC/mL frente a las cepas patógenas de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Candida albicans* ATCC 90028 de  $10^8$  UFC/mL. Para la evaluación de la capacidad probiótica se utilizó HCl, sales biliares y jugo gástrico. Se aislaron 14 cepas de *Lactobacillus*, 6 cepas fueron *Lactobacillus acidophilus* y 8 cepas *Lactobacillus paracasei*. En la evaluación de capacidad probiótica se observó el crecimiento de las cepas de *Lactobacillus* a pH de 4 y 5, en medio con sales biliares y jugo gástrico; las cepas La-2, Lp-5, Lp-12 y La-14 presentan capacidad probiótica. Estadísticamente el efecto antimicrobiano de las cepas aisladas de *Lactobacillus* frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 y *Escherichia coli* ATCC 25922 presentan diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Resultando en el efecto antimicrobiano *in vitro* de las 14 cepas de *Lactobacillus* inhibió entre 21,4 % a un 42,9 % de microorganismos patógenos siendo la cepa Lp -12 la que mostro un mejor efecto antimicrobiano.

**Palabras clave:** Efecto antimicrobiano, probiótico, *Lactobacillus* y capacidad probiótica.

## I. INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son fermentadoras Gram positivas no patógenas tampoco producen toxinas, elaboran ácido láctico a partir de hidratos de carbono, son útiles en la fermentación de alimentos, en esta agrupación se incluye al género de *Lactobacillus* (World Gastroenterology Organization (WGO), 2017); que se encuentra en los alimentos como chucrut, aceitunas, cerveza, vino, jugos, en productos lácteos y productos cárnicos; por otra parte también se encuentran en humanos y animales como en la cavidad oral, tracto gastrointestinal y en la vagina. El intestino contiene diferentes especies de macroorganismos hallándose fundamentalmente en el colon con una estimación mayor a la de 40 trillones de células bacterianas entre ellas se encuentran los lactobacilos (Vos et al., 2009). Los recién nacidos adquieren macroorganismos al pasar por el conducto del parto de la mamá ya que tienen contacto con la microbiota intestinal y vaginal. Recientemente esto ha cambiado ya que la cuarta parte de los neonatos son colonizados por *Lactobacillus* maternos, pero son sustituidos prontamente por otros *Lactobacillus* asociados a la leche materna (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. paracasei*, *L. plantarum* etc.) (Martin et al., 2009).

Cabe señalar la existencia de prebióticos que son el sustrato de la dieta que nutren a grupos seleccionados como probióticos, reduciendo la población de microorganismos eventualmente patógenos (World Gastroenterology Organization (WGO), 2011). Los probióticos como *Lactobacillus* colonizan el ecosistema intestinal mediante la interacción con microorganismos comensales o perjudiciales, relacionándose con las células del huésped empleando señales químicas (WGO, 2017), un mejoramiento del ambiente intestinal, reforzando la barrera intestinal, regulación de la reacción inflamatoria negativa y en la respuesta inmunitaria provocadas por antígenos. Al generar compuestos



antimicrobianos como ácidos orgánicos, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, diacetilo y bacteriocinas inhiben el crecimiento de patógenos (Yusuf, 2013), el uso más distinguido de los probióticos es aminorar la incidencia y seriedad de la diarrea, mediados por el efecto favorable de los componentes antimicrobianos (WGO, 2017).

También consideremos que los efectos adversos de los medicamentos farmacéuticos pueden expresarse o no, dependiendo de la situación que enfrenta (Ramos y Olivares, 2010), las consecuencias de la resistencia de los antimicrobianos, para la salud y la economía constituye un peso cada vez adicional para los países de ingresos prominentes, medios y bajos (OMS, 2015). Actualmente al menos setecientas mil personas mueren anualmente por infecciones farmacoresistentes, a este paso para el dos mil cincuenta podrían haber cada año diez millones de pérdidas de vidas causadas por enfermedades resistentes a los medicamentos (ONU, 2018), pero podríamos modificar por medio de elementos bioterapéuticos (prebióticos, probióticos y simbióticos) creando así refuerzos de microbiota intestinal y la convicción de que los probióticos y prebióticos ayuda en la mayoría de las afecciones gastrointestinales tanto en poblaciones pediátricas y adultas, al suministrar la cepa probiótica particular y/o prebiótico puede ser eficiente y terapéutica, siendo plasmado en la Guía Mundial de la Organización Mundial de Gastroenterología (WGO, 2017).

Los objetivos que se plantearon en la investigación son:

**Objetivo general**

Evaluar el efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos.

**Objetivos específicos**

1. Aislar cepas *Lactobacillus* a partir de muestras de heces de infantes (2 a 6 meses de edad)
2. Identificar las cepas probióticas de *Lactobacillus* aisladas.
3. Evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes

Las cepas de *Lactobacillus spp.* fueron evaluadas por Sánchez et al. (2015), con capacidades probióticas se caracterizaron *in vitro* a 17 cepas aisladas del tracto intestinal de terneros. Preliminarmente realizaron la prueba de la catalasa, la tinción de Gram y estudiaron sus características culturales, se sometieron a diferentes temperaturas y pH para evaluar su capacidad probiótica. Luego seleccionaron diez cepas de *Lactobacillus spp.* las que crecieron en todas las condiciones evaluadas y obtuvieron cuatro cepas que mostraron un potencial probiótico por la resistencia al tratamiento a diferentes pH, temperatura, sales biliares, jugo gástrico artificial hasta las 24 horas. Siendo relevante la inhibición en el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp.*

En la investigación de Muñoz (2011) se aislaron, identificaron y caracterizaron *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium breve* CNCM I-4035 y *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036, a partir de heces de niños alimentados puramente con leche materna, los cuales han sido identificados mediante estudios de fermentación y de secuenciación del gen 16S del RNA ribosómico bacteriano. Estas tres cepas bacterianas han sido depositadas en la colección del Instituto Pasteur (Francia) y reconocidas como cepas innovadoras teniendo una elevada capacidad de resistencia a pH bajos y a elevadas concentraciones de sales biliares. Además, se destacó en la inhibición del crecimiento de bacterias patógenas intestinales.

En el estudio de Sánchez et al. (2011) aislaron y caracterizaron cepas de *Lactobacillus spp.* como candidato probiótico, realizaron pruebas *in vitro* de 24 cepas aisladas e identificadas a nivel de género con el perfil de fermentación de carbohidratos. Se evaluó la solides de las cepas aisladas a pH ácido a distintas temperaturas por lo que se escogieron nueve cepas como aspirantes por sus

mejores características a probióticos y sus resultados del efecto antimicrobiano frente a *Candida albicans*.

Las bacterias que presentan potencial probiótico aisladas de heces de neonatos, se caracterizaron molecularmente en la investigación por Paitán et al. (2019), primero evaluaron 60 muestras, aislando un total de 48 cepas en caldo Man Rogosa y Sharp (MRS), se identificaron molecularmente al emplear la amplificación PCR-BOX y el secuenciamiento del gen 16s rRNA, todas presentaron firmeza a diversos pH, sales biliares y siendo relevante la actividad antimicrobiana al enfrentarlas a *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218 y *Salmonella enterica* mediante una prueba *in vitro*. Se recabó dos perfiles que pertenecieron a los géneros de *Lactobacillus* y *Enterococcus*.

En la investigación de Rojas (2011). Se aisló *Lactobacillus spp.* de heces de niños lactantes, obtuvo 196 cepas de 12 muestras de heces identificando 24 cepas de *Lactobacillus* por sus características morfológicas y tintoriales, se realizó la determinación parcial de probióticos mediante la prueba *in vitro* al someter las cepas aisladas a medios hostiles como a pH y sales biliares diferentes, las 24 cepas de *Lactobacillus* mostraron un crecimiento óptimo.

En el ámbito local se encontró una investigación de bacterias lácticas con capacidad probiótica aisladas de chicha de molle; evaluada por Rodriguez y García-Godos (2017), aisló 55 cepas BAL e identificó empleando la coloración Gram asimismo la fermentación de azúcares. Se evaluó en medios desfavorables como lo son las condiciones en el espacio gastrointestinales y a diversos pH, también mostraron que 14 cepas de BAL inhibieron a microorganismos patógenos en la prueba antagónica, luego de estas pruebas se seleccionaron cuatro cepas para evaluar la capacidad probiótica *in vivo* en 20 ratas, obteniéndose una ganancia de peso en ellas probando que *Lactobacillus* añadido en bebidas por ejemplo favorecen a la microbiota intestinal.

## **2.2. Género *Lactobacillus***

Dentro del grupo de las bacterias ácido lácticas (BAL) se encuentra el género bacteriano *Lactobacillus* compartiendo características como ser anaerobias facultativas, Gram positivas, inmóviles, no esporuladas, catalasa negativa, oxidasa negativa y nitrato reductasa negativas. La pared celular contiene peptidoglicano (mureina) de varios quimiotipos del tipo Lisina y Acido D-Aspártico, es el tipo de peptidoglicano más extendido, también contiene polisacáridos unidos a peptidoglicano por enlaces fosfodiéster, el ácido teicoico

unido a la membrana está presente en todas las especies. Las colonias en medios de agar como en MRS, suelen ser pequeñas (2 – 5 mm) con márgenes enteros, convexos, lisos, brillantes y por lo general, opacos sin pigmento. En casos raros son de color amarillento o rojizo y en algunas especies forman colonias rugosas (Vos et al., 2009).

### **2.3. Obtención, colonización y adaptación de la microbiota intestinal**

Es en el parto donde el intestino del recién nacido empieza a ser colonizado por el contacto con la microbiota vaginal e intestinal de la madre. En los últimos estudios se evidencia que la iniciación, expansión y constitución de la microbiota del infante inicialmente se debe a la leche materna, siendo una fuente continua de bacterias mayor a  $10^4$  UFC/ml y son comensales y mutualistas, entre ellas se detectan a estreptococos, enterococos, estafilococos y bacterias ácido lácticas como lactobacilos (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. acidophilus* *L. rhamnosus*, etc.) En la actualidad la utilidad de técnicas moleculares ha posibilitado evidenciar que los *Lactobacillus* de la cavidad vaginal de la madre solo están presentes en una cuarta parte de neonatos teniendo una colonización breve y son los *Lactobacillus* concomitados a la leche materna los que sustituyen y forman la microbiota del intestino del lactante (Martin et al., 2009).

Existen diferentes géneros de bacterias mostrándose después del nacimiento del bebe como enterobacterias que consumen oxígeno del ambiente intestinal y de manera ascendente aparecen las bacterias anaerobias se establecen (*Bacteroides*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Bifidobacterium*) empezando del décimo día de nacimiento del infante se capta a *Lactobacillus*, el número de bacterias en total se encuentra entre  $10^8$  –  $10^{10}$  UFC/g de heces. La colonización en un parto por cesarí se da particularmente por el medioambiente retardando la obtención de la microbiota intestinal permanente (Guarner y Malagelada, 2003).

La constitución de la microbiota intestinal lo establece el tipo de alimentos. Predominan las *Bifidobacterium* en un 90% en niños amantados y los *Lactobacillus* se encuentran en menor proporción (*L. acidophilus* *L. gasseri*, *L. johnsonii*) pocos bacteroides, coliformes y clostridium. La leche de fórmula influye en la microbiota del lactante predominando bacteroides, enterococos, coliformes y clostridios, en una menor concentración se encuentran las bifidobacterias (Wu et al., 2011).

Para el recién nacido un factor clave en su desarrollo de la microbiota intestinal es la leche materna lo que nos lleva a considerarla como la principal Fuente de bacterias por su aporte continuo de estas. Un bebé lacta 800 mL de leche materna al día, aportando moléculas beneficiosas de inmunidad innata y ácidos específicos; al ingerir diariamente probióticos entre  $10^5 - 10^7$  UFC/ml están estimulando la inmunidad adaptativa del lactante. La ingesta de leche materna va reduciéndose hasta su total suplencia a los 6 meses ya que se da inicio de la alimentación complementaria, por la que en el intestino del infante se producen cambios en la composición de microorganismos, estableciéndose una disparidad entre los niños amamantados y los que son alimentados con leche adaptada. A la edad de dos años, la microbiota es casi similar a la de un adulto dado que las especies bacterianas adquiridas en la primera etapa de la infancia son identificadas y toleradas por el sistema inmune. Al comparar un individuo con otro se observa una variación de la microbiota, aunque es parcialmente estable, debido a diferentes circunstancias como la dieta, antibióticos, infecciones produciendo cambios temporales (Guarner y Malagelada, 2003; Wu et al., 2011).

#### **2.4. Composición de la microbiota intestinal**

La microbiota intestinal está establecida en su mayoría por un millar de especies de microorganismos, el 99 % de bacterias provienen de 30 o 40 especies entre anaerobias y aerobias, también se encuentran hongos, protozoos y arqueas con una actividad brevemente conocida. En el intestino humano se encuentran cuatro filos predominantes son Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacterias y Protobacterias, están presentes en su mayoría bacterias del género *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Clostridium*, *Ruminococcus*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* y *Bifidobacterium*. Cabe mencionar que los géneros que se encuentran en menor cantidad son *Escherichia coli* y *Lactobacillus* (Khanna y Tosh, 2014).

Existen microorganismos en el tracto gastrointestinal humano con predominio en el sostenimiento de la salud y en la expansión de la enfermedad, a pesar de no pertenecer a filos numerosos como Firmicutes dentro de este se encuentra el género de *Lactobacillus* que son microorganismos anaerobios facultativos con una disposición amplia en productos fermentados llamados probióticos son predominantes en el estómago y en el intestino delgado, en el íleon de un adulto conforman aproximadamente un 50% (Khanna y Tosh, 2014).

## **2.5. Distribución de la microbiota**

La distribución de la microbiota en el tracto gastrointestinal del huésped es heterogéneo y presenta una relación simbiótica, ahora bien los mecanismos defensivos por ejemplo del ser humano (la saliva, ácido gástrico, sales biliares, secreciones proteolíticas, pancreáticas, etc.) que condicionan la colonización y permanencia bacteriana al sobrevivir a estas condiciones extremas y su crecimiento no es absoluto en los segmentos del tracto gastrointestinal (WGO, 2017).

## **2.6. Compuestos antimicrobianos de las bacterias ácido lácticas**

Las bacterias ácido lácticas producen diversos compuestos con diversidad antimicrobiana de distinta naturaleza, aparte de basarse en la producción de ácidos que participan activamente, otros metabolitos inhibitorios que a pesar de encontrarse en menor cantidad de síntesis contribuyen en los fenómenos de antibiosis. Destacando la producción de  $H_2O_2$  y otros provenientes del metabolismo del  $O_2$  ( $O^2$ , HO),  $CO_2$ , diacetilo, acetaldehído, reuterina, benzoato, enzimas bacteriolíticos, bacteriocinas, así como otros compuestos inhibitorios sin identificar (Lindgren y Dobrogosz, 1990; Piard y Desmazeaud, 1991).

### **2.6.1. Ácidos orgánicos**

El ácido láctico, ácido fórmico, ácido acético y etanol son producidos por la fermentación de la glucosa u otras hexosas, luego se emiten al medio extracelular y al presentar un pH menor a 4 inhiben o retrasan el crecimiento de alterantes o microorganismos patógenos como bacterias, esporas de hongos y levaduras (Salminen et al., 2004).

