

INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE

Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales

Sustentabilidad y tecnología

PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)

Programa de Desarrollo Tecnológico para la Sustentabilidad Ambiental Energética y

Alimentaria



**ITESO, Universidad
Jesuita de Guadalajara**

4D12 Análisis de la Microbiota Intestinal en niños en situación vulnerable

PRESENTAN

Programas educativos y Estudiantes

Ing. en Biotecnología Abril Arias Rodríguez

Ing. en Biotecnología. Yarely Noemí Franco Anguiano

Ing. en Biotecnología. Scarlett Frausto Trigo

Ing. en Biotecnología Alondra Meza Amador

Lic. en Nutrición Laisha Rachel Mariscal

Ing. en Biotecnología Lucia Navarro Caldera

Profesoras PAP: Dra. Mariana del Rocío Ruiz Briseño, Dra. Sarah Ratkovich González,

Dra. Anayeli de Jesús Patiño Laguna

ÍNDICE

Contenido

REPORTE PAP	12
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional	12
Resumen	14
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	15
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto	15
1.2 Caracterización de la organización.....	15
1.3 Identificación de la(s) problemática(s).....	16
1.4. Planeación de alternativa(s).....	18
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora	19
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos	26
1.7. Bibliografía y otros recursos	28
1.8. Anexos generales	0
2. Productos	8
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	11
3.1 Sensibilización ante las realidades	11
3.2 Aprendizajes logrados	15

Consideraciones bioéticas del desarrollo del proyecto

La bioética en la investigación en el área de la salud debe tener como objetivo que los estudios y la experimentación garanticen el respeto a la dignidad humana, promueva la integridad científica, la confianza pública y la responsabilidad social en la investigación. Las consideraciones bioéticas del desarrollo del proyecto implican el consentimiento informado de los participantes, protección a la privacidad, confidencialidad de la información, conflictos de interés, equidad en la selección de participantes, escrutinio de protocolos de la investigación y minimización de riesgos y daños.

La investigación del PAP 4D12 Microbiota de Niños y Niñas vulnerables es del tipo clínica, tiene como propósito la ejecución de procedimientos diagnósticos siendo el sujeto de estudio humanos, por lo que debe de estar en acuerdo con la Declaración de Helsinki. La Declaración de Helsinki fue creada por la Asociación Médica Mundial (AMM) durante la 18ª Asamblea Médica Mundial en 1964, convirtiéndose en uno de los marcos de referencia más aceptados a nivel global en materia de protección y regulación ética de la investigación en seres humanos (De Helsinki, 2017). En México, la Ley General de Salud y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud basan el Artículo 100 en la Declaración de Helsinki, el cual determina las bases bioéticas del desarrollo de la investigación en seres humanos (De Helsinki, 2013).

Por lo tanto, la investigación del PAP 4D12 debe de estar sujeta a los Artículos 20 y 23 de la Declaración de Helsinki.

- **Artículo 20.-** La investigación médica en una población o comunidad con desventajas o vulnerable sólo se justifica si la investigación responde a las necesidades y prioridades de salud de esta población o comunidad y la investigación no puede realizarse en una población no vulnerable. Además, la población o comunidad deberá beneficiarse de los conocimientos, prácticas o intervenciones que resulten de la investigación.
- **Artículo 23.-** El protocolo de la investigación debe enviarse, para consideración, comentario, consejo y aprobación, a un comité de ética de investigación antes de comenzar el estudio. Este comité debe ser transparente en su funcionamiento, debe

ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia indebida y deberá estar debidamente calificado. El comité debe considerar las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación, como también las normas internacionales vigentes, pero no se debe permitir que éstas disminuyan o eliminen ninguna de las protecciones para las personas que participan en la investigación establecidas en esta Declaración.

El consentimiento informado debe de ir dirigido a los pacientes y a sus responsables (padre o tutor), sin la autorización de ambas partes, no se procederá al diagnóstico del paciente. Como investigadores se tiene el deber de poner en disposición del público los resultados, sean positivos o negativos. En la publicación, deben citarse las afiliaciones institucionales, fuentes de financiamiento y los conflictos de interés.

En la protección a la privacidad y la confidencialidad de la información deben considerarse en todas las evaluaciones diagnósticas las medidas necesarias para la protección de la identidad del paciente. No debe ejercerse ninguna conducta identificada como conflicto de interés por ninguna de las afiliaciones institucionales involucradas, debe de presentarse equidad en la selección de participantes.

El escrutinio de protocolos de la investigación debe priorizar prácticas bioéticas que no atenten contra la integridad y salud de los pacientes, investigadores y demás involucrados. Para esto, debe considerarse la minimización de riesgos durante la experimentación: consideraciones en la toma muestras, manejo y transporte de BPL.

Consideraciones de BPL del manejo y transporte de los tipos de muestra que se usarán en el proyecto

El manejo adecuado de muestras de heces humanas y el ADN extraído de ellas es crucial en la investigación científica y el diagnóstico médico. Estas muestras son valiosas fuentes de información genética y microbiológica que pueden proporcionar perspectivas significativas sobre la salud y la enfermedad. Sin embargo, su manipulación inadecuada puede comprometer la integridad y fiabilidad de los datos genéticos, lo que afecta negativamente la precisión de los resultados y la interpretación de los hallazgos. En este contexto, la

implementación de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) es fundamental para garantizar la calidad y confiabilidad de los datos derivados de muestras de heces y ADN.

Es vital seguir una serie de buenas prácticas de laboratorio que garantizan la integridad y fiabilidad de los resultados obtenidos. En primer lugar, al recoger la muestra, se debe asegurar que el recipiente utilizado esté limpio, seco y, de ser posible, estéril. Es esencial evitar cualquier tipo de contaminación, ya sea con orina, agua u otras heces presentes en el inodoro (Sánchez-Romero et al., 2019).

Una vez obtenida la muestra, se debe proceder rápidamente a su transporte al laboratorio. El tiempo máximo permitido para esto es de 2 horas desde la emisión de la muestra. En caso de que el procesamiento no pueda llevarse a cabo de inmediato, se debe utilizar un medio de transporte adecuado que preserve su integridad hasta su llegada al laboratorio. El etiquetado y la documentación adecuados son pasos igualmente importantes. Cada recipiente debe estar claramente etiquetado con el nombre del paciente, la fecha y la hora de la recolección. Además, es fundamental completar toda la información requerida sobre la solicitud de prueba para asegurar una trazabilidad adecuada de la muestra (Sánchez-Romero et al., 2019).

La higiene personal también desempeña un papel crucial en este proceso. Antes y después de la recolección de la muestra, se deben lavar las manos con agua y jabón de manera rigurosa para prevenir cualquier tipo de contaminación cruzada (Sánchez-Romero et al., 2019). Finalmente, la seguridad durante el transporte de las muestras es primordial. Se debe prestar especial atención a la temperatura, las necesidades de conservación específicas y el uso de recipientes especiales de transporte si es necesario. Además, se deben tomar todas las precauciones necesarias para garantizar la seguridad de las personas que manipulan el material antes, durante y después del transporte. Estas medidas son fundamentales para mantener la integridad de las muestras y asegurar la fiabilidad de los resultados obtenidos en las pruebas clínicas (World Health Organization, 2024).

Contextualización de la organización participante

El objetivo del Organismo de Nutrición Infantil A.C. (ONI) es proporcionar alimentación adecuada, mediante controles científicos, a niñas y niños (nn) comprendidos dentro de la primera edad y que por su baja situación socioeconómica carezcan de medios necesarios para obtener dicha alimentación, así como impartir a las madres, o personas encargadas de las niñas y niños, instrucción sobre el cuidado de estos y dietética infantil.

Este organismo se funda el 17 de marzo de 1954, es la asociación civil más antigua de Jalisco, llevan más de 60 años y actualmente se encuentra ubicada en 3 estados de la república mexicana: Nayarit, Jalisco y Guerrero, han participado con el DIF, secretaria de Salud, SEDESOL, Cemefi, entre otros.

ONI proporciona a los nn dotaciones semanales de complementos alimenticios de acuerdo con su edad y estado nutricional, lleva un seguimiento constante mediante tomas antropométricas, desparasitación, vitaminas, hierro, detección, prevención y tratamiento de anemia. Además, brinda capacitación y educación a padres de familia en temas referentes a nutrición, salud, desarrollo humano y tecnologías domésticas.

Se han fabricado productos especialmente fórmula para infantes, a partir de los 6 meses de edad, cualquier persona puede consumir ONIfórmula[®], siempre y cuando ésta no padezca de diabetes ya que en sus ingredientes incluyen leche entera, harina de maíz y arroz, y azúcares.