### **2.6.2. Peróxido de hidrógeno y otros metabolitos del oxígeno**

Los metabolitos del oxígeno producidos son anión superóxido ( $O^{2-}$ ), peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo (HO). Uno de los principales efectos antimicrobiano es inhabilitar a las enzimas por la oxidación de los grupos sulfidrilos y al peroxidar los lípidos de la membrana acrecientan la permeabilidad logrando que estos metabolitos inhiban al microorganismo con el cual se enfrentan (Tortora et al., 2007).

### **2.6.3. Diacetilo**

El efecto antimicrobiano frente a bacterias hongos y levaduras es probable que ocurra al inactivar sus enzimas por la liberación al medio extracelular del diacetilo que es sintetizado en la vía de degradación del piruvato presenta un efecto inhibitorio (Salminen et al., 2004).

#### **2.6.4. Acetaldehído**

*Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* por ejemplo produce acetaldehído y glicina por la acción de la treonina aldosa la cual rompe la treonina. En productos lácteos la concentración de 10 a 100 ppm de acetaldehído, inhibe el crecimiento de *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* (Piard y Desmazeaud, 1991).

#### **2.6.5. Bacteriocinas**

El término bacteriocina se describió en 1925, al descubrir las colinas como producto de síntesis ribosómica que se secretan extracelularmente con un espectro de acción bactericida. Existe una heterogeneidad de bacterias probióticas tanto que las bacteriocinas secretadas por las Gram positivas expresan un efecto antimicrobiano amplio en comparación con de las producidas por bacterias Gram negativas (Jack et al., 1995).

Klaenhammer y Kullen (1999) mencionan los siguientes criterios que las bacteriocinas deben cumplir con características como un espectro de acción frente a especies que estén o no relacionadas filogenéticamente a la cepa productora, presentar una acción bactericida, para actuar como inhibidor debe fijarse en un receptor específico que se encuentra sobre un blanco y cabe resaltar que la cepa productora no se debe ver afectada por sus propias bacteriocinas sintetizando una molécula inmunizadora.

Los lactobacilos comparten con otras bacterias ácido lácticas el potencial de inhibir el desarrollo de microorganismos perjudiciales, por lo tanto, prevenir el crecimiento de microorganismos no deseados asociados con humanos y animales. El efecto principal de la reducción del pH es de gran importancia, pero este efecto se apoya en la formación de numerosos compuestos que pueden producirse según los factores ambientales y la dotación genética de una especie o cepa (Vos et al., 2009).

#### **2.7. Microorganismos patógenos**

*Escherichia coli* presenta forma de bastón, Gram negativos, oxidasa negativa, aerobias crecen de preferencia a una temperatura de 37 °C, móviles o inmóviles, presentan flagelos peritricos y son de la familia de *Enterobacteriaceae*, para su aislamiento se usa medios selectivos como Agar MacConkey ya que las colonias de *Escherichia coli* al ser positivas a lactosa aparecerán rojas o rosadas (Nataro y Kaper, 1998).

*Salmonella enteritidis* se transmite este patógeno a los seres humanos al estar presente en alimentos y animales también existen personas que son reservorios y excretan en sus heces al microorganismo patógeno (Amorin et al., 2006).

*Proteus vulgaris*: es un integrante de la familia de las enterobacterias, el género produce interés como característica principal no produce ureasa ni gelatinasa, son bacilos Gram negativos, móviles; su hábitad natural es el intestino del hombre, que pueden originar infecciones en diversas regiones y sistemas del organismo como el sistema urinario y digestivo (Largo et al., 1973).

El cirujano Sir Alexander Ogston en 1880 demostró que ciertos abscesos eran causados por coco agrupados con forma de racimos, llamándolo *Staphylococcus*, proveniente de los términos griegos “staphile” y “kokkus”.

*Staphylococcus aureus* es un coco Gram positivo, esférico y se agrupa en racimos. Los que presentan una tasa de colonización mayormente en pacientes con hemodiálisis, diabéticos, adictos a drogas, personal de salud entre otros, puede convivir como huésped de la microbiota intestinal del ser humano sin causar daño a pesar de su factor de virulencia (Seija, 2006).

*Enterococcus faecalis*: son microorganismos cocos Gram positivos aisladas en parejas o en cadenas, son anaerobios facultativos y catalasa negativos. *E. faecalis* está presente en un 80% a 90% en aislamientos clínicos ya que es el patógeno humano más frecuente (Rodríguez, 2006).

*Candida albicans*: es una levadura que produce patologías en el hombre frecuentemente con variadas manifestaciones clínicas. Está presente en la mucosa bucal, tracto gastrointestinal, vaginal y actúa como oportunista en las infecciones micóticas como infecciones cutáneas, afecciones pulmonares, septicemia y otras manifestaciones (Rinaldi, 1993).

## **2.8. Definición de probiótico**

En 1965 Stillwell y Lily lo definieron como “sustancias secretadas por un microorganismo que estimula el crecimiento de otro” (Lily y Stillwell, 1965).

La FAO/OMS en el 2002, para ayudar a la interpretación estableció al probiótico como “Cepas de microorganismo estrictamente seleccionados que, al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud en el individuo” (FAO/WHO, 2002; pp.1 -4).

## **2.9. Característica de un probiótico**

Un probiótico debe reunir ciertas características como habitar normalmente en el intestino humano, no ser patógeno no producir toxinas, sobrevivir en medios



ácidos (estómago), sales biliares (duodeno), la microbiota nativa no debe ser desplazada, producir sustancias antimicrobianas, aumentar la capacidad inmune y la acción metabólica, se observa en los géneros de *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, que tienen propiedades benéficas para la salud (Dunne et al., 2001).

#### **2.10. Capacidad probiótica**

Las BAL deben cumplir con la condición de probiótico en ambientes como en el estómago ya que ahí se secreta jugo gástrico formado por moco, enzimas y un ácido fuerte (HCl). La superficie interna de la pared estomacal presenta muchos pliegues, que llevan a glándulas gástricas tubulares, estas tienen tres tipos de células que secretan moco, el cual lubrica y protege las células que recubren el estómago; otras células que secretan pepsinógenos que es una forma inactiva de la enzima digestiva pepsina y ácido clorhídrico (HCl); esto favorece a la digestión, pero sobreviven muy pocos microorganismos a estas condiciones por lo cual es utilizado para defenderse de los patógenos potenciales (Campbell et al., 2001), también están presentes las sales biliares que al liberarse en el duodeno solubilizan las grasas y presentan un efecto antimicrobiano desorganizando la membrana del microorganismo condicionando la funcionalidad de las bacterias intestinales (Ruiz et al., 2013), por lo cual el probiótico debe tolerar las sales biliares, la literatura señala que la hidrolasa protegería a los microorganismos probióticos de la acción antimicrobiana de la bilis actuando como un marcador de adaptación microbiana al ambiente intestinal (Reinheimer y Zalazar, 2006). El tránsito en el colon es lento para dar un mayor tiempo de residencia para el crecimiento de microorganismo y permitir una interacción lumen mucosa (Khanna y Tosh, 2014).

#### **2.11. Efecto de los probióticos en diferentes patologías**

##### **2.11.1. Prevención de la diarrea aguda**

En “la prevención de la diarrea infantil y del adulto solamente hay evidencia que sugiere que *Lactobacillus* GG, *L. casei* DN-114 001 y *Sacharomyces boulardii* son eficaces en algunas condiciones específicas” (WGO, 2011, p -16).

##### **2.11.2. Tratamiento de la diarrea aguda**

Se ha confirmado que la administración oral de probióticos como *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* DN-114 001 y *Sacharomyces boulardii* son útiles ya que disminuyen la severidad y la duración de enfermedades diarreicas en niños. Cada cepa de probióticos

presenta un mecanismo de acción específica; en varios ensayos clínicos y controlados los probióticos se han mostrado como seguros y eficaces, en especial cuando se suministra oportunamente (Nova et al., 2007).

#### **2.11.3. Diarrea asociada a antibióticos**

*Sacharomyces boulardii*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei* DN-114 001 se muestran eficaces en niños o adultos que sufren de diarreas por una terapia de antibióticos cabe señalar que *Lactobacillus casei* DN-114 001 también es eficiente frente a diarreas provocadas por *Clostridium difficile* (adultos hospitalizados) (Nova et al., 2007).

#### **2.11.4. Síndrome de intestino irritable (SII)**

*Bifidobacterium infantis* 35624 utilizado en estudios recientes demostró disminuir la distensión abdominal, flatulencias mejorando el dolor y otorgando una mejoría general. Al utilizar placebos y probióticos en otro estudio este último demostró ser una efectiva terapia frente al intestino Irritable. Todos estos estudios sugieren que al emplear ciertos probióticos como es el caso de *Lactobacillus reuteri*, que mitiga el dolor abdominal funcional que sufre el individuo (Nova et al., 2007).

#### **2.11.5. Erradicación de *Helicobacter pylori***

Los lactobacilos que se encuentran dentro del grupo de bacterias ácido lácticas, disminuyen el efecto colateral de antibióticos. En los ensayos aleatorizados al adicionarse un esquema de medicamentos con probióticos se advierte un aumento en la tasa de erradicación de *H. pylori*, utilizándose en pacientes en los que la medicación sola no es suficiente, como tampoco no hay evidencia competente de que un probiótico por si solo erradique a *H. pylori* por lo tanto estos estudios nos muestran que el probiótico sirve como adyuvante en la eliminación de *H. pylori* (Nova et al., 2007).

#### **2.11.6. Efectos inmunomoduladores**

La literatura nos manifiesta que el probiótico modula la respuesta inmune en la mucosa intestinal y sistémica en seres vivos del reino animal, por lo cual se evalúa el manejo terapéutico de enfermedades inflamatorias. En el hombre el balance de la microbiota intestinal puede estar influenciado por estrés, medicamentos, leches artificiales, la senectud y las enfermedades gastrointestinales (Nova et al., 2007).

#### **2.11.7. Infección del tracto genitourinario**

Existe ciertas evidencias de que los probióticos actúan preventivamente en trastornos del aparato urogenital al administrar por medio de alimento y/o

preparación tópicos (FAO/WHO, 2002), al disminuir la cantidad de *Lactobacillus* o al ser prácticamente nulo el asentamiento de uropatógenos aumenta como es el caso de *Escherichia coli*, bacilos Gram negativos, *Gardnella vaginalis*, entre otros (Reid y Devillard, 2004; Stapleton, 2003).

#### **2.11.8. Micosis vulvovaginales**

Los probióticos presentes en la vagina sintetizan compuestos antimicrobianos que se coagregan con los patógenos contribuyendo en el equilibrio de la microbiota existente en este órgano por lo tanto reducen infecciones vaginales y vulvovaginitis candidiásica (Urrútia et al., 2014; Suárez et al., 2015). Al utilizar los probióticos como adyuvantes en la terapia de infecciones fúngicas se mostró una mayor eficacia (Liu et al., 2013).

#### **2.12. Prebióticos**

Se definió como “sustancias de la dieta que nutren a grupos seleccionados de microorganismos que habitan en el intestino favoreciendo el crecimiento de bacterias beneficiosas sobre las nocivas” (WGO, 2011; p - 5).

#### **2.13. Simbióticos**

“Los simbióticos son combinaciones apropiadas de prebióticos y probióticos ejerciendo un efecto prebiótico como probiótico” (WGO, 2011; p-5).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga durante los meses de abril a noviembre del 2019.

#### 3.2. Material biológico

Se identificó el binomio madre-niño en el Centro de Salud Los Licenciados, por la temporalidad de 2 meses, tomando 46 muestras biológicas que contenían los pañales de los infantes, previo consentimiento informado de las madres de familia, teniendo en cuenta la lactancia materna exclusiva y que no tengan enfermedades gastrointestinales (Anexo 19 y 20).

#### 3.3. Metodología

##### 3.3.1. Traslado de muestras biológicas

- Los pañales de los infantes de 2 a 6 meses de edad, fueron recolectadas y transportadas en un *cooler*, luego en el laboratorio se procedió a sembrar las muestras de heces (Rodríguez, 2009).

##### 3.3.2. Aislamiento de bacterias ácido lácticas

- Con un hisopo estéril se tomó una porción de heces que contenía el pañal, se sembró en el caldo Lactobacilli y posteriormente se incubó a 37 °C durante 24 horas (Rodríguez, 2009).
- Luego del crecimiento en el caldo Lactobacilli, se sembró por agotamiento en superficie en agar Lactobacilli e incubó a 37 °C durante 24 horas para su respectiva identificación y elaboración del cepario (Rodríguez y García-Godos, 2017).

##### 3.3.3. Identificación de las cepas aisladas

###### Características macroscópicas

- Se sembró una asada del cultivo aislado en el caldo Lactobacilli e incubó a 37°C durante 24 horas, posteriormente se sembró en agar Lactobacilli por

agotamiento en superficie e incubó a 37 °C durante 24 horas (Rodríguez y García-Godos, 2017).

- Luego se observó las características macroscópicas de las colonias que crecieron en agar Lactobacilli; siendo de forma circular, borde entero y color blanco opaco (Vos et al., 2009; Prescott et al., 2004).

#### **Características microscópicas**

- Se sembró una asada del cultivo aislado en el caldo Lactobacilli e incubó a 37°C por 12 horas (Rodríguez y García-Godos, 2017).
- Después del crecimiento se realizó la tinción de Gram y se observó en el microscopio utilizando el objetivo de 100X, debiendo ser Gram positivas y de forma bacilar (Clark et al., 2009).

#### **Prueba de fermentación de azúcares**

- Primero se preparó el medio base para los hidratos carbono, luego se llevó a una temperatura de 50°C, distribuyendo 5 mL en cada tubo de ensayo (Mac-Faddin, 1990).
- Luego se agregó los hidratos de carbono a cada tubo 0,5 % la salicina y los demás azúcares como arabinosa, celobiosa, fructosa, galactosa, glucosa, lactosa, maltosa, manitol, manosa, rafinosa, rhamnosa, ribosa, melibiosa, sorbitol, sacarosa, xilosa, inulina y almidón al 1 % (Mac-Faddin, 1990).
- Finalmente se agregaron 100 µL de las cepas aisladas y sembradas previamente en caldo Lactobacilli a 37 °C por 18 horas. (Mac-Faddin, 1990) Los cambios de color que se observaron permitieron la identificación de las cepas, observar en el anexo 6, 7 y 8 (Vos, et al., 2009; Petrova-Dimitonova et al., 2008).

#### **3.3.4. Prueba del efecto antimicrobiano *in vitro***

- Se sembró en caldo Nutritivo las bacterias patógenas *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, se incubó a 37 °C por 24 horas y en el caso de *Candida albicans* ATCC 90028 (Anexo 13) se sembró en caldo Sabouraud e incubó a 25 °C por 24 horas (Rodríguez y García-Godos, 2017; Sacsquispe y Velasquez, 2002).
- Luego las cepas patógenas sembradas se compararon con la escala de McFarland con una turbidez equivalente al tubo N° 0,5 (Rodríguez y García-Godos, 2017).