Identificación de las problemáticas que intenta afrontar el proyecto

La falta de acceso a una correcta alimentación debido a posibles limitaciones económicas es un factor importante que contribuye a la vulnerabilidad nutricional de los niños.

La mayoría de los niños de esta organización son familias en situación de pobreza alimentaria, lo que los hace susceptibles a la desnutrición.

A continuación, se presentan los datos de los informes anuales de los años 2020,2021 y 2022 en las siguientes figuras:

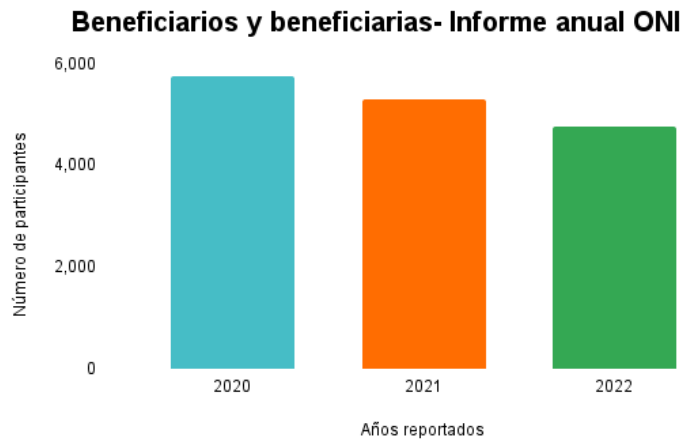


Figura 1. Número de participantes/ Realizada por: Laisha Mariscal

En la Figura 1 podemos ver la comparación de beneficiarios y beneficiarias que participaron en la organización durante los 3 años observados. Se reportó que en el año 2020 hubo 5,736 niños, siendo el año donde más participantes se registraron. En el año 2021 se informó de 5,289 beneficiarios y en el 2022 se registraron menos niños con un total de 4,752.

Esta información es relevante ya que a continuación se presentarán porcentajes en relación al total de los participantes en los diferentes años.

En esta tabla se muestra los porcentajes del año 2020 en cuanto a la evaluación de la puntuación Z de las tablas de crecimiento de la OMS de peso y talla.

Diagnóstico del estado nutricional de los niños y niñas

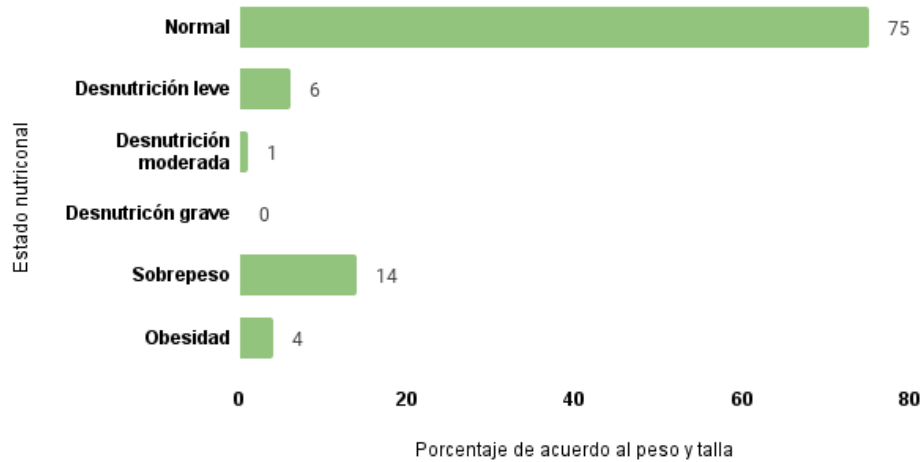


Figura.2 Resultados del año 2020 /Realizada por: Laisha Mariscal

Esta figura nos indica que de los 5,736 participantes el 75% se reportaron con un estado nutricional de normal, mientras que el 14% con un estado nutricional de sobrepeso. El 6% se registró con desnutrición leve, el 4% con obesidad, 1% con desnutrición moderada y por último 0% con desnutrición grave.

A continuación, se presentan los datos de los diagnósticos del año 2021:

Diagnóstico del estado nutrición de los niños y niñas

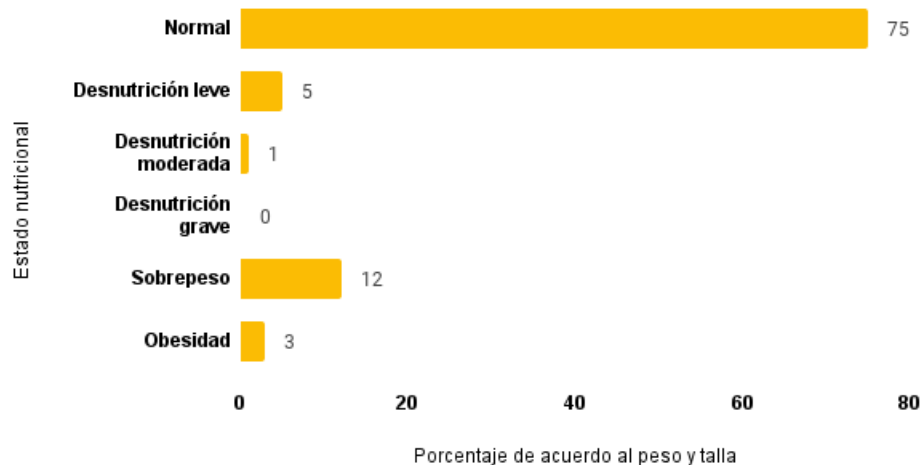


Figura 3. Resultados del año 2021/ Realizada por: Laisha Mariscal

Se reportaron 5,289 beneficiarios y beneficiarias donde 75% se diagnosticaron con normalidad, el 13% con sobrepeso, 5% con desnutrición leve, obesidad 3%, desnutrición moderada con 1% y por último desnutrición grave con 0%.

Por último, se muestra la tabla del año 2022 para observar los resultados de los diagnósticos del estado nutricional de los niños y niñas pertenecientes a la organización:

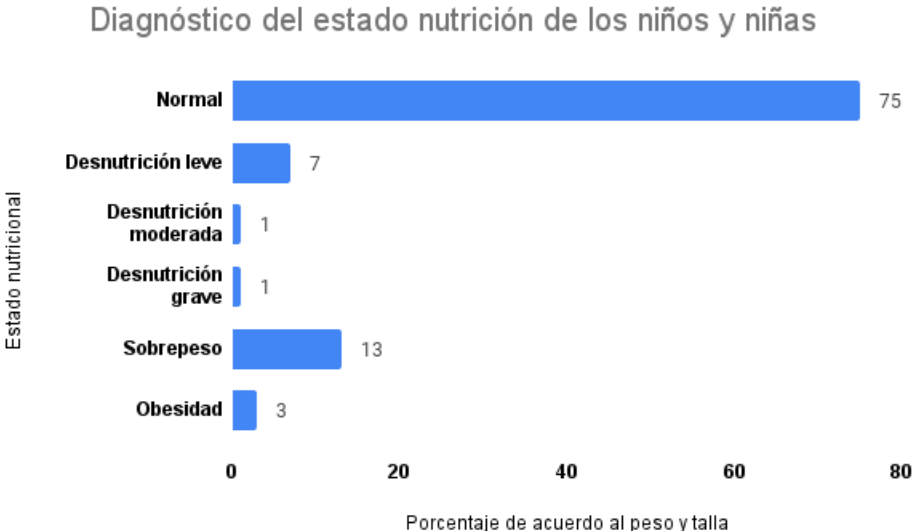


Figura 4. Resultados del año 2022/ Realizada por: Laisha Mariscal

De 4,752 participantes el 75% obtuvo un estado nutricional de normalidad, 13% de obesidad, 7% de desnutrición leve, 3% con obesidad y por último desnutrición moderada y desnutrición grave con 1% cada uno.

Teniendo en cuenta los valores presentados podemos observar que la mayoría de los niños durante los 3 años que se reportaron presentan un estado nutricional normal, lo que puede indicar que estos niños y niñas tienen acceso a una alimentación adecuada para su edad. Sin embargo, se detectó que el segundo porcentaje más alto en las tablas fue el estado nutricional de sobrepeso. Estamos hablando que en el año 2022 alrededor de 617 niños de la organización se diagnosticaron con sobrepeso lo que indica que no están teniendo una correcta alimentación para su edad según las tablas de puntuación Z de la OMS. Algunas

variables que pueden ser significativas en este estudio son la educación nutricional que tienen los padres de familia, el sedentarismo en los niños y niñas, el nivel socioeconómico de la familia del menor. Se requerirá hacer análisis posteriores para determinar la correlación de estas mencionadas.