- Se preparó el agar de Müller Hinton y Sabouraud, se esterilizó y se distribuyó en placas de Petri (Rodríguez y García-Godos, 2017).
- Después con un hisopo estéril y diferente se sumergió en el caldo nutritivo o en caldo Sabouraud, y se sembró por agotamiento en superficie en tres direcciones de forma uniforme en el agar de Müller Hinton o en el agar Sabouraud según el patógeno a sembrar (Rodríguez y García-Godos, 2017). Previamente las cepas de las bacterias aisladas e identificadas fueron sembradas en caldo Lactobacilli e incubadas a 37 °C por 18 horas, se comparó con la escala de McFarland con una turbidez equivalente al tubo N° 4 (Rodríguez y García-Godos, 2017).
- La actividad antagónica se realizó por el método de difusión de pocillos en agar, para lo cual se utilizó un sacabocado para obtener pocillos en las placas con el agar Müller Hinton y Sabouraud anteriormente sembrados con los patógenos. Luego se inoculó 25 µL de las cepas aisladas e identificadas de *Lactobacillus* en cada pocillo (Montville et al., 1999).
- Después se incubó a 37 °C por 24 horas en caso de las bacterias patógenas y para la levadura se incubó a 25 °C por 24 horas. Finalmente se observó el efecto antimicrobiano y se procedió a medir el diámetro de los halos de inhibición (Rodríguez y García-Godos, 2017; Sacsquispe y Velasquez, 2002).

### **3.3.5. Evaluación de la capacidad probiótica**

#### **Tolerancia a pH ácido**

- Se preparó caldo Lactobacilli el cual fue ajustado a diferentes pH 2,0; 3,0; 4,0 y 5,0 con HCl al 0,1 N; distribuyendo 5 mL en cada tubo de ensayo.
- Previamente las cepas aisladas de *Lactobacillus*, se sembraron en caldo Lactobacilli a 37 °C por 18 horas.
- En cada tubo con diferentes pH; se inoculó 100 µL de las cepas aisladas de cultivo joven de *Lactobacillus*. Luego se incubó a 37 °C durante 24 horas (Spencer y Ragout, 2001; Rodríguez y García-Godos, 2017).

#### **Tolerancia a jugo gástrico**

- Se preparó jugo gástrico artificial, para lo cual se utilizó NaCl (2 g/ L) y pepsina (3,2 g/L) luego se ajustó el pH a 3,5 usando solución de HCl al 0,1 N; distribuyendo 5 mL en cada tubo de ensayo.

- Como control, se ajustó jugo gástrico artificial a un pH de 6,5 – 7,0 usando NaOH al 5 N. Las cepas de *Lactobacillus* se sembraron en caldo Lactobacilli a 37 °C por 24 horas.
- En los tubos, conteniendo jugo gástrico artificial; se inoculó 100 µL de las cepas aisladas de cultivo joven de *Lactobacillus*. Luego se incubó a 37°C por 24 horas (Spencer y Ragout, 2001; Rodriguez y García-Godos, 2017).

#### **Tolerancia a sales biliares**

- Se preparó caldo Lactobacilli, después se suplementó con sales biliares a 0,05; 0,1; 0,15 y 0,3 % (p/v), distribuyendo 5 mL en cada tubo de ensayo.
- Previamente las cepas aisladas de *Lactobacillus*, se sembraron en caldo Lactobacilli a 37°C por 18 horas.
- En el caldo suplementado con sales biliares, se inoculó 100 µL de las cepas aisladas de cultivo joven de *Lactobacillus*. Luego se incubó a 37 °C por 24 horas (Spencer y Ragout, 2001; Rodriguez y García-Godos, 2017).

#### **3.4. Análisis estadístico**

A partir de los datos se obtuvieron las estadísticas descriptivas. Se realizó el análisis de varianza simple y en la comparación de promedios se empleó la prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%. Los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico Minitab 18 y Microsoft Excel 2019.

#### **IV. RESULTADOS**



**Tabla 1.** Especies de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

<b>Especies</b>	<b>N°</b>	<b>%</b>
<i>L. paracasei</i>	8	57
<i>L. acidophilus</i>	6	43
TOTAL	14	100

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 2.** Características macroscópicas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

<b>CÓDIGO DE CEPA</b>	<b>Forma</b>	<b>Borde</b>	<b>Elevación</b>	<b>Superficie</b>	<b>Consistencia</b>	<b>Color</b>	<b>Brillo</b>
1	Circular	Entera	Elevado	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
2	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Seca	Blanca y opaca	Mate
3	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
4	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Seca	Blanca y opaca	Mate
5	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
6	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Seca	Blanca y opaca	Mate
7	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
8	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
9	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмосо	Blanca y opaca	Mate
10	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
11	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Seca	Blanca y opaca	Mate
12	Circular	Entera	Elevada	Rugosa	Creмоса	Blanca y opaca	Mate
13	Circular	Entera	Convexa	Lisa	Seca	Blanca y opaca	Mate
14	Circular	Entera	Elevada	Lisa	Seca	Blanca y opaca	Mate

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 3.** Características microscópicas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

<b>CÓDIGO DE CEPA</b>	<b>REACCIÓN Gram</b>	<b>CARACTERÍSTICAS</b>
1	+	Bacilo en cadena
2	+	Bacilo en cadena
3	+	Bacilo en cadena
4	+	Bacilo individual y en cadena
5	+	Bacilo en cadena
6	+	Bacilo individual y en cadena
7	+	Bacilo en cadena
8	+	Bacilo en cadena
9	+	Bacilo en cadena
10	+	Bacilo en cadena
11	+	Bacilo individual y en cadena
12	+	Bacilo en cadena
13	+	Bacilo individual y en cadena
14	+	Bacilo individual y en cadena

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 4.** Identificación de especies de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

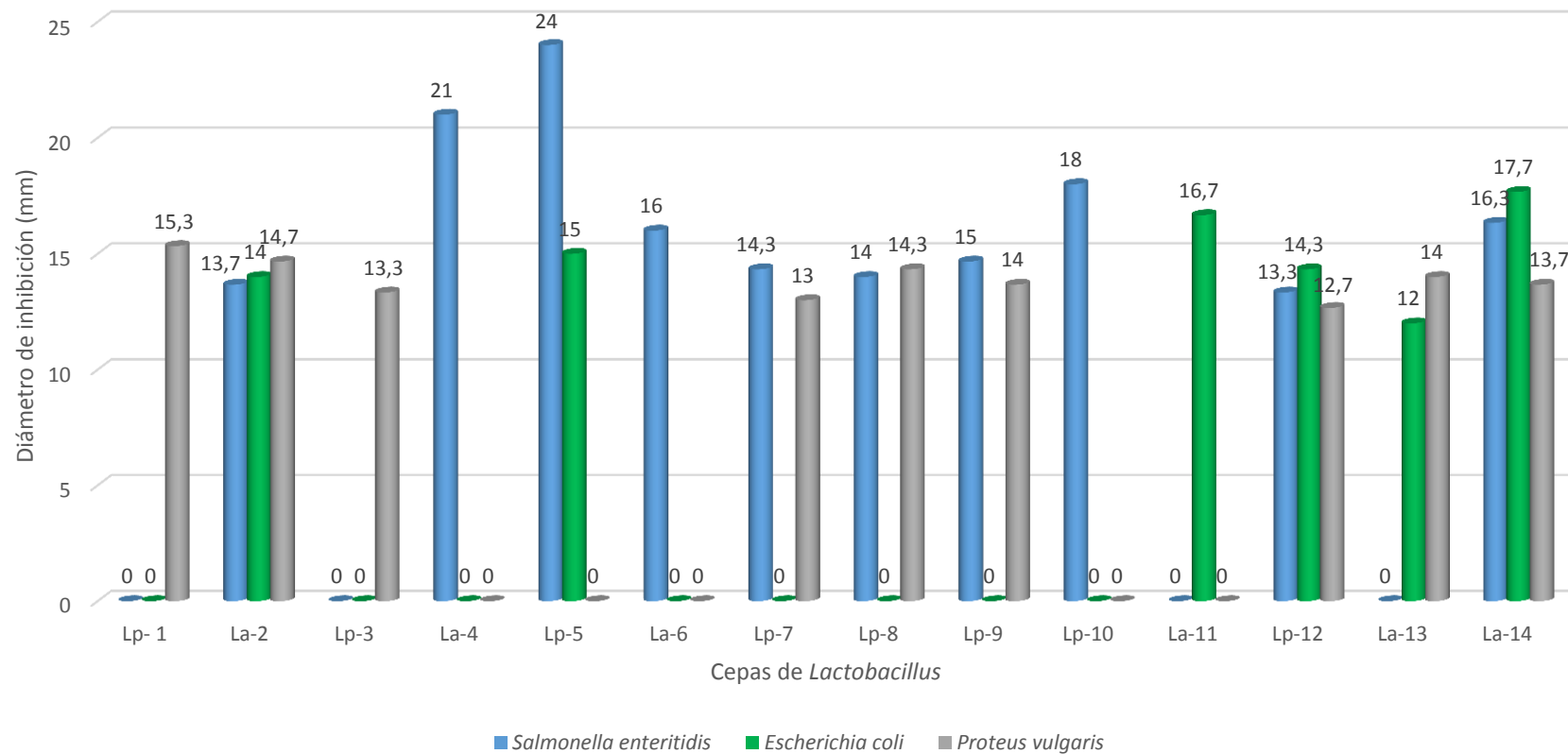
<b>CÓDIGO DE CEPAS AISLADAS</b>	<b>ESPECIES IDENTIFICADAS</b>
Lp-1	<i>Lactobacillus paracasei</i>
La-2	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Lp-3	<i>Lactobacillus paracasei</i>
La-4	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Lp-5	<i>Lactobacillus paracasei</i>
La-6	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Lp-7	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Lp-8	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Lp-9	<i>Lactobacillus paracasei</i>
Lp-10	<i>Lactobacillus paracasei</i>
La-11	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
Lp-12	<i>Lactobacillus paracasei</i>
La-13	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
La-14	<i>Lactobacillus acidophilus</i>

**Tabla 5.** Diámetro de los halos de inhibición de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.\*

N° DE CEPAS AISLADAS	<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 mm	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 mm	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 mm	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 mm	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 mm	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028 mm
Lp-1	--	--	15,3	--	--	22
La-2	13,7	14	14,7	15,3	--	--
Lp-3	--	--	13,3	--	14,7	--
La-4	21	--	--	--	--	--
Lp-5	24	15	--	14	15	19,3
La-6	16	--	--	13,7	14	--
Lp-7	14,3	--	13	--	--	--
Lp-8	14	--	14,3	--	14,3	20,3
Lp-9	15	--	14	14	13	--
Lp-10	18	--	--	13,3	13,7	--
La-11	--	16,7	--	--	--	20
Lp-12	13,3	14,3	12,7	16,7	16	19
La-13	--	12	14	14,3	--	21,3
La-14	16,3	17,7	13,7	17	15	--