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2022 (ENSANUT 2022), se evidenció que el sobrepeso afectó al 37.3% de la población de niños entre 5 y 11 años, con una mayor incidencia entre los niños que en las niñas. Entre los adolescentes de 12 a 19 años, la prevalencia fue de 41.1%, sin diferencias significativas entre sexos.

Los resultados de la ENSANTU nos ayudan a darnos cuenta del panorama en que se encuentra este sector de la población, lo cual nos da un contexto importante para hacer una investigación de cómo estos patrones pueden influir en la composición del microbiota intestinal de los niños.

Además, cabe mencionar que se ha encontrado que las comunidades microbianas intestinales son significativamente diferentes entre niños normales y obesos, afecta la síntesis de algunos metabolitos a través de rutas específicas, lo que promueve la obesidad, tomando en cuenta otros factores genéticos y ambientales a los que los niños están expuestos (Otoniel et al, 2019).

Cronograma de actividades

Tabla con actividades y fechas durante el PAP

Nombre de la actividad	Recursos	Tiempo (días)	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12	Semana 13	Semana 14	Semana 15	Semana 16
Elaboración de equipos de trabajo			■															
Distribución de artículos de revisión				■														
Artículos de revisión				■	■													
Estandarización de proceso							■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Toma de muestra									■	■	■	■	■					
Elaboración de manuales							■	■	■	■			■	■			■	
Reunión con la ONI									■			■		■		■		
Presentación final																		■

- Fechas realizadas
- Fechas tentativas

Identificación de posibles riesgos o complicaciones que se enfrentarán en el proyecto

Durante la ejecución del proyecto pueden surgir distintos riesgos o complicaciones que interfieran con el desarrollo de este, por lo que, es esencial reconocer y abordar estos desafíos potenciales, con el objetivo de tener un panorama más claro y asegurar la factibilidad y el éxito del proyecto.

Primeramente, se considera la limitación que pudiera surgir en cuanto a la falta de información relevante o datos insuficientes respecto a la microbiota intestinal en niños de bajos recursos con desnutrición. La exhaustiva revisión de la literatura científica es fundamental para abordar esta posible limitación.

Por su parte, debido al carácter sensible del proyecto y el sujeto de estudio, una de las principales complicaciones reside en la reticencia de los niños a participar en el estudio o bien en la ausencia de la autorización por parte de los padres o tutores legales. Es por ello que se debe tener un acercamiento con un enfoque ético y transparente que respete los derechos de ambas partes y que tome en cuenta las consideraciones bioéticas mencionadas

anteriormente. Esto facilitará la obtención el consentimiento informado de los padres y la participación voluntaria de los niños.

Por otro lado, en lo que refiere a la parte técnica del análisis de las muestras, se identifica que la estandarización de las muestras fecales, en caso de ser realizada con las muestras de sujetos que no forman parte de la muestra poblacional, se podría afectar la homogeneidad y representatividad de los datos. Tomando esto en cuenta, la implementación de protocolos precisos y detallados de recolección, almacenamiento y análisis es esencial para minimizar la variabilidad y asegurar la validez de la estandarización. Asimismo, el seguimiento de estos protocolos ayuda a evitar la obtención de resultados insatisfactorios, los cuales se podrían ver afectados por defectos en la extracción de ADN (no se logre obtener ADN) o durante la reacción en cadena de la polimerasa (no se amplifiquen las muestras).

Continuando con la parte del manejo de las muestras y sus riesgos asociados, se debe recalcar que, debido a la naturaleza de estas, se puede contar con la presencia de agentes patógenos, los cuales representan un riesgo significativo para los participantes del proyecto. Debido a esto se resalta nuevamente la importancia de rigurosos protocolos de manipulación, así como, la implementación de estrictas medidas de bioseguridad contenidas en las regulaciones sanitarias requeridas para los laboratorios de investigación, de manera que, al contar con estas medidas, se reduzca exponencialmente el riesgo de exposición a agentes infecciosos y, además, se genere un ambiente de trabajo seguro. Cabe mencionar que, además de las muestra biológicas, se utilizarán distintos reactivos, los cuales deberán estar etiquetados de acuerdo con el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA).

Otro aspecto a tomar en cuenta es que durante el semestre de Primavera 2024, solo sea posible la recolección de muestras y no se alcancen a realizar la PCRs correspondientes. Lógicamente se debe de planificar y coordinar adecuadamente el cronograma del proyecto para optimizar la obtención de muestras y garantizar que se realicen las PCRs durante el semestre adecuado. No obstante, pueden surgir imprevistos que retrasen la realización de estos procedimientos en los tiempos predeterminados.

Finalmente, uno de los desafíos que pudieran surgir con el análisis los resultados obtenidos, es la falta de información relevante sobre el microbiota intestinal de los sujetos de estudio. Ante esta posibilidad, es ideal contar con estrategias para maximizar la probabilidad de obtener resultados significativos. Primero que nada, se debe comprender que, se parte de una cierta incertidumbre sobre cómo la desnutrición puede influir en la composición y diversidad de la microbiota intestinal, por lo que, la interpretación de los datos podría verse impactada. Para evitar esto, es fundamental que el proyecto sea interdisciplinario para de esta manera contar con análisis que tengan enfoques tanto en microbiología, nutrición y bioinformática. Esta última, más que aportar un análisis como tal, permitirá el uso de técnicas y algoritmos avanzados para la interpretación de datos.

REPORTE PAP

Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.

El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).

El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus

saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.

El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.

El Reporte PAP consta de tres componentes:

El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.

El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.

El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.

Resumen

Durante la primavera de 2024, se ejecutó el proyecto "Análisis de la microbiota intestinal en niños en situación vulnerable", con el propósito de mejorar el bienestar físico y social de estos niños mediante enfoques innovadores centrados en la salud, la alimentación y la calidad de vida. Se plantearon objetivos específicos, tales como la creación de manuales para intervenciones nutricionales, la realización de mediciones antropométricas y la estandarización de metodologías moleculares. Se llevaron a cabo investigaciones detalladas para desarrollar los manuales y estandarizar los procesos de extracción de ADN de las heces fecales y los primers. Se estableció una colaboración con el Organismo de Nutrición Infantil para futuras acciones y se programaron visitas adicionales. Entre los logros destacados se encuentran los manuales de procedimientos, la estandarización de primers para microorganismos como *Bifidobacterium breve* y *Eubacterium hallii*, así como sugerencias para continuar con la estandarización de otros microorganismos y la extracción de ADN.

Además, se avanzó en la redacción de un artículo de revisión sobre la microbiota, se diseñó material gráfico informativo para tutores y padres sobre la toma de muestras y se recolectaron datos de 30 participantes para la siguiente fase del estudio. Estos esfuerzos reflejan un

compromiso continuo con la mejora de la salud y el bienestar de los niños vulnerables, a través de la investigación y la acción colaborativa con ONI. La integración de estos procesos busca no solo comprender mejor la microbiota intestinal de estos niños, sino también mejorar su calidad de vida a largo plazo.

1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de

1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

ONI se encarga de dar apoyo a familias en situación vulnerable, la ayuda que se otorga se clasifica según la situación socioeconómica de los beneficiarios (padres e hijos), tienen familias en situación de extrema pobreza a quienes se les otorga una beca y se les regala la ONIfórmula, a las personas que no estén en una situación tan extrema, se les aplica descuentos según su condición y posibilidades de pago, todo esto se logra mediante un análisis socioeconómico y la entrega de la fórmula se realiza en módulos dependiendo el municipio.

Además, ONI tiene el reto de hacer llegar la información a los tutores ya que algunos por su nivel de educación básica no lograron aprender a leer o escribir de manera correcta, por tanto, el material debe ser muy visual.

1.2 Caracterización de la organización

Figura 1. Presentación de introducción con ONI

ONI será uno de los principales escenarios para el PAP, este organismo se conforma por un grupo de trabajadores sociales, nutriólogos, especialistas en educación y administrativos; cada uno se encarga de su respectivo rol como darle seguimiento al



estado nutricional de los niños y las niñas, cómo va influyendo la ONI fórmula, la dinámica con los tutores de los infantes.

1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

Se tienen distintas problemáticas a tratar en el proyecto, además de limitantes, se pueden clasificar en aquellas relacionadas con los beneficiarios o en este caso los niños y las niñas, la problemática a la que se enfrenta la organización (Organismo de Nutrición Infantil).

Se decidió dividir las problemáticas en tres niveles de impacto o riesgo que implica cada problemática.

NIVEL DE IMPACTO O RIESGO.

Alto:

Uno de los problemas principales es la parte económica, ONI subsiste del gobierno y de donaciones de personas u organizaciones. Por parte de ITESO no se puede destinar suficiente dinero al PAP para material y procesos más complejos como medición de biomarcadores, o para comprar reactivos moleculares, además de la solicitud de dinero del gobierno para este estudio el cual no ha llegado.

El riesgo de no poder tener los datos completos o un muestreo grande debido a que los beneficiarios podrían negarse a continuar en el estudio en cualquier momento, además que la mayor parte del cuestionario será por teléfono y podría existir el riesgo de no responder o que la información que nos proporcionen no sea fiable o algunos datos no sean exactos.

No tener el consentimiento firmado para que se regule todo de manera legal.

Medio:

La distribución de tiempos de los beneficiarios, que no siempre se puede estar pendiente de los niños o niñas como para medir su frecuencia de consumo.

Una posible problemática entre nosotros y ONI podría ser principalmente la distancia ya que no está cerca de ITESO, y los módulos están más lejos incluso.

Bajo:

Se tiene que ser cuidadosos con la manera de compartir la información y resultados obtenidos o con las recomendaciones puesto que algunas familias no están abiertos a hacer cambios en la forma de crianza.

La situación económica y sociodemográfica de los beneficiarios de ONI, la zona donde viven.

1.4. Planeación de alternativa(s)

El diseño de la metodología de trabajo en un proyecto que está en proceso de estandarización comienza con una organización que se extenderá a lo largo de todo el semestre. Se acordó que cada integrante del equipo elaboraría un manual detallado para cada proceso específico, además de contribuir con artículos de revisión e infografías acorde al tema. Esta planeación asegura una comprensión clara de los procedimientos y promueve la coherencia en la ejecución de las tareas asignadas.

El plan de trabajo in situ dio inicio con una serie de reuniones con los representantes de la Organización de Nutrición Infantil (ONI). Estas reuniones fueron fundamentales para delinear los objetivos con precisión, establecer el alcance del proyecto y definir los criterios para la selección de los niños y niñas que participarían en el estudio, considerando sus condiciones sociodemográficas. Este diálogo sentó las bases para una colaboración efectiva entre el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO) y ONI, garantizando así una alineación adecuada de intereses y expectativas entre ambas partes.

Posteriormente, se diseñaron estrategias específicas para la recolección de muestras de heces de los niños y niñas participantes, así como para la medición de variables antropométricas y la evaluación de la dieta. Se preparó el material necesario para llevar a cabo la estandarización de los procedimientos, lo cual incluyó la extracción de ADN de heces, el diseño del termograma, la preparación del máster mix y la realización de PCR en punto final. La etapa final de esta fase consistió en el análisis de los resultados obtenidos en geles de electroforesis.

Sin embargo, se encontraron dificultades en los resultados de las PCR, lo que llevó a la necesidad de ajustar las temperaturas de alineamiento de las mismas. Este ajuste permitió obtener resultados más precisos y confiables, punto clave para presentar los hallazgos ante los integrantes de ONI. Estos resultados tienen el potencial de informar y orientar las decisiones de modificación o

adición de alimentos en las ONI fórmulas, contribuyendo así a mejorar la calidad nutricional de los productos ofrecidos por la organización.

Una solución alternativa que se dio a la problemática más urgente (que es la económica) es aceptar donación de organizaciones como hospital civil que proporcionó material o recurrir a otros centros universitarios para hacer uso de sus equipos.

El último paso en este proyecto, que se prevé será de utilidad en futuras ediciones (verano y otoño 2024), implica la toma de medidas antropométricas y la aplicación de cuestionarios y encuestas nutricionales a los niños y niñas asociados a ONI. Estos datos proporcionarán información valiosa para evaluar el impacto de las intervenciones nutricionales de la organización y guiarán el diseño de programas futuros.

1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

1.5.1 Revisión de artículos

Primeramente, se evaluaron diversos artículos originales, ninguno de revisión, relacionados a la medición, composición, importancia y relevancia de la microbiota, cada estudiante selecciono uno de ellos y después fueron expuestos a lo largo del semestre. Las presentaciones generadas tenían una duración aproximada de 15 minutos y, se basaron en un formato que incluía la exposición de la introducción, objetivo, metodología, resultados, discusión y conclusiones, entre las cuales se incluía un análisis constructivo de las áreas de mejora de loa artículos. Se destaca que para la sección de resultados era necesario incluir las gráficas y análisis estadísticos del artículo.

Una vez que las presentaciones concluían, se generaban preguntas mayormente por parte de las profesoras y posteriormente se discutía entre todo el grupo los resultados expuestos, y en el caso de haberlas, las relaciones directas o indirectas con otros artículos expuestos anteriormente. En la sección de anexos se incluyen ejemplos de las presentaciones generadas

1.5.2 Manuales de estandarización

Para asegurar la consistencia, reproducibilidad y calidad del proyecto, es fundamental contar con manuales estandarizados para cada proceso y metodología que se realiza en el proyecto. Dichos manuales indican de manera detallada los procedimientos que se deben seguir en cada etapa del estudio, desde la recolección hasta el análisis de datos. Específicamente se incluyen,

- 1) Documentación, codificación y resguardo de muestras
- 2) Determinación de la dieta en niños y adolescentes
- 3) Mediciones antropométricas en niños y adolescentes
- 4) Esterilizado de material
- 5) Extracción de ADN de heces
- 6) Electroforesis de ADN
- 7) Manejo de las muestras biológico-infecciosas
- 8) Manejo y disposición de RPBI
- 9) Estandarización de primers
- 10) PCR en punto final
- 11) PCR tiempo real
- 12) Análisis de datos de PCR en tiempo real

Cabe destacar que para su generación se siguió el formato del manual del ITESO para las prácticas de laboratorio del PTI.

La estandarización permite tener un mayor control sobre las variables que influyen sobre los resultados, como el muestreo, el almacenamiento de las muestras, la extracción de ADN, etc. Con ello se minimizan los errores técnicos y humanos, y se facilita la comparación de resultados internos y externos, es decir con otros estudios similares. Por último, la generación de los manuales asegura el cumplimiento de normativas y buenas prácticas de laboratorio

1.5.3 Estandarización de extracción de ADN

A lo largo del semestre Primavera 2024, únicamente se realizó una estandarización de extracción de ADN empleando dos muestras de heces fecales. Las muestras fueron donadas por 2 menores,

quienes eran familiares de una de las profesoras y el procedimiento se llevó a cabo en las instalaciones de los laboratorios de nutrición ubicados en el edificio M.

Se siguió la metodología indicada en el manual “Extracción de ADN de heces”, el cual está basado en el protocolo del Kit QIAamp Fast DNA Stool Minikit de QIAGEN. La duración aproximada del proceso fue de 4 horas, aunque se debe mencionar que al ser la primera vez que se realizaba este proceso fue necesario la precipitación con etanol de los buffers AW1 y AW2.

Durante la extracción de ADN surgieron distintos obstáculos y desaciertos, entre ellos la falta de una hielera en el laboratorio, así como de un thermoblock para las incubaciones correspondientes. Estas situaciones se superaron, aunque sería conveniente para futuras extracciones la integración de estos dos equipos. Por otro lado, la primera incubación se realizó a 70°C, pero, de acuerdo con el proveedor esta temperatura se puede incrementar a 95°C para una optimización de la lisis de las bacterias gram negativas. Los resultados obtenidos (ver tabla 1) muestran que hubo una deficiencia en la extracción del material genético, pues, la cantidad obtenida fue de apenas 12 y 33 ng. Además, su pureza no es la adecuada pues los valores obtenidos de relación de la absorbancia 260/280 fueron de 1.3 y 1.5, por ende, se detecta la contaminación por proteínas u otros componentes que absorban a 280 nm. (Banco Nacional de ADN Carlos III , 2020).

Debido a esto, se debe incrementar la temperatura de la primera incubación a 95°C, de manera que se permita la adecuada disrupción de las membranas celular de las bacterias gram positivas y así poder extraer su material genético. Mientras que para optimizar la pureza del ADN se podría sugerir que el procedimiento sea realizado por muy pocas personas para reducir el riesgo de contaminación y verificar que el manejo de las micropipetas sea el adecuado.