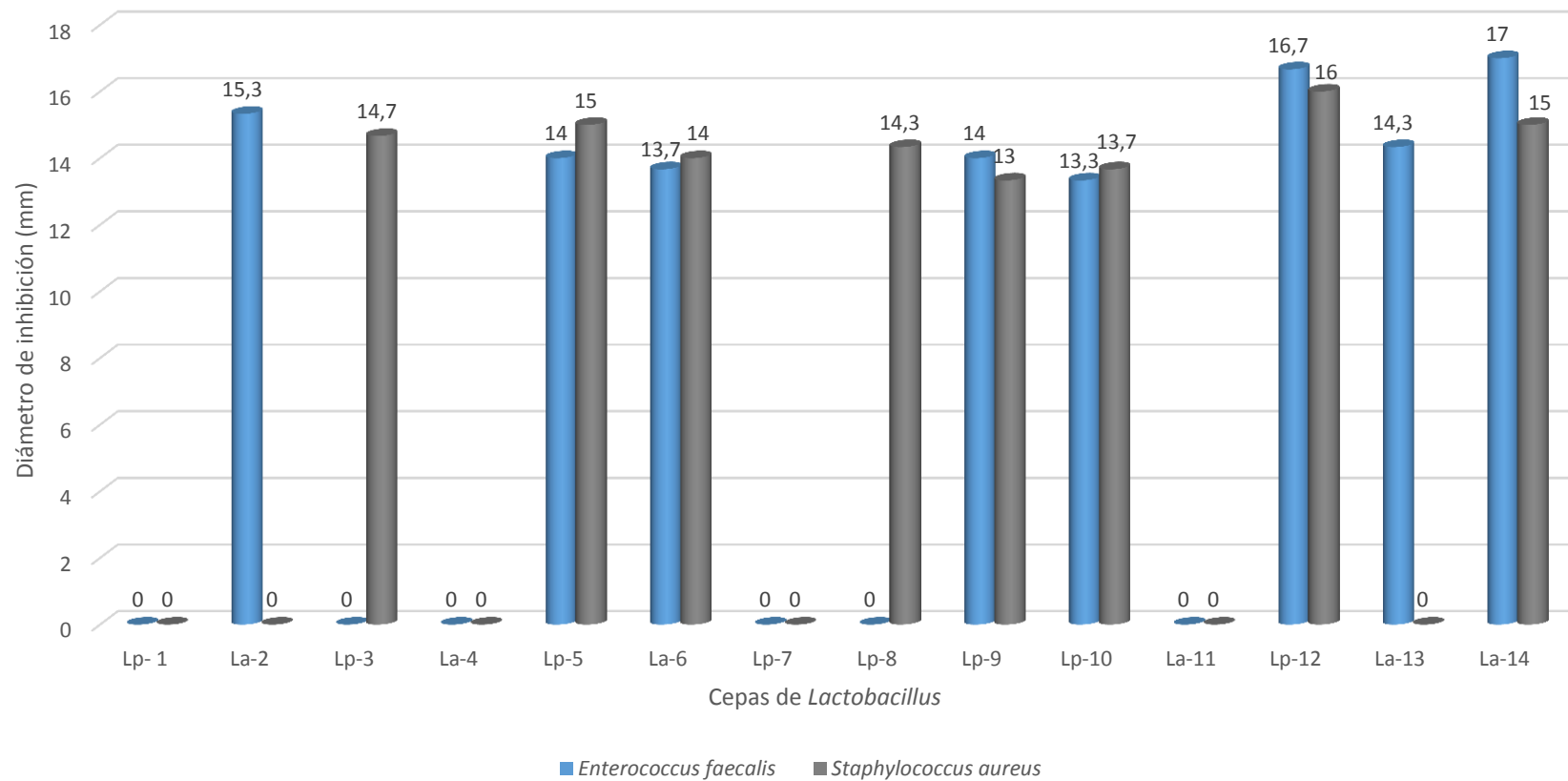
Fuente: Elaboración propia

\* Con 3 repeticiones



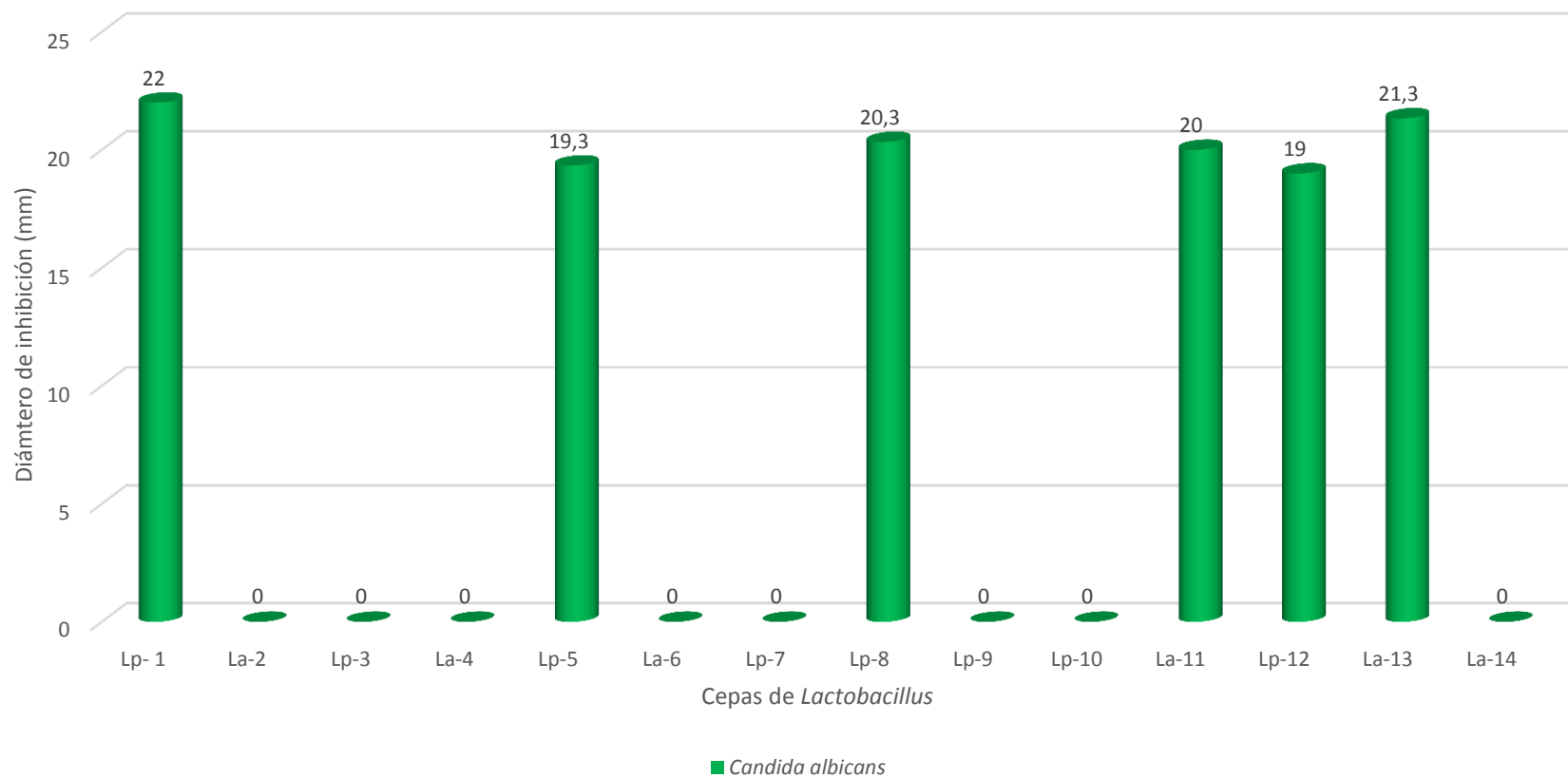
Fuente: Elaboración propia

**Figura 1.** Efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a microorganismos patógenos Gram negativos.



Fuente: Elaboración propia

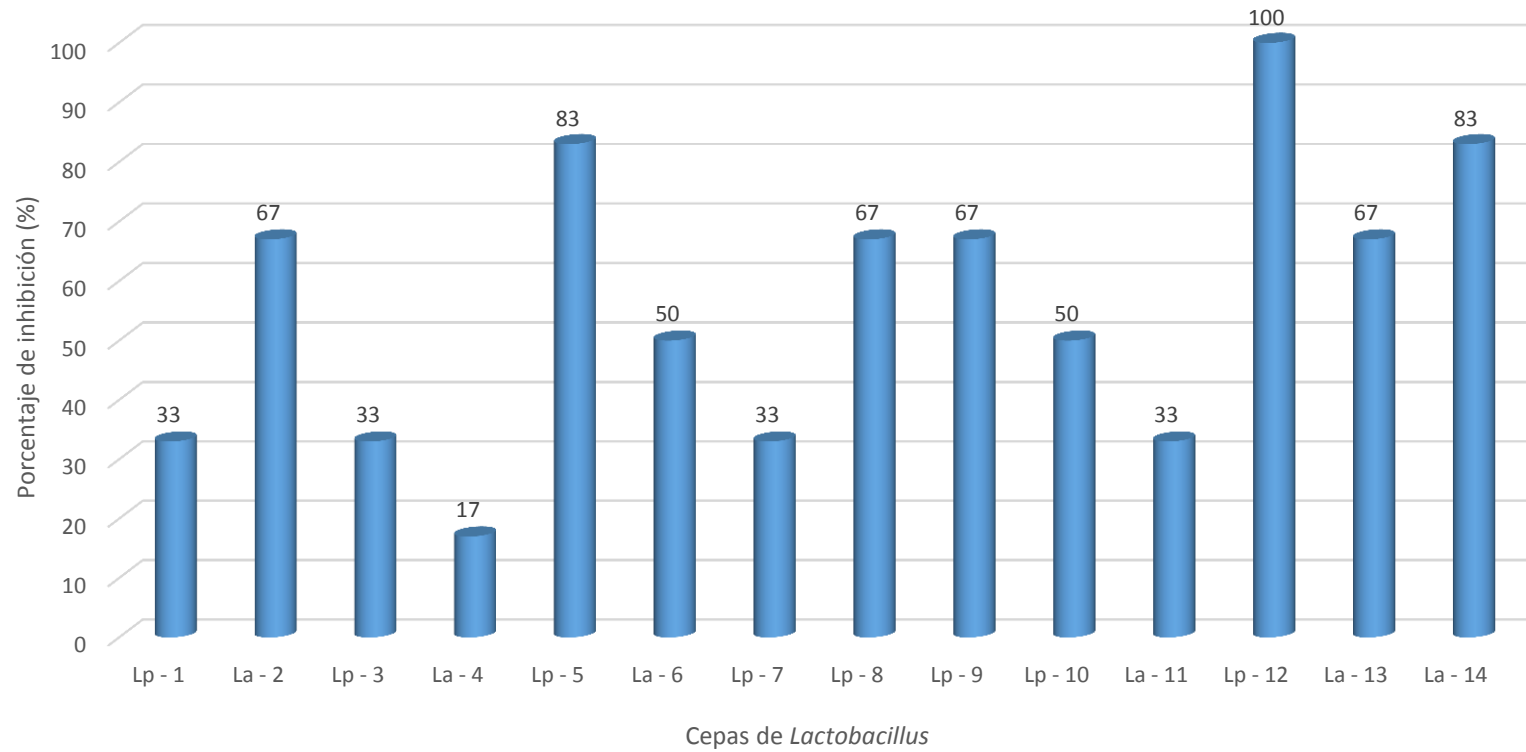
**Figura 2.** Efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a microorganismos patógenos Gram positivos.



Fuente: Elaboración propia

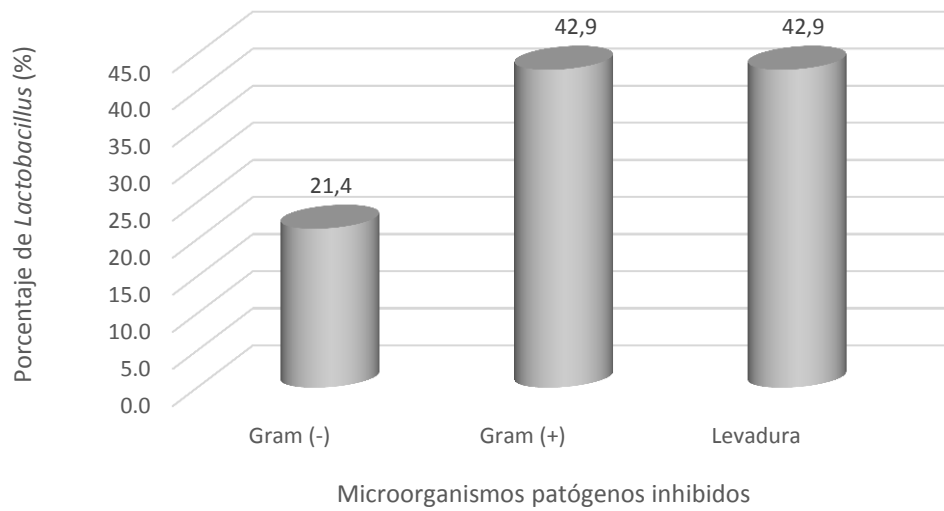
**Figura 3.** Efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a *Candida albicans* ATCC 90028.





Fuente: Elaboración propia

**Figura 4.** Efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a microorganismos patógenos.



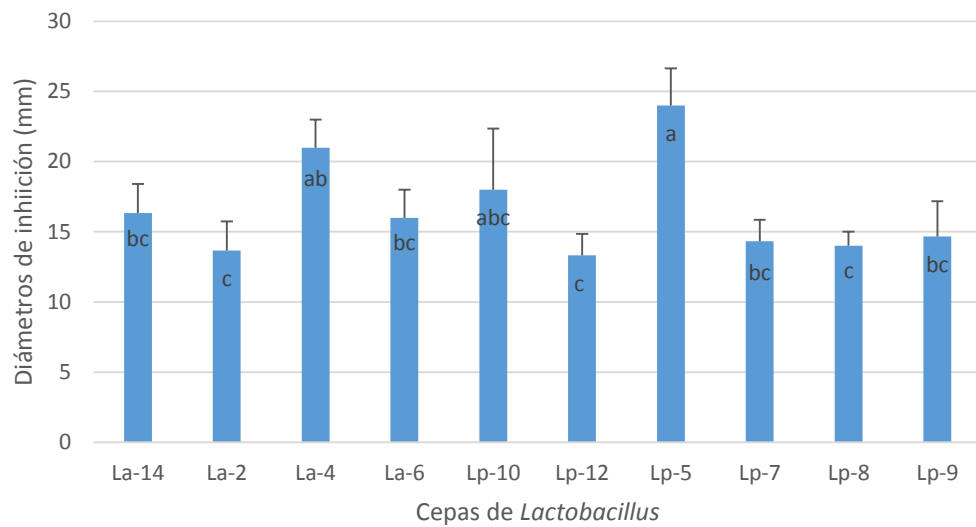
Fuente: Elaboración propia

**Figura 5.** Porcentaje de microorganismos patógenos inhibidos por *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

**Tabla 1.** Capacidad probiótica de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

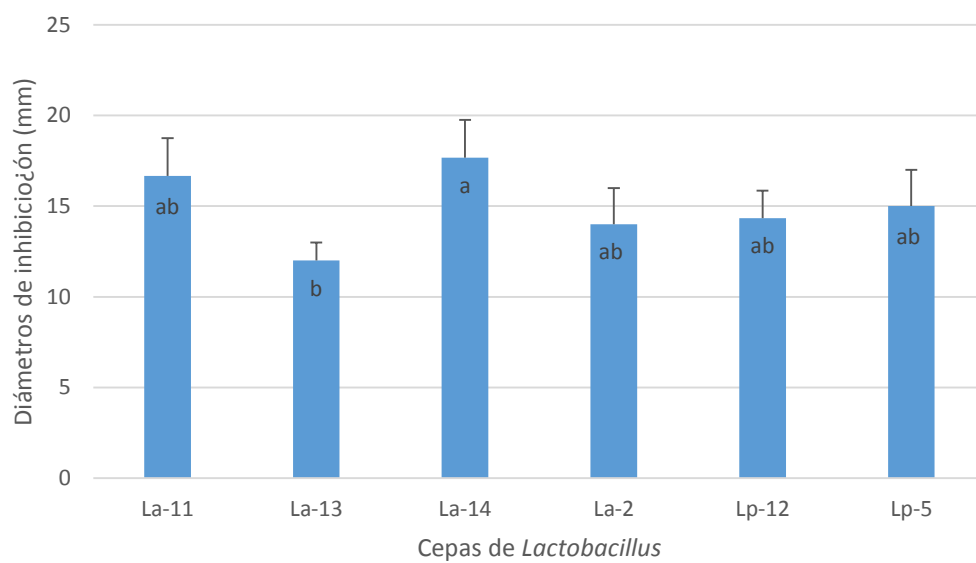
CAPACIDAD PROBIÓTICA									
CÓDIGO DE CEPAS	pH				Jugo gástrico	Bilis (%p/v)			
	2	3	4	5		0,05%	0,1%	0,15%	0,3%
La – 2	--	--	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Lp – 5	--	--	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Lp – 12	--	--	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
La – 14	--	--	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

**Figura 1.** Efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076



Fuente: Elaboración propia

**Figura 2.** Efecto antimicrobiano de cepas de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a *Escherichia coli* ATCC 25922

## V. DISCUSIÓN

En la investigación se aislaron 14 cepas de *Lactobacillus* de heces de infantes (Tabla 1), resultados que coinciden con Paitan et al. 2019, quienes aislaron 48 cepas entre *Lactobacillus* y *Enterococcus* de neonatos, si bien la microbiota es relativamente estable varía de un individuo a otro o incluso en el mismo individuo, ya sea por la dieta u otras circunstancias como se observa en la investigación en la que se utilizó muestras de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad alimentados exclusivamente con leche materna, lo que resulta en la variación de la microbiota (Khanna y Tosh, 2014).

La identificación de las BAL se realizó en base a las características macroscópicas en las que se evaluó la forma, borde, elevación, superficie, consistencia, color y brillo (Tabla 2), resultados que son similares con Rojas 2011, quien observó en aislamiento e identificación de *Lactobacillus spp.* de heces de niños lactantes, como las características culturales de las colonias como bordes regulares, aspecto cremoso y sin brillo. En las características microscópicas se determinó la reacción frente a la tinción de Gram como también las características de forma y agrupación, lo que se visualiza en la Tabla 3, observando que el 100 % son Gram positivas de forma bacilar, agrupados en cadena y células individuales, estos resultados confirman lo reportado por Rojas (2011), evidenciando bacilos Gram positivos con una morfología individual y ausencia de esporas.

Para la identificación de las cepas se realizó la prueba de capacidad fermentativa de azúcares, para lo cual se utilizó 19 azúcares (salicina, arabinosa, celobiosa, fructuosa, galactosa, glucosa, lactosa, maltosa, manitol, manosa, rafinosa, rhamnosa, ribosa, melibiosa, sorbitol, sacarosa, xilosa, inulina y almidón), producto de ello se identificó que dentro de las 14 cepas aisladas, 6 fueron *Lactobacillus acidophilus* y 8 *Lactobacillus paracasei* (Tabla 4) las que

fueron identificadas en base al Manual de Bergey, los resultados coinciden con la investigación realizada por Muñoz 2011, en la que procesó 12 muestras de heces de niños alimentados exclusivamente con leche materna de los cuales se identificaron cepas de *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus rhamnosus*, no llegaron a aislar *Lactobacillus acidophilus* debido a que en el aislamiento utilizaron el medio Man Rogosa Sharp (MRS), por lo que este medio carece del jugo de tomate compuesto esencial para el crecimiento de *Lactobacillus acidophilus* ya que en su composición contiene vitaminas y minerales para el desarrollo de las BAL (Vos et al., 2009).