Muestra	Abs 260/280	Cantidad de ADN
STD01	12	1.3
STD02	33	1.5

Tabla 1. Resultados de estandarización de extracción de ADN de muestras

1.5.4 Estandarización de PCR de punto final y estandarización de primers

Para la estandarización de la PCR de punto final, es necesario contar primeramente con los primers correctos y el diseño adecuado del termograma. El objetivo de esto fue determinar cualitativamente la presencia de ciertas bacterias, las cuales se muestran en la tabla --. Los primers utilizados (ver sección de anexos) fueron diseñados por la Dra. Mariana Ruiz, mientras que las Tm (melting temperature o temperatura de fusión) se tomaron de los insertos enviados por el mismo proveedor (IDT). Originalmente se había calculado el valor de la Tm con una calculadora facilitada por Promega, pero después se detectó que la diferencia entre esta y la del inserto era bastante amplia, por lo cual, se decidió que seguir lo indicado por el proveedor era más certero. Usando esta temperatura como punto medio se programaron otras 4 temperaturas (2 superiores y 2 inferiores) para la PCR, siguiendo en todos momentos el termograma mostrado en la figura x. Como se observa los ciclos, al igual que la Tm no fue igual para todos los casos, pero su rango varió entre 25 y 35, dependiendo del microorganismo. Además, en cuanto a los reactivos necesarios para la reacción de PCR (ver tabla --), estos fueron los mismos, únicamente el reactivo de DMSO fue necesario en algunos casos y en otros no.

Una vez finalizadas las PCR se siguió con la verificación de la integridad y longitud del ADN mediante geles de electroforesis. Estos se realizaron con agarosa inicialmente al 1% y después se decidió aumentar la concentración al 1.5% y se agregó un ADN ruler, y un control negativo. Las condiciones de operación fueron 75 voltios por 40 minutos. Finalmente se visualizó cada uno de los geles realizados con ayuda de la foto documentador. Los resultados fueron diferentes en todos los casos (ver sección de anexos)

Tabla 2. Microorganismos evaluados y las Tm usadas durante la estandarización PCR de punto final

Microorganismo	Temperaturas de fusión (°C)				
<i>Bacterias 16s</i>	59	61	63	65	67
<i>Actinobacterias</i>	56	58	60	62	64
<i>Proteobacterias</i>	57	59	61	63	65
<i>Enterobacteriaceae</i>	62	64	66	68	70

<i>Akkermansia muciniphila</i>	58	60	62	64	66
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	59	61	63	65	67
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	55	57	59	61	63
<i>Bifidobacterium breve</i>	57	59	61	63	65
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	51	53	55	57	59

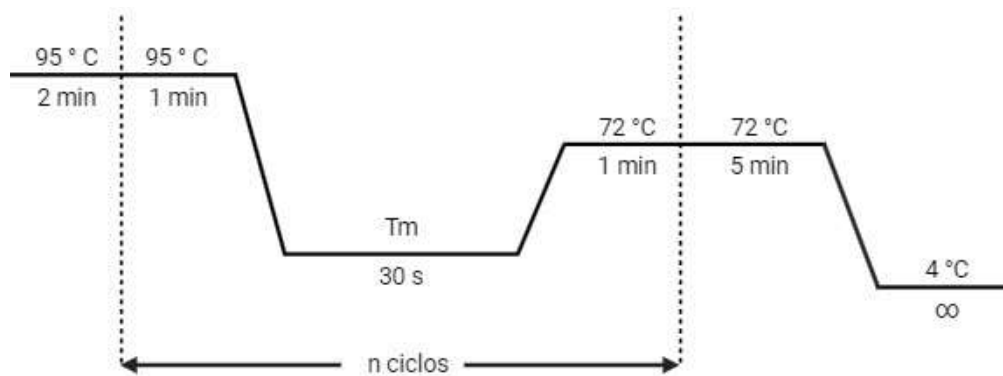


Figura 1. Termograma para la estandarización de PCR de punto final

Tabla 3. Reactivos para la PCR

	Reactivo	Volumen por tubo (µL)
Master Mix	GoTaq buffer	5
	dNTPs	0.5
	DNAPolimerasa	0.125
	H ₂ O	14.63
	DMSO	1.25
	Primers	1.5
Extra	ADN	2

1.5.5 Artículo de revisión

Durante el semestre de primavera 2024 se ha estado trabajando en la redacción de un artículo de revisión en inglés, el cual se planea que incluya las siguientes secciones con sus respectivos subtemas.

- 1) Microbiota: ¿Qué es?, composición, Función y eje microbiota - intestino - sistema inmune

- 2) Metabolitos microbianos: Ácidos grasos de cadena corta (SCFAs por sus siglas en inglés, metabolismo del triptófano y antioxidantes
- 3) Desarrollo de la microbiota en la vida: Prenatal, recién nacidos, lactantes, preescolar, escolar y adolescencia
- 4) Microbiota y dieta: Fibra, antioxidantes, alimentos procesados, colorantes y macronutrientes
- 5) Microbiota y metabolismo: eje microbiota - intestino – cerebro (neurotransmisores), Adipocinas
- 6) Microbiota en patologías: Obesidad, desnutrición, autismo, enfermedades infecciosas y enfermedades gastrointestinales inflamatorias
- 7) Microbiota en niños mexicanos: Contexto sociodemográfico, dieta, diversidad de la microbiota, hábitos y enfermedades metabólicas
- 8) Probióticos, prebióticos, simbióticos, postbióticos y parabólicos

Lo descrito anteriormente fue decidido por todo el equipo de trabajo y se acordó que para su realización es indispensable basarse en artículos originales (aunque dependiendo del caso se pueden usar artículos de revisión y metaanálisis) con una antigüedad no mayor a 10 años.

La redacción de este artículo de revisión aun no finaliza pues la recopilación de la información es un proceso largo, que se debe llevar a cabo con cautela para proporcionar de manera correcta, clara y actualizada la información existente respecto a los temas de interés descritos, así como analizar críticamente la evidencia presentada y también evitar solamente resumir estudios o inclusive cometer plagio.

1.5.6 Visita a ONI

Se realizó una primera visita a ONI para exponer el proyecto del PAP 4D12, escuchar el propósito de ONI y del grupo del PAP de ITESO, así como acordar la dinámica de trabajo conjunta. Se acordó apoyar ambas partes con la recolección de datos del infante o en este caso el participante del estudio. Además de acordar medio de comunicación con el organismo, fechas y cronogramas de actividades, dinámica de trabajo con los tutores.

En seguida se realizó la reunión en línea para presentar la presentación de recolección de muestra y cuadrar la información. Después de la reunión con ONI, se realizaron cambios en el plan original y el formato que se iba a entregar para el mismo día de la reunión con los responsables del menor:

Además, se toman en cuenta las siguientes variables:

- Consumo de medicamentos.
- Dietas especiales.
- Alimentación por sonda.
- Impacto en el nivel de vulnerabilidad del menor.



Figura 3. Visita para la recolección de datos y entrega de Kits.

Estos ajustes surgieron después de identificar datos importantes que no estaban contemplados inicialmente, pero que son fundamentales para complementar nuestra investigación.

1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

1.6.1 Revisión de artículos

La revisión de artículos permitió contextualizar la parte de investigación del PAP. Primero se recabaron puntos clave de artículos sobre la relación de la microbiota de niños con distintos enfoques; dieta, biomarcadores, diversidad, diversidad en LATAM, comparación entre la microbiota de niños y adultos, antibióticos y microbiota en la etapa

prenatal (Figura) (Anexo 1). Posteriormente, se presentaron las revisiones de artículos sobre estudios de la microbiota con el objetivo de conocer la metodología y los resultados del estudio (Anexo 2).



Figura 4. Recopilación de puntos clave.

1.6.2 Manuales

Se redactaron manuales con el fin de estandarizar los procedimientos de laboratorio y documentación. La estandarización permitió desarrollar metodologías a partir protocolos adaptándolo a las condiciones de laboratorio, sujetos de estudio, disposición y accesibilidad a recursos. Por lo tanto, los manuales realizados durante el ciclo de Primavera 2024 ayudarán a continuar con la documentación y experimentación en los próximos (Verano y Otoño 2024) (Anexo 3).

1.6.3 Estandarización de Diseño de Primers

La estandarización del diseño de Primers permitió identificar la diversidad de microorganismos presentes en la microbiota intestinal de NN. Así como determinar la temperatura de alineamiento para la PCR.

1.6.4 Estandarización de Extracción de ADN

La estandarización de extracción de ADN ayudó a realizar correcciones en el manual y a determinar la concentración de ADN de las muestras estándar.

1.6.5 Estandarización de PCR

Estandarizar las PCR de cada microorganismo permitió ajustar las Tm, la concentración de reactivos, establecer las condiciones de operación de la electroforesis y

1.6.7 Recolección de Datos de Beneficiarios de ONI

En la visita al centro de San Isidro Labrador de ONI en Tlaquepaque, se logró encuestar a los tutores de los NN beneficiarios de ONI sobre sus datos personales, antecedentes familiares, antropometría, datos clínicos y gastrointestinales con el fin de analizar los factores ambientales que influyen en la diversidad de la microbiota de los NN en situación vulnerable.

1.6.8 Recolección de muestras

Se recolectaron muestras de los NN beneficiarios de ONI para la continuación en Verano y Otoño 2024 de la extracción de ADN y PCR.

1.6.9 Artículo de revisión

La redacción del artículo de revisión entre todos los miembros del equipo PAP involucró la búsqueda exhaustiva de literatura científica, mediante el empleo de diversos recursos informáticos. Esto permitió, a) profundizar en la comprensión de conceptos teóricos y prácticos relacionados a la microbiota, b) contribuir al conocimiento de los temas, C) colaboración entre estudiantes y profesores. Por otro lado, se promueve el desarrollo de habilidades críticas y analíticas, y, la capacidad para sintetizar información compleja y presentarla de manera organizada y coherente

1.7. Bibliografía y otros recursos

De Helsinki, D. (2013). Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. *Asociación Médica Mundial*, 59.

De Helsinki, D. (2017) Antecedentes y Posición de la Comisión Nacional de Bioética. *Secretaría de Salud*.

Information on Sample Collection, Preservation and Transport. (2023). *World Health Organization*.

La salud de los mexicanos en cifras: resultados de la Ensanut 2022. (s.f.).

<https://www.insp.mx/informacion-relevante/la-salud-de-los-mexicanos-en-cifras-resultados-de-la-ensanut-2022>

Maya-Lucas, O., Murugesan, S., Nirmalkar, K., Alcaraz, L. D., Hoyo-Vadillo, C., Pizano-Zárate, M. L., & García-Mena, J. (2019). The gut microbiome of Mexican children affected by obesity. *Anaerobe*, 55, 11-23.

ONI. Organismo de nutrición Infantil A.C. Revisado el 09 de febrero del 2024.

<https://www.oni.org.mx/>

Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz, J., González-López, J. J., & Mira, N. O. (2019).

Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de

Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127-

134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>

1.8. Anexos generales

Anexo 1. Primera revisión de artículos. Recopilación de puntos de clave.

Microbiota: Niños vs. Adultos

Nombre: Yarely Noemi Franco Anguiano Exp. 733857 Fecha: 01/02/2024 PAP 4D12

Titulo	Información	Fuente
The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota	<ul style="list-style-type: none"> • MOOs modulados por la leche materna • Desarrollo temprano de la microbiota influye en estados patológicos posteriores (asma, inflamación y trastornos metabólicos) • Simbiosis / parasitismo • <i>Autochthonous / allochthonous</i> (transitorios) • Adultos: homeostasis entre todos los MOOs → Estado culminante (disbiosis) • Bebés: Diversificación local por mutación o recombinación. Transferencia horizontal de genes impulsada por fagos (MOOs con el mismo nicho ecológico) • Deriva ecológica / estocasticidad demográfica: Desaparición de especies de baja abundancia v.g. cepas sensibles a antibióticos • Depredación de fagos • Cuerpo humano: Simbionte / holobionte (macrobios) • Primeros días de vida: <i>Proteobacterias</i> y <i>Firmicutes</i> → <i>Actinobacterias</i> • Cesárea: ↓ <i>Bifidobacterium</i> y <i>Bacteroides</i> ↑ <i>Clostridium</i> • Cesárea más heterogéneas • Prematuros (edad de gestación): ↑ anaerobios y grampositivos • Leche materna (oligosacáridos) • Formula (leche) → divergencia temprana. ↑ Propionato y butirato • Durante el destete: la diversidad alfa aumenta → remplazo de <i>Proteobacterias</i> y <i>Actinobacterias</i> por <i>Firmicutes</i> y <i>Bacteroidetes</i> • Cese de lactancia materna a transición de alimentos sólidos → abundancia de la diversidad alfa 	Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., Casey, E., Turróni, F., Mahony, J., ... & Ventura, M. (2017). The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota. <i>Microbiology and molecular biology reviews</i> , 81(4), 10-1128.

Anexo 2. Presentación de artículo

Yarely Noemi Franco Anguiano



Determinación de la capacidad de síntesis de butirato en la microbiota intestinal: Cuantificación por qPCR de la abundancia del gen *but* en muestras fecales

Nikola Daškova^{1,2}, Marie Hečková¹, Ištvan Mados¹, Petra Videmská¹, Petra Splichalová², Helena Pelantová³, Marek Kuzma^{4,5}, Jan Gajda⁶ and Monika Čalová¹. ¹ Instituto de Medicina Clínica y Experimental, ² Primera Facultad de Medicina, Universidad Carolina, ³ RECETOX, Facultad de Ciencias de la Universidad Masaryk, ⁴ Instituto de Microbiología República Checa, ⁵ Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad Palacký Olomouc, ⁶ Departamento de Medicina Interna, Hospital Universitario Královské Vinohrady

INTRODUCCIÓN	MATERIALES Y MÉTODOS
<ul style="list-style-type: none"> • Los Ácidos Grasos de Cadena Corta (AGCC) como el butirato, son productos primarios de la fermentación microbiana de la fibra dietética en el colon. • El butirato beneficia la regulación del crecimiento celular, la reducción de la inflamación y la mejora de la integridad de la barrera intestinal. • La composición de la microbiota intestinal se puede analizar por dos enfoques: secuenciación del gen 16S ARN y secuenciación "shotgun". 	<ul style="list-style-type: none"> • Se evaluó la abundancia del gen <i>but</i> en ADN fecal en dos tipos de sujetos con patrones y fenotipos metabólicos opuestos: Veganos Delgados (VG) y Omnívoros Obesos (OB) • Se identificaron <i>in silico</i> las bacterias que poseen el gen <i>but</i> en la microbiota humana • Se diseñaron primers específicos para su cuantificación mediante qPCR
OBJETIVOS	
<ul style="list-style-type: none"> • Desarrollar un método para evaluar la capacidad de síntesis de butirato de la microbiota intestinal basado en la cuantificación por qPCR del gen bacteriano que codifica la butiril-CoA: acetato CoA-transferasa, enzima clave de la síntesis de butirato. 	

Anexo 3. Manuales



Anexo 4. Infografía de recolección de muestras fecales



Anexo 5. Presentación (Intervención con ONI)



Anexo 6. Presentación de toma de muestras



Anexo 7. PCR in silico

- 16S RNA

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	AGTTTGATCCTGGCTCAG	18	53.80	50.00	7.00	5.00
Reverse primer	GNATTACCGGCGCNGCTG	18	53.93	68.75	6.00	5.50

Products on target templates

>NZ_LAJGWR010000002.1 *Tenacibaculum pacum* strain SC-14 Contig02, whole genome shotgun sequence

product length = 984

Forward primer 1 AGTTTGATCCTGGCTCAG 18
 Template 251229 251246

Forward primer 1 AGTTTGATCCTGGCTCAG 18
 Template 252132 252115

>NZ_QH8D01000005.1 *Lujinixia floridis* strain B210 B210_contig5, whole genome shotgun sequence

product length = 2594

Forward primer 1 AGTTTGATCCTGGCTCAG 18
 Template 314136 314353

Forward primer 1 AGTTTGATCCTGGCTCAG 18
 Template 316929 316912

>NZ_SS0A01000034.1 *Alkalicoccus terrae* strain CC-HH110 contig35, whole genome shotgun sequence

product length = 1262

Forward primer 1 AGTTTGATCCTGGCTCAG 18
 Template 3068 3085

Forward primer 1 AGTTTGATCCTGGCTCAG 18
 Template 4329 4312

- *Bifidobacterium bifidum*

	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	CTGGCAGCCGTGACACTACT	20	62.16	60.00	5.00	5.00
Reverse primer	TGAACTGGCCGTTACGGTCT	20	61.47	55.00	7.00	5.00

Products on target templates

~NZ_AKCA01000001.1 Bifidobacterium bifidum NCIM5 41171 cent1.1, whole genome shotgun sequence

product length = 102

Forward primer	1	CTGGCAGCCGTGACACTACT	20
Template	1623302	1623321
Reverse primer	1	TGAACTGGCCGTTACGGTCT	20
Template	1623303	1623384

- *Bifidobacterium adolescentis*

Primer pair 1

	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	GCTGATATCTGGCTGTACC	20	58.58	55.00	8.00	4.00
Reverse primer	AAACCACCCAGTAGTCTCC	20	58.64	35.00	3.00	2.00

Products on target templates

~NZ_CP020341.1 Bifidobacterium adolescentis strain 1-11 chromosome, complete genome

product length = 115

Forward primer	1	GCTGATATCTGGCTGTACC	20
Template	975169	975188
Reverse primer	1	AAACCACCCAGTAGTCTCC	20
Template	975383	975384