Al realizarse la prueba de inhibición de las cepas de *Lactobacillus* frente a los microorganismos patógenos seleccionados para la investigación (Tabla 5), se observó que la cepa Lp-12 (*Lactobacillus paracasei*) presentó inhibición frente a las 6 cepas de patógenos; Gram negativas como *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Proteus vulgaris* ATCC 13315; Gram positivas, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y una levadura *Candida albicans* ATCC 90028 (Figura 1, 2 y 3); mientras que las cepas Lp-5 y La-14 presentan inhibición de un 83 % al menos a un microorganismo patógeno de los grupos Gram negativas, Gram positivas y levaduras (Figura 4), en cambio solo el 21,4 % de *Lactobacillus* inhiben a las tres cepas de Gram negativas, el 42,9 % a Gram positivas y a levaduras (Figura 5). Es importante señalar que en base a la investigación se aisló cepas de *Lactobacillus* que presentan una inhibición de amplio espectro, mientras que otras cepas son más específicas para bacterias Gram negativas, Gram positivas y para levaduras; propiedades que son muy importantes para el tratamiento de diferentes enfermedades. En la Tabla 5, se observa cepas que presentaron un mayor halo de inhibición frente a bacterias Gram negativas siendo la cepa Lp-5 (*Lactobacillus paracasei*) la cual se puede potenciar como una cepa probiótica para el tratamiento de enfermedades como infecciones urinarias, diarreas, peritonitis y otras enfermedades, (Bush et al., 2020) la cepa que inhibió a bacterias Gram positivas fue La-14 (*Lactobacillus acidophilus*), esta se puede aprovechar para el tratamiento de enfermedades causantes de infecciones de la piel. (Bush et al., 2019) Finalmente, Lp-1 (*Lactobacillus paracasei*) presentó un mayor halo de inhibición frente a la levadura *Candida albicans* ATCC 90028, esta cepa puede ser utilizada como antimicótico o adyuvante al tratamiento antifúngico (Liu et al., 2013), también se aislaron cepas de *Lactobacillus* como

Lp-1, Lp-4 Lp-3 y La-11 las que presentan inhibición frente a uno o dos patógenos estudiados, deduciendo que no todas las cepas tienen amplio espectro para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

Se evidencia en la Figura 1 que la cepa *Lactobacillus paracasei* (Lp-5) inhibió a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 (24 mm), en cambio la cepa La-14 presenta una mayor efecto antimicrobiano frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 (17,7 mm) y para *Proteus vulgaris* ATCC 13315 la cepa Lp-1 inhibió formando un diámetro de 15,3 mm. Teniendo en cuenta la investigación de Paitán et al. 2019 en la caracterización molecular de bacterias, reportaron antagonismo de las cepas aisladas de heces de neonatos, todas las cepas aisladas inhibieron a *Salmonella enterica* mientras que cuatro cepas inhibieron a *Escherichia coli*. Muñoz 2011 aisló a partir de heces de niños alimentados con leche materna a *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034 que inhibió el crecimiento de forma significativa de las bacterias *Salmonella typhimurium* CECT 443, *Salmonella typhimurium* CECT 4594 y a *Salmonella typhi* CECT 725. En las investigaciones mencionadas las cepas de *Lactobacillus* aisladas producen bacteriocinas inhibiendo a un elevado porcentaje de bacterias Gram negativas, es importante señalar que las bacteriocinas son metabolitos inhibitorios que sintetizan y contribuyen a fenómenos de antibiosis, necesitando fijarse a un receptor específico, la célula productora sintetiza igualmente una molécula que la inmuniza contra su propia bacteriocina mostrando diferencias entre las BAL y los patógenos lo que se evidencia en el tamaño de halo de inhibición (Klaenhammer y Kullen 1999). En la investigación de Sánchez et al. 2015, evaluaron las cepas de *Lactobacillus* aislados del tracto intestinal de terneros y su actividad antagonica frente a *Salmonella sp.* reportaron la formación de halos de inhibición de  $32,62 \pm 0,04$  mm y frente a *Escherichia coli* ATCC 11229 se evidenciaron halos de inhibición que llegaron a  $32,8 \pm 0,15$  mm, en la investigación se realizó la prueba antimicrobiana de *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus acidophilus* que son diferentes cepas, por lo que se reporta una diferencia en la sensibilidad frente a los patógenos. Por otro lado Goudarzi et al. (2016) evaluaron el efectos antimicrobianos de bacteriocinas contra *Proteus spp.* , extrayendo bacteriocinas de especies de *Lactobacillus*, señalando que la mayor actividad inhibitoria fue producida por las bacteriocinas de *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 frente a *Proteus vulgaris* PTCC 1182, en comparación con la investigación la cepa *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus acidophilus* inhibieron a *Proteus vulgaris*



ATCC 13315, resultado que señala la efectividad de cepas de *Lactobacillus* aisladas, esto se debe a que las bacteriocinas penetran la membrana externa de las bacterias Gram negativas para inactivarlas y producir la lisis celular (Yusuf, 2013).

La cepa que inhibió y formó un mayor halo de inhibición frente a *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 fue la cepa La-14 (17 mm) y para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fue la cepa Lp-12 la que se evidenció con un mayor halo de inhibición de 16 mm (Figura 2). Comparando con Rine et al. (2019), que aislaron BAL de pollos de engorde señaló una capacidad de inhibición contra 6 cepas patógenas que incluyen a *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella enteritidis* ATCC 13098 y *Enterococcus faecalis* ATCC 51299 y la BAL aislada fue *Lactobacillus reuteri* que formó de  $16,5 \pm 0,71$  mm de halos de inhibición frente a *Enterococcus faecalis*, resultados que coinciden con la investigación. Sánchez et al. 2015; realizaron el antagonismo *in vitro* de *Lactobacillus spp.* aislados del tracto intestinal de terneros, observándose la acción antimicrobiana de la cepa M5 frente a *Staphylococcus aureus* formó un mayor halo de inhibición, con un diámetro de  $31 \pm 0,03$  mm; es claro que existe efecto inhibitorio, aunque estas cepas fueron aisladas del tracto gastrointestinal de terneros. En el estudio de levaduras se realizó la prueba antimicrobiana de las 14 cepas aisladas de *Lactobacillus*, de las cuales se observó que la cepa Lp-1 formó un mayor halo de inhibición de 22 mm de diámetro frente a *Candida albicans* ATCC 90028 (Figura 3), este resultado es similar a lo reportado por Sánchez et al. 2011, donde aislaron cepas de *Lactobacillus spp.* de la vagina de mujeres sanas, observando que cinco cepas inhibieron a *Candida albicans*. Estos resultados se fundamentan en la actividad por ejemplo del peróxido de hidrógeno o las bacteriocinas que frente a bacterias Gram positivas, alteran la membrana plasmática del patógeno al formar poros; como también los productos de la fermentación como ácido láctica, ácido acético y la formación de peróxido de hidrógeno todos estos compuestos inhiben el crecimiento de patógenos (Lindgren y Dobrogosz, 1990; Piard y Desmazeaud, 1991).

En base a las pruebas de inhibición se han seleccionado cuatro cepas que presentaron mayor diámetro en los halos de inhibición frente a los microorganismos patógenos y se les realizó la evaluación de capacidad probiótica, teniendo en cuenta la tolerancia a pH de 2, 3, 4 y 5, a sales biliares al 0,05 %; 0,1 %; 0,15 % y 0,3 % y en jugo gástrico artificial como se muestra en la Tabla 6.

Las cepas de *Lactobacillus paracasei* (Lp-5 y Lp-12) y *Lactobacillus acidophilus* (La-2 y La-14), mostraron crecimiento a un pH de 4 y 5, y no presentaron crecimiento a pH 2 y 3, resultados que coinciden con lo reportado por Acevedo et al. 2018 en la que determinaron la tolerancia a un pH entre 3,5 y 4,5; mientras que Muñoz 2011, señaló que la cepa *Lactobacillus paracasei* CNCM I-4034 presentan el 100 % de viabilidad a un pH 3,0 coincidiendo parcialmente con Paitán et al. 2019, que compararon porcentajes de sobrevivencia de 48 cepas cultivadas a un pH 3, mostrando crecimiento en tres cepas y Rojas 2011, observó que los cultivos de *Lactobacillus spp.* aislados de heces de niños lactantes, mostraron una sobrevivencia mayor al 45 % al tratamiento ácido a pH de 2 y 3. En la investigación las cepas de *Lactobacillus paracasei* (Lp-5 y Lp-12) y *Lactobacillus acidophilus* (La-2 y La-14) se sembraron en un medio con pepsina a pH de 3,5 condición similar al jugo gástrico, observando un menor crecimiento comparado al crecimiento en caldo Lactobacilli, en la investigación de Both et al. (2010) quienes evaluaron el crecimiento de células en jugo gástrico artificial a pH de 2, reportando que no se observó crecimiento; en cambio a pH 3, se observó crecimiento el cual fue disminuyendo en función del tiempo y finalmente establecieron un crecimiento óptimo a pH 4; mientras que en la investigación de Sánchez et al., 2015, concluyeron que a pH de 2,5; se evidencio crecimiento de 6 de las 10 cepas seleccionadas aisladas del tracto gastrointestinal de terneros, en las investigaciones mencionadas fundamentan el crecimiento a pH menores de 3 debido a la presencia de la enzima proteolítica como es la pepsina. Resultados que no coinciden con la investigación debido a que se estudió a cepas aisladas de diferente Fuente, en cambio los resultados presentan similitud cuando se aislaron de la misma Fuente como son las heces de neonatos reportados por Paitán et al., 2019, es importante mencionar que las especies de *Lactobacillus* señaladas son cepas diversas y por ello presentan diferente capacidad probiótica. La capacidad de *Lactobacillus* de crecer en medios de pH inferior de 5 se logra gracias a mecanismos que les permite mantener el pH intracelular celular cercano a la neutralidad como las bombas de extracción de protones, sin embargo, la eficiencia de estos mecanismos puede variar en los miembros de una misma especie (Vos et al., 2009). Es fundamental estudiar la capacidad probiótica de cada cepa debido a que el estómago secreta jugo gástrico formado por moco, enzimas como pepsina y ácido clorhídrico (HCl); esto favorece a la digestión, el ácido clorhídrico

estomacal disminuye el pH a niveles bajos, cercano a uno y bajo estas condiciones pocos microorganismos sobreviven, constituyendo una barrera de defensa para la sobrevivencia de patógenos (Campbell et al., 2001).

En el estudio las cepas de *Lactobacillus paracasei* (Lp-5 y Lp-12) y *Lactobacillus acidophilus* (La-2 y La-14) fueron sometidas a sales biliares de 0,05 %; 0,1 %; 0,15 % y 0,3 %; observando una disminución en el crecimiento de *Lactobacillus* a una concentración de 0,3 % valores que coincidiendo con Paitán et al., 2019, quienes probaron el crecimiento a 0,3 % de sales biliares, reportando que cinco cepas crecieron al igual que la cepa de referencia *Lactobacillus plantarum* ATCC 25922, como también Rojas 2011, probó la tolerancia y desarrollo suplementadas con sales biliares a una concentración de 0,3 % y 0,5 % en caldo MRS, en las que se sembraron las 24 cepas que aislaron de *Lactobacillus spp.* observándose el crecimiento de todas las cepas aisladas. Both et al., 2010; evaluaron a 0,3 %, 0,5 % y 1% de sales biliares, observando disminución en el crecimiento de las cepas de *Lactobacillus*, como encontramos en la literatura la diversidad de resultados se debe a la hidrolasa que aparte de actuar como un detergente también protegería a los microorganismos probióticos de la acción antimicrobiana de las sales bilis, actuando como un marcador de adaptación microbiano al ambiente intestinal (Reinheimer y Zalazar, 2006).

Se determinó que las cepas La-14, Lp-5 y Lp-12 son eficientes para inhibir el crecimiento de bacterias Gram negativas, Gram positivas y levaduras en base a ello podemos generar probióticos con estas tres cepas las cuales tendrían un efecto de amplio espectro empleándose para infecciones diarreicas, síndrome de intestino irritable (SII), erradicación de *Helicobacter pylori*, efectos inmunomoduladores, alergias e infecciones vaginales, con la ventaja que no presentarían efectos colaterales debido a que es un producto natural que en comparación con los fármacos presentan efectos adversos que pueden expresarse de distinta forma e intensidad supeditado a la sensibilidad del individuo (Yusuf, 2013). También es necesario señalar que con la administración de medicamentos se presentan resistencia frente a estos y con la desventaja que afecta a la economía de los usuarios (Ramos y Olivares, 2010). Actualmente se conoce que los probióticos, prebióticos y simbióticos son comercializados como agentes bioterapéuticos por ser catalogados como productos nutracéuticos, favoreciendo a la prevención y el mejor funcionamiento del organismo (ONU, 2018).

La Organización Mundial de Gastroenterología muestra evidencias científicas de la administración oral de cepas probióticas y/o prebiótico presentando eficacia en el tratamiento a condiciones gastrointestinales (WGO, 2017) como en la investigación de Grossi et al.(2010) evaluaron la diarrea aguda en atención primaria y verificaron que con la administración de la cepa *Lactobacillus paracasei* B21060 a pacientes con diarrea aguda presentaron una recuperación rápida. Se utilizó Flortec que es un agente simbiótico que consiste en la combinación de *Lactobacillus paracasei* B21060 y prebióticos observando que en el grupo que utilizó Flortec, el 91,8 % de pacientes mostraron efectos clínicos beneficiosos, Rodríguez 2009, aisló bacterias ácido lácticas de chicha de molle, de las cuales 14 cepas produjeron sustancias inhibidoras de amplio espectro; esto refuerza el uso de las cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus paracasei* aisladas de heces de infantes en la investigación son cepas prometedoras para la formulación de nutracéuticos con fines de terapia en patologías intestinales.

Al utilizar el análisis de varianza, resultó que al menos uno de los diámetros del halo de inhibición de las cepas de *Lactobacillus* difiere significativamente frente a microorganismos patógenos, se utilizó la comparación múltiple hallando que la cepa La-14, Lp-10 y Lp-5 no difieren significativamente pero tienen un mayor halo de inhibición en comparación con las otras cepas de *Lactobacillus* frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 (Figura 6) y frente a *Escherichia coli* ATCC 25922; la cepa La-14 tiene un mayor efecto inhibitorio con respecto a La-13, pero no difiere significativamente en comparación con las otras cepas que se observan en la Figura 7, pero en el análisis de varianza las cepas de *Lactobacillus* frente a *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 y *Candida albicans* ATCC 90028 no muestran diferencia significativa.

Estos resultados respaldan que con las cepas aisladas también se pueden formular vacunas orales con microbiota nativa propia de la zona y con la utilización de sustancias prebióticos provenientes como yacón, mashua, quinua propios de la región de Ayacucho, (Agroayacucho, 2020) en base a ello se generaría mayor demanda de los productos vegetales mejorando la economía de los campesinos de la zona y disminuyendo las afecciones gastrointestinales favoreciendo en la disminución de anemia de los niños.

## VI. CONCLUSIONES

1. Se aislaron 14 cepas de *Lactobacillus* de 46 muestras de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad que asistieron al Centro de Salud Los Licenciados.
2. Se identificó 2 especies *Lactobacillus*, las cuales fueron 8 cepas de *Lactobacillus paracasei* y 6 cepas de *Lactobacillus acidophilus*, en base a las características macroscópicas, microscópicas y prueba de fermentación de azúcares.
3. Se evaluó el efecto antimicrobiano *in vitro* de las 14 cepas de *Lactobacillus*, estas cepas inhibieron entre 21,4 % a un 42,9 % de microorganismos patógenos, presentando un potencial antimicrobiano de amplio espectro.