- *Faecalibacterium prausnitzii*

	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
primer	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21	63.24	61.90	4.00	1.00
primer	CCGAAGACCTTCTTCTC	18	53.99	55.56	7.00	1.00

~NZ_D8483301.1 Faecalibacterium prausnitzii M21/2 Scfd1_02_24, whole genome shotgun sequence

product length = 198

Forward primer	1	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21
Template	83815	83835
Reverse primer	1	CCGAAGACCTTCTTCTC	18
Template	83212	83185

~NZ_D8483301.1 Faecalibacterium prausnitzii M21/2 Scfd1_02_21, whole genome shotgun sequence

product length = 198

Forward primer	1	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21
Template	291758	291778
Reverse primer	1	CCGAAGACCTTCTTCTC	18
Template	291947	291938

~NZ_D8483498.1 Faecalibacterium prausnitzii M21/2 Scfd1_02_19, whole genome shotgun sequence

product length = 198

Forward primer	1	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21
Template	83148	83128
Reverse primer	1	CCGAAGACCTTCTTCTC	18
Template	82951	82988

~NZ_D8483495.1 Faecalibacterium prausnitzii M21/2 Scfd1_02_11, whole genome shotgun sequence

product length = 198

Forward primer	1	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21
Template	1711	1731
Reverse primer	1	CCGAAGACCTTCTTCTC	18
Template	1808	1891

~NZ_D8483402.1 Faecalibacterium prausnitzii M21/2 Scfd1_02_3, whole genome shotgun sequence

product length = 198

Forward primer	1	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21
Template	93837	93817
Reverse primer	1	CCGAAGACCTTCTTCTC	18
Template	92848	92857

~NZ_D8483401.1 Faecalibacterium prausnitzii M21/2 Scfd1_02_1, whole genome shotgun sequence

product length = 198

Forward primer	1	GATGGCCTCGCTCCGATTAG	21
Template	1883	1783
Reverse primer	1	CCGAAGACCTTCTTCTC	18
Template	1889	1883

Primer pair 1

	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TACGCCGCAAGGCTA	19	57.76	62.80	6.00	2.00
Reverse primer	TGCTGCCACCTCTCCCG	19	54.85	56.87	2.00	2.00

Products on target templates

+NZ_CP009407.2 Mycobacterium kumamotoense strain J08116372 chromosome, complete genome

product length = 388
 Forward primer 1 TACGCCGCAAGGCTA 18
 Template 451888 451899
 Reverse primer 1 TGCTGCCACCTCTCCCG 19
 Template 451879 ..A..... 451891

product length = 388
 Forward primer 1 TACGCCGCAAGGCTA 18
 Template 21849 21861
 Reverse primer 1 TGCTGCCACCTCTCCCG 19
 Template 21840 ..A..... 21852

+NZ_CP107021.1 Bacillus cereus Fujisuzumae strain DSM 5 chromosome, complete genome

product length = 298
 Forward primer 1 TACGCCGCAAGGCTA 18
 Template 18888 18900
 Reverse primer 1 TGCTGCCACCTCTCCCG 19
 Template 18879 ..G..... 18891

product length = 299
 Forward primer 1 TACGCCGCAAGGCTA 18
 Template 28867 28879
 Reverse primer 1 TGCTGCCACCTCTCCCG 19
 Template 28858 ..G..... 28870

Actinobacteria

Bifidobacterium breve

Primer pair 1

	Sequence (5'→3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	TCATCACGGCAAGGTCAGA	20	59.32	50.00	3.00	2.00
Reverse primer	GCCAGAACAGCTGGAAACA	20	60.82	55.00	6.00	0.00

Products on target templates

+NZ_CP102536.1 Bifidobacterium breve strain BIF195 chromosome, complete genome

product length = 111
 Forward primer 1 TCATCACGGCAAGGTCAGA 20
 Template 286449 286468
 Reverse primer 1 GCCAGAACAGCTGGAAACA 20
 Template 286559G..... 286540

+NZ_VMHK01000001.1 Bifidobacterium spouza strain W0102 NODE_1_length_692965_cov_329.313454, whole genome shotgun sequence

product length = 1588
 Reverse primer 1 GCCAGAACAGCTGGAAACA 20
 Template 548131 A.G.....G 548112
 Reverse primer 1 GCCAGAACAGCTGGAAACA 20
 Template 547444G.GCA..... 547463

product length = 2964
 Forward primer 1 TCATCACGGCAAGGTCAGA 20
 Template 639213 GG.....AC.....G 639232
 Forward primer 1 TCATCACGGCAAGGTCAGA 20
 Template 642176 ..G.S..A.C.....T 642157

Anexo 8. Electroforesis de microorganismos

Anexo 9. Presentación de carteles PAP

ESTANDARIZACIÓN DE PRIMERS Y EXTRACCIÓN DE ADN



Julieta Eusebio Barreto, Yarely Noemí Franco Anguiano, Abril Arias Rodríguez, Elvira Daniela Vázquez Cervantes, Scarlett Frausto Trigo, Adrián Ruiz Chávez. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente ITESO - Anillo Periférico Sur Manuel Gómez Morín 8585, Santa María Tequepexpan, 45604 San Pedro Tlaquepaque, Jalisco. Correo-e: it29556@iteso.mx

Introducción



Impacto social: micro, meso y macro



Resultados

Extracción de ADN

- El rendimiento de la extracción de ADN fue de 33 µg/µL y 12 µg/µL.
- Los valores de pureza fueron 1.5 y 1.3 respectivamente.
- Rendimiento global bajo.

PCR Punto Final y Electroforesis en gel de agarosa

Tabla 1. Características de microorganismos objetivo de muestras de heces fecales

Variables	16S rRNA	Firmicutes	Roseburia	Bacteroidetes
Tm teórica (°C)	55	56	53	60
Tm estándar (°C)	59	60	55	58
Fragmento (pb)	536	327	230	324
Primers (µM)	0.6	0.6	0.6	0.6



Figura 4. Primera estandarización PCR gen 16S (Beno: bacterias).



Figura 5. Primera estandarización PCR Firmicutes (Phylum).



Figura 6. Primera estandarización PCR Roseburia sp. (Probiotico)



Figura 7. Primera estandarización PCR Bacteroidetes (Phylum)

Materiales y Métodos

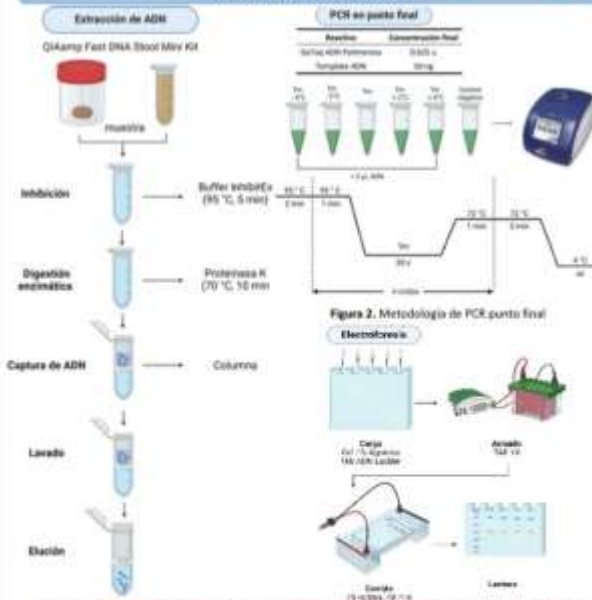


Figura 1. Metodología de extracción de ADN

Figura 3. Metodología para electroforesis en gel de agarosa

Conclusiones

La temperatura de alineamiento ideal para correr la PCR de Firmicutes es de 60°C y la de *Roseburia sp.* es de 53 °C. Para 16S rRNA será necesario continuar con la estandarización haciendo un ajuste en las temperaturas. La calidad del ADN extraído afectó el resultado obtenido en la PCR debido a que durante la extracción se modificó la temperatura de incubación por cuestiones de tiempo a 70°C, cuando debió ser 95°C. Se deberá realizar una nueva extracción de ADN tomando en cuenta la temperatura de 95°C en la incubación para volver a correr las PCRs en las que no se obtuvieron resultados y poder hacer ajustes a partir de los resultados que se obtengan. Como perspectiva se propone mantener una bitácora virtual organizada y realizar un checklist en la preparación de los máster mix de las PCRs para evitar errores de pipeteo y prevenir la falta de algún reactivo.