## VII. RECOMENDACIONES

- Estandarizar la concentración mínima inhibitoria de los compuestos antimicrobianos que producen las cepas aisladas de *Lactobacillus* en la investigación.
- Realizar ensayos *in vivo* con las cepas aisladas para evaluar la eficacia de *Lactobacillus*.
- Identificar las bacteriocinas que producen estas bacterias lácticas, para su posterior utilización en la conservación de alimentos y como aditivos o coadyuvantes en la formulación de medicamentos.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, E., Gutiérrez, C., García, M., y Díaz., C. (2018). Evaluation of viability of probiotic bacteria in mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") beverage. *DYNA*, 85(207), 84-92. Obtenido de <https://doi.org/10.15446/dyna.v85n207.70578>
- Agroayacucho. (2020). *Dirección Regional Agraria de Ayacucho*. Obtenido de Agroayacucho: <http://www.agroayacucho.gob.pe/estadisticas>
- Amorin, M., Schelotto, F., y Gadia, M. (2006). Gastroenteritis. En F. d. Higiene, *Temas de bacteriología y virología médica* (2 ed., págs. 163-187). Facultad de Medicina. Instituto de Higiene. <http://www.higiene.edu.uy/cefa/cefaed2006.htm>
- Both, E., György, É., Kibédi-Szabó, C., Tamás, É., Ábrahám, B., Miklóssy, I., y Lányi, S. (2010). Acid and bile tolerance, adhesion to epithelial cells of probiotic microorganisms. *U.P.B. Sci. Bull. Series B*, 72(2), 1454-2331. [https://www.scientificbulletin.upb.ro/rev\\_docs\\_arhiva/full2746.pdf](https://www.scientificbulletin.upb.ro/rev_docs_arhiva/full2746.pdf)
- Bush, L., & Schmidt, C. (Febrero de 2020). *Introducción a las bacterias gram negativas*. Merck Sharp y Dohme Corp.: <https://www.msmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias-gram-negativas>
- Bush, L., y Schmidt, C. (Junio de 2019). *Infecciones por Staphylococcus aureus*. Merck Sharp y Dohme Corp.: <https://www.msmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-grampositivas/infecciones-por-staphylococcus-aureus>
- Campbell, N., Mitchell, L., & Reece, J. (2001). *Biología: conceptos y relaciones* (3 ed.). Pearson Educación. <https://books.google.com.pe/books?id=NI2qFwNNYX4C&printsec=frontcover&dq=45.+Campbell+N,+Mitchell+Y,+Reece+J.+Biolog%C3%ADa:+conceptos+y+relaciones.+3a+ed.+M%C3%A9xico:+Pearson+Educaci%C3%B3n;+2001.&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEWij1P-h1rfsAhW1GbkGHYHcBeoQ6AEwAXoE>
- Clark, D., Martinko, J., Madigan, M., y Dunlap, P. (2009). *Brock Biología de los Microorganismos* (12 ed.). Pearson
- Dunne, C., Liam O'Mahony, L. M., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., O'Sullivan, G., Shanahan, F., y Collins, K. (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *Am J Clin Nutr*, 73(2), 386-392. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.386s>
- FAO/WHO. (2002). *Guidelines for the evaluation of probiotics in food*. FAO/OMS. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a0512s/a0512s.pdf>
- González, C. C., Quiroz, E. N., Lastre-Amell, G., Oróstegui-Santander, M., González, G., Sucerquia, A., y Sierra., L. (2020). Dislipidemia como factor de riesgo cardiovascular: uso de probióticos en la terapéutica nutricional. *AVFT Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 39(1), 126-139. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4068226>
- Goudarzi, L., Kermanshahi, K., Mousavinezhad, Z., y Dallal, M. (2016). Antimicrobial and Anti-Swarming Effects of Bacteriocins and Biosurfactants from Probiotic Bacterial Strains against *Proteus* spp. *J Med Bacteriol.*, 5 (6), 1-12 . <https://jmb.tums.ac.ir/index.php/jmb/article/view/268>

- Grossi, E., Buresta, R., Abbiati, R., y Cerutti, R. (2010). Clinical trial on the efficacy of a new symbiotic formulation, Flortec, in patients with acute diarrhea: a multicenter, randomized study in primary care. *J Clin Gastroenterol*, 44(1), 35-41. [https://doi.org/10.1097 / MCG.0b013e3181e103f4](https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e3181e103f4)
- Guarner, F., y Malagelada, J. (2003). Gut flora in health and disease. 361(9356), 512 - 519. [https://doi.org/10.1016 / S0140-6736 \(03\) 12489-0](https://doi.org/10.1016 / S0140-6736 (03) 12489-0)
- Hosoda, M., Hashimoto, H., He, F., Morita, H., y Hosono, A. (1996). Effect of administration of milk fermented with *Lactobacillus acidophilus* LA-2 on faecal mutagenicity and microflora in human intestine. *J Dairy Sci*, 79(5), 745-749. <https://www.doi.org/10.3168 / jds.s0022-0302>
- Jack, R., Tagg, J., y Ray, B. (1995). Bacteriocins of Gram positiva bacteria. *Microbiol Rev*, 59(2), 171 - 200. <https:// doi.org/10.1128 / mr.59.2.171-200.1995>
- Khanna, S., y Tosh, P. (2014). A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin. Proc.*, 89(1), 107-14. [https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196\(13\)00886-0/pdf](https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196(13)00886-0/pdf)
- Klaenhammer, T., y Kullen, M. (1999). Selection and design of probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 50(1999), 45-57. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00076-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00076-8)
- Largo, D., Donoso, J., y Proyas, M. (1973). Neumopatía a *Proteus*. *Rev. Chilena pediátrica*, 44(4). <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v44n4/art09.pdf>
- Lily, D., y Stillwell, R. (1965). Probiotic: growth promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748. <https://doi.org/10.1126/science.147.3659.747>
- Lindgren, S., y Dobrogosz, W. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation. *FEMS Microbiology Reviews*, 7(1-2), 149-163. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04885.x>
- Liu, M.-B., Xu, S.-R., He, Y., Deng, G.-H., Sheng, H.-F., Huang, X.-M., Ouyang, C.-Y. y Zhou, H.-W. (2013). Diverse vaginal microbiomes in reproductive-age women with vulvovaginal candidiasis. *Plos One*. 2013; 8(11). *Plos One*, 8(11), e79812. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079812>
- Mac-Faddin, J. (1990). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Panamericana. <https://books.google.com.pe/books?id=FYWSzy7EjR0C&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Martin, R., Jimenez, E., Heilig, H., Fernandez, L., Marin, M., Zoetendal, E., y Rodriguez, J. (2009). Isolation of bifidobacteria from breast milk and assessment of the bifidobacterial. *Appl Environ Microbiol*, 75, 965 - 969. <https://doi.org/10.1128/AEM.02063-08>
- Montville, T., Chung, H., Chikindas, M., y Chen, Y. (1999). Nisin A depletes intracellular ATP and acts in bactericidal manner against *Mycobacterium smegmatis*. *Letters in applied microbiology*, 28(3), 189-193. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00511.x>
- Muñoz, S. (2011). *Aislamiento, identificación y caracterización de Lactobacillus paracasei CNCM I-4034, Bifidobacterium breve CNCM I-4035 y Lactobacillus rhamnosus CNCM I-4036 obtenidos a partir de heces de niños alimentados exclusivamente con leche materna*. Universidad de Granada. <https://www.ugr.es/universidad/servicios/apps-ugr>
- Nataro, J., y Kaper, J. (1998). James Nataro; James Kaper. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 11 (1), 142-201. <https://doi.org/10.1128 / cmr.11.1.142>



- Nova, E., Wärnberg, J., Gómez-Martínez, S., Díaz, L., Romeo, J., y Marcos, A. (2007). Immunomodulatory effects of probiotics in different stages of life. *British Journal of Nutrition*, 98(1), 90-95. <https://doi.org/10.1017/S00>
- ONU. (12 de Noviembre de 2018). *Noticias ONU*. <https://news.un.org/es/story/2018/11/1445491>
- Organizacion Mundial de la Salud (OMS). (2015). *68.7. Plan de accion mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos. Resolución WHA 68va. Asamblea Mundial de la Salud*. OMS: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/global-action-plan/es/>
- Paitán, E., Santos, R., Sotelo, A., Zuñiga, D., y Vilchez, C. (2019). Caracterizaciones moleculares de bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de neonatos humanos. *Rev. Perú Biol.*, 26(1). <http://www.scielo.org.pe/pdf/rpb/v26n1/a14v26n1.pdf>
- Petrova-Dimitonova, S., Vladimirov-Bakalov, B., Aleksandrova-Georgieva, R. N., & Trifonova-Danova, S. (2008). Phenotypic and molecular identification of Lactobacilli isolated from vaginal secretions. *Journal Microbiol Immunol Infect.*, 41(6), 469-477. [https://www.researchgate.net/publication/24172044\\_Phenotypic\\_and\\_molecular\\_identification\\_of\\_lactobacilli\\_isolated\\_from\\_vaginal\\_secretions](https://www.researchgate.net/publication/24172044_Phenotypic_and_molecular_identification_of_lactobacilli_isolated_from_vaginal_secretions)
- Piard, J., & Desmazeaud, M. (1991). Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria. Oxygen metabolites and catabolism end products. *Le Lait*, 71(5), 525-541.
- Prescott, L., Harley, J., y Klein, D. (2004). *Microbiología* (5 ed.). McGraw-Hill Interamericana. <https://es.slideshare.net/boscanandrade/libro-lansing-prescott>
- Ramos, G., y Olivares, G. (2010). *Contenidos e Información del Uso Racional de Medicamentos para el personal técnico de salud*. Chile: MINSAL. <https://www.minsal.cl/portal/url/item/8da19e5eac7b8164e04001011e012993.pdf>
- Reid, G., y Devillard, E. (2004). Probiotics for mother and child. *J Clin Gastroenterol*, 38(6), 94-101. <https://doi.org/10.1097/01.mcg.0000128923.68543.7f>
- Reinheimer, J., y Zalazar, C. (2006). *Avances en microbiología bioquímica y tecnología de quesos*. Santa Fe. [https://books.google.com.pe/books?id=G\\_EOqK0qBq8C&pg=PA331&dq=Reinheimer+J,+Zalazar+C.+Universidad+nacional+del+litoral.&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjx-P3Mjf3wAhUytDEKHfDeAu8Q6AEwAXoECAMQAg#v=onepage&q=Reinheimer%20J%2C%20Zalazar%20C.%20Universidad%20nacional%2](https://books.google.com.pe/books?id=G_EOqK0qBq8C&pg=PA331&dq=Reinheimer+J,+Zalazar+C.+Universidad+nacional+del+litoral.&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjx-P3Mjf3wAhUytDEKHfDeAu8Q6AEwAXoECAMQAg#v=onepage&q=Reinheimer%20J%2C%20Zalazar%20C.%20Universidad%20nacional%2)
- Rinaldi, M. (1993). *Biology and Pathogenicity of Candida Species: Candidiasis. Pthogenesis, Diagnosis, and Treatmet* (2 ed.). Raven Press.
- Rine, R., Pravas, R., Shovon, S., Rubayet-Ul, A., y Iqbal, J., (2019). Isolation, characterization and evaluation of lactic acid bacteria towards their choice as poultry probiotics. *BMC Microbiology*, 19(253), 1-20. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12866-019-1626-0>
- Rodriguez, G. (2006). Género Streptococcus y Enterococcus. En I. d. Facultad de Medicina, *Temas de bacteriología y virología médica* (2 ed., págs. 273-290). Facultad de Medicina. Instituto de Higiene. <http://www.higiene.edu.uy/cefa/cefaed2006.htm>
- Rodriguez, J., y García-Godos, P. (2017). Capacidad probiótica de bacterias lacticas aisladas de la leche de molle. *Rev. Soc Quim Perú*, 83(4). [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2017000400004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2017000400004)

- Rodríguez, M. (2009). *Aislamiento y selección de cepas probióticas e inmunomoduladoras [tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona]*. Repositorio Institucional. <https://ddd.uab.cat/record/63896>
- Rojas, S. (2011). *Aislamiento e identificación de Lactobacillus spp. de heces de niños lactantes y caracterización parcial in vitro de su potencial probiótico. [tesis pregrado, Universidad Nacional de Trujillo]*. Repositorio Institucional. <http://www.bibliotecas.unitru.edu.pe/>
- Ruiz, L., Margolles, A., y Sánchez, B. (2013). Biliary resistance mechanisms in Lactobacillus and Bifidobacterium. *Frente. Microbiol*, 4(396), 1-8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3872040/>
- Sacsquispe, E., y Velasquez, J. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco de difusión [Serie de Normas Técnicas, N°30]*. Instituto Nacional de Salud (INS). [https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacional/es/manua\\_l\\_sensibilidad.pdf](https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacional/es/manua_l_sensibilidad.pdf)
- Salminen, S., Wright, A., y Ouwehand, A. (2004). *Lactic Acid Bacteria*. Board. [https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=P0p5\\_uXL9uQC&oi=fnd&pg=PP1&ots=gP56VZUBlo&sig=9qy5csOel48oOeZp6PZbGtUQLKc&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=P0p5_uXL9uQC&oi=fnd&pg=PP1&ots=gP56VZUBlo&sig=9qy5csOel48oOeZp6PZbGtUQLKc&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- Sánchez, L., Omura, M., Lucas, A., Pérez, T., Llanes, M., y Luce, C. (2015). Cepas de *Lactobacillus spp.* con capacidades probióticas aisladas del tracto intestinal de terneros neonatos. *Rev. Salud Anim.*, 37(2), 94 - 104. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2015000200004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2015000200004)
- Sánchez, L., Vichi, J., Llanes, M., Castro, E., Soler, D. M., Espinosa, I., Kociubinski, G. y Ferreira, C. (2011). Aislamiento y caracterización in vitro de cepas de *Lactobacillus spp.* como candidato a probióticas. *Cuba Rev. Salud Anim.*, 33(3), 154 - 160. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2011000300003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2011000300003)
- Seija, V. (2006). Género *Staphylococcus*. En F. d. Higiene, *Temas de bacteriología y virología médica* (2 ed., págs. 257-271). Facultad de Medicina. Instituto de Higiene. <http://www.higiene.edu.uy/cefa/cefaed2006.htm>
- Spencer, J., y Ragout, A. (2001). *Métodos microbiológicos*. Humana Press Inc.
- Stapleton, A. (2003). Novel approaches to prevention of urinary tract infections. *Infect Dis Clin North Am*, 17(2), 457-471. [https://doi.org/10.1016 / s0891-5520 \(03\) 00010-2](https://doi.org/10.1016 / s0891-5520 (03) 00010-2)
- Suárez, E., Beltrán, D., Daza, M., González, S., Guerra, J., Jurado, A., Ojeda, D. y Rodríguez, J. (2015). *La microbiota vaginal: composición y efectos beneficiosos. Consenso sobre usos d elos probioticos en Ginecología*. SEMiPyP: [http://semipyp.es/pdf/pub/probiot\\_vaginales.pdf](http://semipyp.es/pdf/pub/probiot_vaginales.pdf)
- Tortora, G., Funke, B., y Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. Médica Panamericana.
- Urrútia, G., Selva, A., y Calaf, J. (2014). Revisión de la evidencia sobre la eficacia de los probióticos en la prevención de las infecciones del tracto urinario inferior y las infecciones vaginales. *Prog Obstet Ginecol.*, 57(5), 230-235. <https://doi.org/10.1016/j.pog.2012.09.002>
- Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N., Ludwig, W., Rainey, F., Schleifer, K-H. y Whitma, W. (2009). *Bergey's manual of systematic Bacteriology* (Vol. 3).
- World Gastroenterology Organization (WGO). (2011). *Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y Prebióticos*. World Gastroenterology Organization:

- <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-spanish-2011.pdf>
- World Gastroenterology Organization (WGO). (2017). *Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y Prebióticos*. World Gastroenterology Organization:  
<https://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/probiotics-and-prebiotics/probiotics-and-prebiotics-spanish>
- Wu, G., Chen, J., Hoffmann, C., Bittinger, K., Chen, Y.-Y., Keilbaugh, S., Bewtra, M., Knights, D., Walters, W., Knight, R., Sinha, R., Gilroy, E., Gupta, K., Baldassano, R., Nessel, L., Li, H., Bushman, F. y Lewis, J (2011). Linking Long-Term Dietary Patterns with Gut Microbial Enterotypes. *Science*, 6052, 105-8. <https://doi.org/10.1126 / science.1208344>
- Yusuf, M. (2013). Lactic Acid Bacteria: Bacteriocin Producer. *IOSR Journal of Pharmacy*, 3(4), 44-50. <https://doi.org/10.9790 / 3013-034104450>

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Prueba estadística ANOVA de los diámetros del halo de inhibición de las cepas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados frente a *Salmonella enteritidis* ATCC 13076. 2019.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Cepas aisladas	9	334,1	37,126	6,79	0,000
Error	20	109,3	5,467		
Total	29	443,5			

Variable	N° de cepas aisladas	Media	Error estándar de la media	Desv.Est.
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	La-14	16,33	1,2	2,08
	La-2	13,67	1,2	2,08
	La-4	21	1,15	2
	La-6	16	1,15	2
	Lp-10	18	2,52	4,36
	Lp-12	13,333	0,882	1,528
	Lp-5	24	1,53	2,65
	Lp-7	14,333	0,882	1,528
	Lp-8	14	0,577	1
	Lp-9	14,67	1,45	2,52

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 2.** Prueba estadística ANOVA de los diámetros del halo de inhibición de las cepas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. 2019.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Cepas aisladas	5	60,94	12,189	3,66	0,031
Error	12	40	3,333		
Total	17	100,94			

<b>Variable</b>	<b>N° de cepas aisladas</b>	<b>Media</b>	<b>Error Estándar de la media</b>	<b>Desv.Est.</b>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	La-11	16,67	1,2	2,08
	La-13	12	0,577	1
	La-14	17,67	1,2	2,08
	La-2	14	1,15	2
	Lp-12	14,333	0,882	1,528
	Lp-5	15	1,15	2

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 3.** Prueba estadística ANOVA de los diámetros del halo de inhibición de las cepas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados frente a *Proteus vulgaris* ATCC 13315. 2019.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Cepas aisladas	8	16,74	2,093	0,74	0,654
Error	18	50,67	2,815		
Total	26	67,41			

Variable	N° de cepas aisladas	Media	Error estándar de la media	Desv. Est.
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	La-13	14	1,15	2
	La-14	13,667	0,882	1,528
	La-2	14,67	1,2	2,08
	Lp-1	15,333	0,882	1,528
	Lp-12	12,667	0,882	1,528
	Lp-3	13,333	0,882	1,528
	Lp-7	13	0,577	1
	Lp-8	14,333	0,882	1,528
	Lp-9	13,67	1,2	2,08

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 4.** Porcentaje del efecto antimicrobiano de *Lactobacillus* aislados de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

N° de cepas aisladas	<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	<i>Escherchia coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Frecuencia	Porcentaje
Lp - 1	0	0	1	0	0	1	2	33
La - 2	1	1	1	1	0	0	4	67
Lp - 3	0	0	1	0	1	0	2	33
La - 4	1	0	0	0	0	0	1	17
Lp - 5	1	1	0	1	1	1	5	83
La - 6	1	0	0	1	1	0	3	50
Lp - 7	1	0	1	0	0	0	2	33
Lp - 8	1	0	1	0	1	1	4	67
Lp - 9	1	0	1	1	1	0	4	67
Lp - 10	1	0	0	1	1	0	3	50
La - 11	0	1	0	0	0	1	2	33
Lp - 12	1	1	1	1	1	1	6	100
La - 13	0	1	1	1	0	1	4	67
La - 14	1	1	1	1	1	0	5	83

Fuente: Elaboración propia



**Anexo 5.** Identificación de bacterias ácido lácticas aisladas de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.

N° DE CEPAS	CARBOHIDRATOS																			ESPECIES
	SOR	MNT	GAL	FRUC	CEL	XIL	LAC	MAL	INU	RAF	MAN	SAC	ALM	MEL	RHA	GLU	RIB	ARA	SAL	
1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
2	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	ND	-	ND	<i>L. acidophilus</i>
3	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	ND	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
4	-	-	-	+	+	-	ND	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	ND	<i>L. acidophilus</i>
5	+	+	+	+	+	-	+	+	ND	+	+	+	ND	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
6	-	-	-	+	+	-	ND	-	-	+	+	+	-	-	-	+	ND	-	ND	<i>L. acidophilus</i>
7	-	+	+	+	+	-	+	+	ND	ND	+	+	-	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
8	+	+	+	+	+	-	+	+	ND	+	+	+	ND	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
9	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	ND	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
10	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	ND	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
11	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	ND	-	ND	<i>L. acidophilus</i>
12	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	+	<i>L. paracasei</i>
13	-	-	-	+	+	-	-	-	ND	-	+	+	-	-	-	+	-	-	ND	<i>L. acidophilus</i>
14	-	-	-	+	+	-	-	-	ND	-	ND	+	-	-	-	+	-	-	ND	<i>L. acidophilus</i>

Fuente: Elaboración propia

**Anexo 1.** Caracterización bioquímica y agrupación con API 50 CHL de las cepas de *Lactobacillus*; aisladas de muestras de secreciones vaginales de mujeres búlgaras en edad reproductiva 2008.

AZÚCAR	Grupo de tensión vaginal						
	A(301,302); B(362, 364, 303 y 304)	361	C(832)	D(711,712, 713, 732, 821)	E(831;622)	F(611, 612, 613,811)	G(822)
Glicerol	-	-	-	-	-	-	+
Eritritol	-	-	-	-	-	-	-
D-arabinosa	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinosa	+	-	-	-	+	-	-
Ribosa	+	+	-	-	+	+	+
D-xilosa	+	-	-	-	+	-	-
L-xilosa	-	-	-	-	-	-	-
Adonitol	-	-	-	-	-	-	-
B-Metil-D-xilosido	-	-	-	-	-	-	-
Galactosa	+	+	+	-	-	+	+
D-glucosa	+	+	+	+	+	+	+
D-fructuosa	+	+	+	+	-	+	+
D-manosa	-	-	+	+	-	+	+
L-sorbosa	-	-	-	-	-	-	-
Ramnosa	-	-	+	-	-	-	-
Dulcitol	-	-	-	-	-	-	-
Inositol	-	-	-	-	-	-	-
Manitol	-	-	+	-	-	+	+
Sorbitol	-	-	+	-	-	+	+
α-metil-D-manosido	-	-	-	-	-	-	-
α-metil-D-glucosido	V	-	-	-	-	-	-
N-acetil-glucosamina	V	-	+	-	-	-	+
Amigdalina	-	-	-	-	-	-	+
Arbutina	-	-	-	-	-	-	+
Esculina	-	-	-	+	-	+	+
Salicina	-	-	-	V	-	-	+
Celobiosa	-	-	-	+	-	+	+
Maltosa	-	+	+	-	-	+	+
Lactosa	+	+	+	-	-	+	+
Melibiosas	-	+	+	-	-	-	-
Sacarosa	+	+	+	+	-	+	+
Trehalosa	-	-	-	-	-	+	+
Inulina	-	-	-	-	-	-	-
Melezitosa	-	-	-	-	-	+	+
D-rafinosa	-	+	+	-	-	-	-
Almidon	-	-	-	-	-	-	-
Glucogeno	-	-	-	-	-	-	-
Xilitol	-	-	-	-	-	-	-
B-gentiobiosis	-	-	-	-	-	-	+
D-Turanosa	-	-	-	-	-	+	-
D-Lyxose	-	-	-	-	-	-	-
D-Tagatosa	-	-	-	-	-	-	+
D-fucosa	-	-	-	-	-	-	-
L-fucosa	-	-	-	-	-	-	-
D-arabitol	-	-	-	-	-	-	-
L-arabitol	-	-	-	-	-	-	-
Gluconato	V	V	-	-	-	-	-
2-ceto-gluconato	-	-	-	-	-	-	-
5-ceto-gluconato	-	-	-	-	+	-	-
Producción de gas de glucosa	+	+	-	-	+	-	-
Afiliación de especies	<i>Lactobacillus fermento</i>	<i>Lactobacillus fermento</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i> ssp <i>paracasei</i>
Confianza	99,9%	97,0 %	100 %	71,1%	99,8%	inaceptable	97,7%

Abreviaturas: α= alfa; β= beta; - = reacción negativa; + = Reacción positiva; V= variable entre las cepas del grupo  
Fuente: Datos tomados de Petrova-Dimitonova S, Vladimirov-Bakalov B, Aleksandrova-Georgieva R, Trifonova-Danova S. (2008)

**Anexo 7.** Características clave de los *Lactobacillus* del grupo A (obligatoriamente homofermentativos).

Especies	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>delbrueckii</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>indicus</i>	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. amylolyticus</i>	<i>L. amylophilus</i>	<i>L. amylovorus</i>	<i>L. aviarius</i> subsp. <i>aviarius</i>	<i>L. aviarius</i> subsp. <i>arafricanus</i>	<i>L. crispatus</i>	<i>L. farciminis</i>	<i>L. gallinarum</i>	<i>L. gasseri</i>	<i>L. helveticus</i>
Grupo filogenético	de	de	de	de	de	de	de	de	sl	sl	de	u	de	de	de
Tipo de peptidoglicano	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp	Lys-D- Asp
Contenido de G + C (% en moles)	49 - 51	49 - 51	49 - 51	49 - 51	34 - 37	39	44 - 46	40.3	39 - 43	41.3	35 - 38	34 - 36	36 - 37	33 - 35	37
Isómero (s) de ácido láctico	d	d	d	d	dl	dl	l	dl	dl	l(d)	dl	l(d)	dl	dl	dl
Crecimiento (° C) 15/45	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+/-	-/+	-/ND	-/ND	-/+	+/-	+/+	-/+	-/+
Carbohidratos fermentados:															
Amigdalina	-	-	+	-	+	d	-	+	d	d	+	+	+	+	-
Celobiosa	-	d	d	-	+	-	-	+	+	d	+	+	+	+	-
Lactosa	-	-	d	-	+	+	+	+	d	-	+	+	+	+	+
Galactosa	-	+	+	+	+	-	-	-	d	-	+	+	d	d	+
Maltosa	d	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d	d
Manitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Manosa	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	d
Melibiosa	-	-	-	-	d	d	-	-	d	-	-	-	+	d	-
Rafinosa	-	-	-	-	d	d	-	-	+	-	-	-	+	d	-
Salicina	-	-	+	-	+	d	-	+	+	d	+	+	+	+	-
Sacarosa	+	-	+	d	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
Trehalosa	d	-	+	-	d	-	-	+	+	+	-	+	-	d	d

aSímbolos y abreviaturas: +, el 90% o más de las cepas son positivas -, el 90% o más son negativas; d, 11 a 89% de las cepas son positivas; w, reacción positiva débil; ND, no hay datos disponibles; (), los isómeros entre paréntesis indican <15% del ácido láctico total; mDpm, ácido meso diaminopimélico; de, grupo de *Lactobacillus delbrueckii*; sl, grupo *Lactobacillus salivarius*; re, grupo *Lactobacillus reuteri*; u, único.

bW. P. Hammes, resultados inéditos.

Fuente: Datos tomados de Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N., Ludwig, W., Rainey, F., Schleifer, K-H. y Whitma, W. (2009)

**Anexo 8.** Características clave de los *Lactobacillus* del grupo B (facultativamente heterofermentativos).

Especies	<i>L. hamsteri</i>	<i>L. homohiochii</i>	<i>L. intestinalis</i>	<i>L. jensenii</i>	<i>L. kimchii</i>	<i>L. murinus</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	<i>L. paracasei</i> subsp. <i>Tolerans</i>	<i>L. paralimentarius</i>	<i>L. paraplantarum</i>	<i>L. pentosus</i>	<i>L. perolens</i>	<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i>	<i>L. plantarum</i> subsp. <i>argenteratensis</i>	<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. sakei</i> subsp. <i>sakei</i>	<i>L. sakei</i> subsp. <i>carnosus</i>	<i>L. versmoldensis</i>	<i>L. zeae</i>
Grupo filogenético	de	u	de	de	u	sl	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u	u
Tipo de peptidoglicano	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Aspb	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Aspb	mDpm	mDpm	Lys-D-Asp	mDpm	mDpm	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	Lys-D-Asp	ND	Lys-D-Asp
Contenido de G + C (% en moles)	33 - 35	35 - 38	33 - 35	35 - 37	35	43 - 44	45 - 47	45 - 47	37 - 38	44 - 45	46 - 47	49 - 53	44 - 46	44 - 46	45 - 47	42 - 44	42 - 44	40.5	48 - 49
Isómero (s) de ácido láctico	dl	dl	dl	d	dl	l	lc	l	ND	dl	dl	l	dl	dl	l	dl/l(d)	dl/l(d)	l	l(d)
Crecimiento (°C) 15/45	-/ND	+/-	-/+	-/+	+/-	-/+	+/d	+/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/+
Carbohidratos fermentado:																			
Amigdalina	ND	-	-	+	+	d	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Arabinosa	+	-	-	-	+	+	-	-	-	d	+	d	d	d	d	d	d	-	-
Celobiosa	+	d	D	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	d	d	-	+
Esculina	+	ND	-	+	+	+	+	-	+	+	ND	+	+	+	+	+	+	-	+
Gluconato	+	-	ND	-	+	-	+	W	-	+	+	+	+	+	+	+	+	ND	+
Manitol	+	d	+	d	-	d	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
melicitol	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	d	+	+	+	+	-	-	-	+
Melibiosa	+	-	d	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Rafinosa	+	-	d	-	-	+	-	-	-	d	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Ribosa	+	d	d	+ <sup>d</sup>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	-	-	-	-	-	d	-	-	d	+	d	+	+	+	-	-	-	-
Sacarosa	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xilosa	d	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	d	d	d	-	-	-	-	-

aSímbolos y abreviaturas: +, el 90% o más de las cepas son positivas; -, el 90% o más son negativos; d, 11 a 89% de las cepas son positivas; w, reacción positiva débil; ND, no hay datos disponibles; (), los isómeros entre paréntesis indican <15% del ácido láctico total; mDpm, ácido meso-diaminopimélico; de, grupo de *Lactobacillus delbrueckii*; sl, grupo *Lactobacillus salivarius*; re, grupo *Lactobacillus reuteri*; u, único.

bW. P. Hammes, resultados inéditos.

cLas cepas anteriormente denominadas *L. casei* subsp. *pseudoplantarum* produce ácido dl-láctico.

d Según Carlsson y Gothefors (1975), 60 de 64 cepas fermentan la ribosa

Fuente: Datos tomados de Vos, P., Garrity, G., Jones, D., Krieg, N., Ludwig, W., Rainey, F., Schleifer, K-H. y Whitma, W. (2009)

**Anexo 9.** Sala de espera del consultorio CRED atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.



Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

### Anexo 10. Medio Lactobacilli

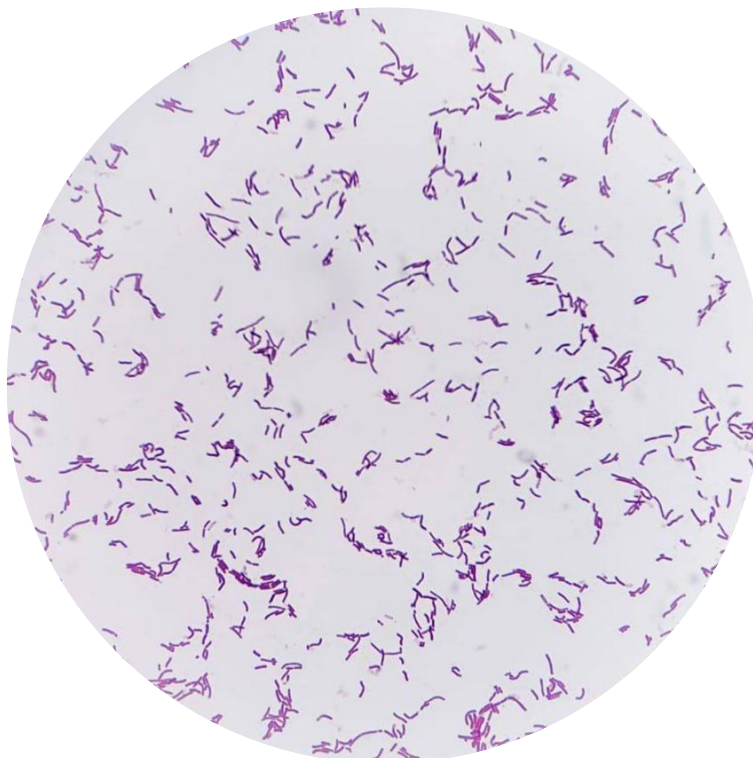
<b>Componentes</b>	<b>Cantidades</b>
Peptona de leche	15 g
Extracto de levadura	5 g
Glucosa	10 g
Jugo de tomate	100 mL
Fosfato monopotásico	2 g
Agar agar	20 g
Agua destilada	1000 ml
pH = 6,8	

**Anexo 11.** Observación macroscópica de las cepas aisladas de las muestras de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.



Fuente: LJQA. Ayacucho.2019

**Anexo 12.** Observación microscópica de la cepa aislada de la muestra de heces del infante de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.



Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

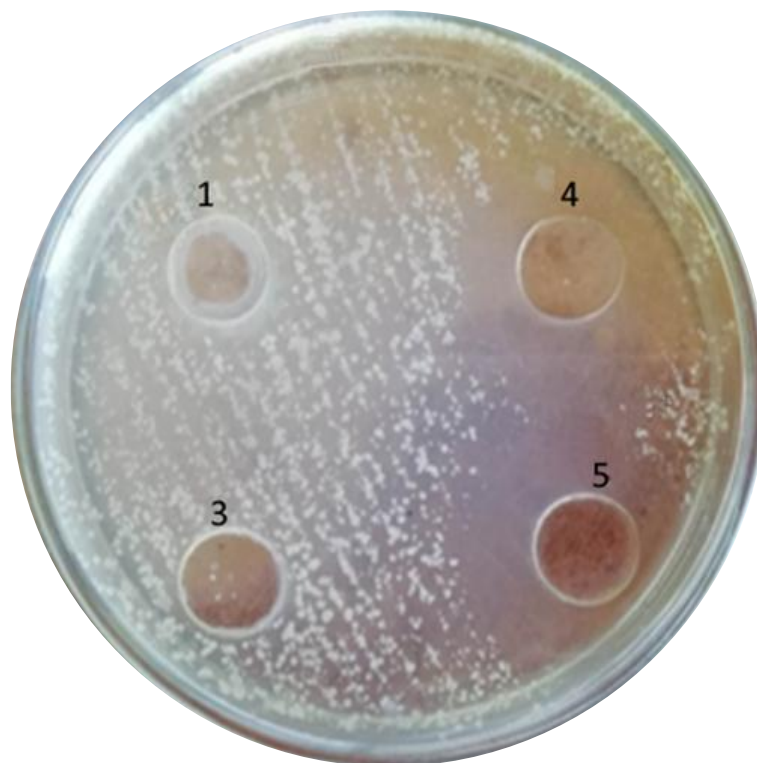


**Anexo 13.** Cepas patógenas proporcionadas por el Laboratorio de Biotecnología

<b>CEPAS</b>	<b>CODIFICACIÓN</b>
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Salmonella enteritidis</i>	ATCC 13076
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 13315
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Candida albicans</i>	ATCC 90028

Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

**Anexo 14.** Efecto antimicrobiano de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019 frente a *Salmonella enteritis* ATCC 13076.



Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

**Anexo 15.** Siembra de cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados en los hidratos de carbono en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga 2019.



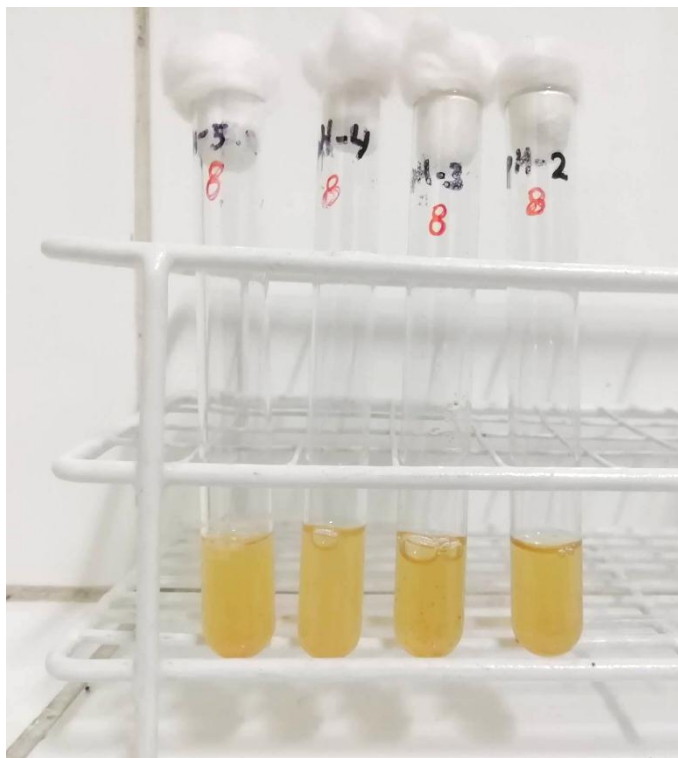
Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

**Anexo 16.** Observación de la fermentación de los hidratos de carbono de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.



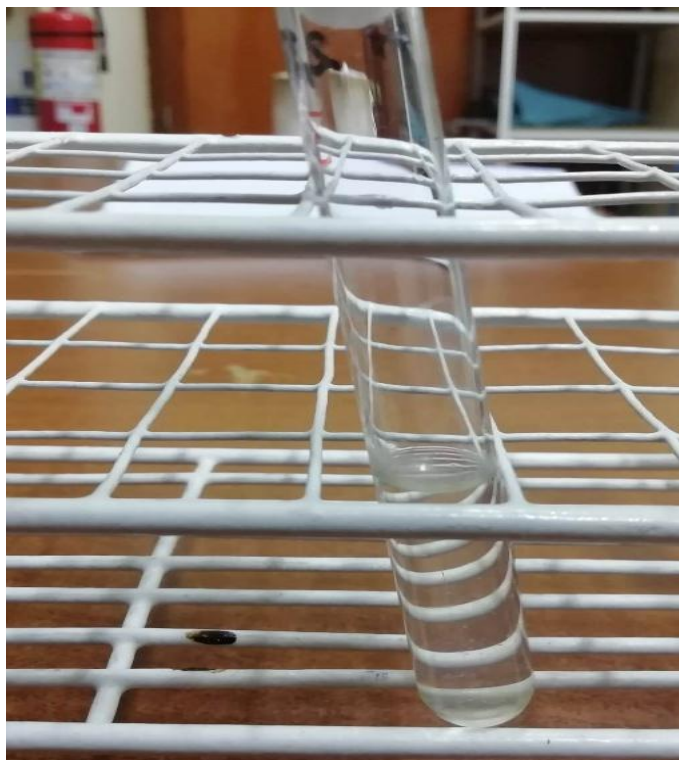
Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

**Anexo 17.** Evaluación de la tolerancia a sales biliares de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.



Fuente: LJQA.Ayacucho.2019

**Anexo 18.** Evaluación de la tolerancia a jugo gástrico de las cepas aisladas de las heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.



Fuente: LJQA.Ayacucho.2019



**Anexo 19.** Constancia de autorización del Centro de Salud Los Licenciados 2019.



EL QUE SUSCRIBE: JEFE DE RECURSOS HUMANOS, DE LA MICRORRED LICENCIADOS, RED DE SALUD HUAMANGA, DIRECCION REGIONAL DE SALUD AYACUCHO DA.

**CONSTANCIA DE AUTORIZACION:**

A la Srt. QUISPE APAICO, Liseth Jhosely, bachiller de la Escuela Profesional de BIOLOGIA, de la especialidad de Microbiología de la UNIVERSIDAD NACIONAL SAN CRISTOBAL DE HUAMANGA-AYACUCHO.se le autoriza realizar su trabajo de investigación, en el centro de salud los licenciados, con el tema titulado: **Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos.**

-El periodo de ejecución de dicho trabajo será los meses de FEBRERO Y MARZO DEL PRESENTE AÑO, para ello ya se coordinó, con los responsables de servicio para poderle brindar las facilidades que amerita.

Sin otro motivo le comunicó para su conocimiento y demás fines.

Ayacucho, 04 de enero del 2019.

c.c.archivo.



  
L.C. NOEL GALLEGOS SULCA  
ENFERMERO ESPECIALISTA  
CEP. 27481 RNE: 18972

**Anexo 20. Consentimiento informado para las madres de los infantes atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados 2019.**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Proyecto de investigación titulado:** Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos

**Investigador:** QUISPE APAICO, Liseth Jhosely

Esta investigación es realizada por la bachiller de la Facultad de Biología de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga y se está ejecutando en el Centro de Salud Los Licenciados por lo que le invitamos a participar voluntariamente en este estudio, cuyo objetivo principal es el Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos, ya que es un probiótico que se encuentra en mayor número en la microbiota de los niños y presentan beneficios como el mejoramiento del ambiente intestinal, reforzamiento de la barrera intestinal, reducir la incidencia y gravedad de la diarrea.

Si acepta participar en esta investigación, los pañales serán recogidos en su domicilio en horas de la mañana, se realizarán en infantes de 2 a 6 meses de edad siendo alimentados con leche materna. El recojo de estas muestras se llevarán al laboratorio del Área de Biotecnología de la Escuela de Ciencia Biológicas, donde serán sembradas para su posterior aislamiento e identificación.

No realizaremos otros análisis que no se le haya informado ni guardaremos sus muestras, una vez terminado el estudio, se eliminara la muestra.

Todos los procesos de la investigación serán gratuitos y no le ocasionará gasto.

Es posible que de sus participaciones en este estudio no obtengan un beneficio directo. Sin embargo, la identificación de las cepas de *Lactobacillus* que se aislen de la muestra de heces de infante podría beneficiar en su futuro a otros pacientes en la mejoría de su microbiota intestinal.

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y si usted decide no participar puede retirarse sin que tenga que dar explicaciones, no habrá ninguna represalia ni afectará en los beneficios para su atención en el establecimiento de salud.

La información que usted nos brinda y los resultados obtenidos en esta investigación solamente lo conocerá el investigador.

Si requiere mayor información o tenga otras dudas puede comunicarse con la Mg. Paula García Godos Alcázar.

Celular: 966606014

Email: [paulagg30@hotmail.com](mailto:paulagg30@hotmail.com)

Si usted está de acuerdo con lo ya mencionado, debe otorgar su consentimiento informado por escrito.

Firma y huella del paciente o sujeto voluntario en el estudio

Fecha: 29 / 03 / 2019



Firma y huella del investigador

Fecha: 29 / 03 / 2019





## Anexo 21. Matriz de consistencia.

**Título** : Efecto antimicrobiano de cepas probióticas de *Lactobacillus* frente a microorganismos patógenos

**Autor** : Liseth Jhosely QUISPE APAICO

**Asesora** : Mg. Paula GARCÍA GODOS ALCÁZAR

PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES E INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Las cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> presentarán efecto antimicrobiano frente a microorganismos patógenos?	<p><b>GENERAL</b></p> <p>Evaluar el efecto antimicrobiano de cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> frente a microorganismos patógenos</p> <p><b>ESPECIFICOS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislar cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> a partir de muestras de bebés.</li> <li>• Identificar las cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> aisladas con pruebas bioquímicas de azúcares.</li> <li>• Evaluar el efecto antimicrobiano in vitro de cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> frente a microorganismos patógenos.</li> </ul>	<p>2.1 Antecedentes</p> <p>2.2 Género <i>Lactobacillus</i></p> <p>2.3 Obtención y adaptación de la microbiota intestinal</p> <p>2.4 Composición de la microbiota intestinal</p> <p>2.5 Distribución del microbiota</p> <p>2.6 Compuestos antimicrobianos de las bacterias ácido lácticas</p> <p>2.7 Microorganismos patógenos</p> <p>2.8 Definición de probiótico</p> <p>2.9 Características de un probiótico</p> <p>2.10 Capacidad probiótica</p> <p>2.11 Efectos de los probióticos en diferentes patologías</p> <p>2.12 Prebióticos</p> <p>2.13 Simbióticos</p>	<p>Existe efecto antimicrobiano de cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> frente a microorganismos patógenos.</p>	<p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b></p> <p>Cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i></p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Especie</li> <li>• Capacidad probiótica</li> </ul> <p><b>VARIABLE DEPENDIENTE</b></p> <p>Efecto antimicrobiano</p> <p>Indicador:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tamaño del halo de inhibición.</li> </ul>	<p><b>DISEÑO DE INVESTIGACIÓN</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Experimental</li> </ul> <p><b>NIVEL DE INVESTIGACIÓN</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Básica</li> </ul> <p><b>MUESTRA</b></p> <p>Cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> aisladas de muestras de heces de infantes de 2 a 6 meses de edad atendidos en el Centro de Salud Los Licenciados.</p> <p><b>TÉCNICAS</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aislamiento</li> <li>• Identificación</li> <li>• Técnica de difusión en pocillos en agar.</li> </ul> <p><b>ANÁLISIS ESTADÍSTICOS</b></p> <p>Se empleó la prueba paramétrica de ANVA con un nivel de confianza del 95 %.</p>