DOCUMENTACIÓN PARA ESTANDARIZAR PROCEDIMIENTOS DEL PAP 4D12 MICROBIOTA INTESTINAL DE NIÑOS Y NIÑAS EN SITUACIÓN VULNERABLE

Laisha Maniscal, Adrián Alberto Saldaña Mireles, Lucía Navarro Caldera, Alondra Meza Amador, Diana Laura Moreno Jiménez, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO) - Avda. Periférico Sur, Manuel Gómez Morín 8585, Santa María Tequepeapan, 45604 San Pedro Tlaquepaque, Jalisco. Correo-e: lb728072@iteso.mx

Introducción
La estandarización de un proyecto no solo involucra la parte práctica y experimental en el laboratorio, sino que para poder realizar los métodos adecuados se elaboraron previamente manuales de laboratorio basados en documentos, tales como normativas y acuerdos nacionales e internacionales, para tener una guía de los parámetros a seguir durante todo el semestre. Al igual se realizaron reuniones con ONI (Organismo de Nutrición Infantil) para poder establecer las bases de lo que se va a hacer en los siguientes periodos. Finalmente, se realizaron tomas de muestra y documentación de datos. ONI proporciona un modelo de intervención en dos áreas: nutrición para los niños y la educación para padres, en las cuales se pretende colaborar para tener un enfoque social a la vez que se emplean las técnicas de laboratorio y nutrición.

Impacto Social

- Nivel micro: Estandarizar procedimientos para el análisis de heces en la población infantil para crear un perfil microbiológico y educación o concientización de los padres.
- Nivel meso: Apoyar al Organismo de Nutrición Infantil (ONI) a tener un análisis más extenso de la salud de los niños y niñas que son beneficiarios de esta institución.
- Nivel macro: Combatir la malnutrición infantil en Jalisco con la evaluación de la microbiota intestinal y el estado nutricional de niños y niñas (NN).

Materiales y Métodos

Manual de frecuencia de consumo de alimentos para preescolares



Los datos obtenidos se compararon con parámetros de referencia como: OMS 2007, Frisancho (1981) y Ramos Galván (1972).



Resultados

Manuales documentados.

Se elaboraron 12 manuales para la estandarización de procedimientos durante el proyecto:



Durante el semestre se programaron 2 reuniones con ONI (1 presencial y 1 en línea) para presentar la propuesta del proyecto y cómo es que se recolectarán las muestras fecales de NN. Igualmente, se elaboró un artículo de revisión entre todos los participantes del proyecto, incluyendo estudiantes y docentes; al igual que se crearon tres carteles de divulgación científica asociados a la microbiota intestinal que se presentaron en el Congreso Internacional de Avances en Medicina (CIAM XXV). Por último, se mostró el consentimiento informado a los padres y tutores de NN para comenzar con la recolección de muestras.



Conclusiones

La elaboración de manuales es esencial para una correcta estandarización de los procedimientos realizados en un proyecto, ya que en base a ellos es que se van modificando las condiciones y parámetros para que se obtenga el mayor rendimiento posible, esto con el fin de que sea un punto de partida para una intervención. Para poder colaborar con ONI de una manera efectiva se necesita buena comunicación y aporte de ambas partes, lo que lleva a un resultado exitoso que además ayudará a las familias vulnerables que acuden a esta organización. Este primer semestre se sentaron las bases para llevar a cabo los procesos experimentales y la dinámica que se llevará con ONI en cuanto a toma de muestra, medidas antropométricas y cuestionarios de frecuencia de consumo para el periodo de verano y otoño próximos. En cuanto a perspectivas a futuro se tiene pensado diseñar una estrategia de intervención nutricional para poder mejorar la salud intestinal de NN mediante un simbiótico, al igual que llevar al estudio a otras poblaciones con diferentes contextos para evaluar las diferencias a nivel intestinal.



2. Productos

Manuales

En el estado de Jalisco, México, hay una gran necesidad de obtener información sobre la microbiota intestinal en niños y niñas que se encuentran en situación de vulnerabilidad. Esta población puede estar expuestos a diversos factores de riesgo que pueden afectar la salud de su microbiota intestinal, como la pobreza, malnutrición, acceso limitado a servicios de salud y las condiciones socioeconómicas desfavorables.

La creación de manuales de procedimientos específicos para recolectar esta información de la microbiota intestinal es fundamental ya que a partir de esta investigación se puede contribuir a mejorar las estrategias de salud pública dirigidas a la prevención y el tratamiento de enfermedades relacionadas con la microbiota intestinal en NN, así como también garantizar la inclusión de niños y niñas en situación vulnerable en investigaciones. Para ello se realizaron los manuales de los siguientes procesos (Anexo x):

- Determinación de la dieta en niños y adolescentes

Para valorar la calidad de la dieta y el consumo frecuente de los alimentos consumidos en la alimentación de los participantes, se realizó un manual basado en la ENSANUT 2019 para obtener información semicuantitativa con preguntas para analizar el consumo de grupos de alimentos recomendables y no recomendables de manera habitual. Por edad de los participantes, este cuestionario se dirige al tutor del menor.

- Esterilización de material

La adecuada elaboración de los procesos para llevar a cabo nuestras PCR y electroforesis es crucial, y comienza con la correcta preparación del material a utilizar y la configuración de las temperaturas óptimas. Asimismo, es fundamental seguir un procedimiento preciso para garantizar la eficacia y la eficiencia del proceso. Es importante tener en cuenta que estos procedimientos pueden variar según el equipo utilizado. En nuestro caso, para esta tarea en particular, empleamos la Autoclave Yamato Scientific SN-500C, la cual desempeñó un papel

central en la esterilización y preparación de nuestro material, asegurando así la integridad y la precisión de nuestros experimentos.

- Extracción de ADN de muestras de heces

El procedimiento de extracción de ADN a partir de muestras fecales utilizando el Kit QIAamp® Fast DNA Stool Minikit de QIAGEN abarca una serie de pasos esenciales para obtener un ADN de alta calidad y pureza. Incluye la lisis de las células, la eliminación de impurezas y la elución del ADN purificado. Este proceso se usa con buffers y columnas de centrifugación, permitiendo purificar y recuperar el ADN eficientemente. Además, se proporcionan detalles sobre las medidas de seguridad necesarias y los materiales requeridos para llevar a cabo la extracción de ADN con éxito.

- Manejo y disposición de Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos

Es crucial gestionar de manera adecuada los desechos generados en servicios de atención médica con agentes biológico-infecciosos para prevenir efectos negativos en la salud y el entorno. El proceso de manejo de estos residuos se divide en seis pasos: identificación inmediata, envasado según una tabla específica, almacenamiento temporal seguro, recolección especializada, tratamiento preferiblemente con autoclave, y disposición final en camiones de basura común si han sido tratados, de lo contrario deben ser enviados a empresas autorizadas. Este proceso garantiza un manejo responsable y seguro de los residuos, protegiendo la salud y el medio ambiente.

- PCR en tiempo real

Se detalla el análisis de la microbiota intestinal en niños vulnerables mediante qPCR en tiempo real. El proceso incluye descongelar reactivos como iTaq Universal SYBR Green Supermix y primers, preparar la mezcla de reacción, dosificar en tubos para PCR, programar el ciclo térmico, desnaturalizar el ADN genómico y ajustar los tiempos de extensión.

Presentación de revisión de artículos

La investigación de antecedentes y estudios previos similares nos proporcionó un panorama más claro sobre el enfoque de nuestra investigación. Al estudiar diferentes artículos, cada miembro del equipo pudo aprender de las experiencias y hallazgos de otros, lo que permitió complementar ideas y generar nuevas perspectivas para enriquecer nuestra propia investigación. Este proceso nos brindó la oportunidad de explorar diversas fuentes de información, lo que a su vez nos ayudó a generar nuevas ideas y enfoques que pudimos integrar de manera efectiva en el desarrollo de nuestra investigación.

Presentación (Intervención con ONI)

Durante la presentación del proyecto a ONI (Anexo 5), describimos los parámetros propuestos, como los rangos de edad y los métodos de recolección de muestras fecales, junto con la secuencia planificada para llevar a cabo cada etapa. Sin embargo, recibimos retroalimentación que nos llevó a ajustar los parámetros de edad y a considerar la elaboración de infografías más visuales, priorizando las imágenes sobre el texto. Además, se sugirió tomar en cuenta los diferentes grados de vulnerabilidad y se propusieron nuevas ideas para enriquecer la investigación. Entre ellas, se planteó la importancia de compartir los resultados obtenidos al final del estudio para que sean útiles para la comunidad.

Presentación toma de muestra

Se realizó una presentación (Anexo 6) en donde el objetivo fue explicarles a las personas que forman parte del equipo de la organización ONI, los pasos para que las muestras fecales no se contaminaran y como era el proceso de su recolección. Por cuestiones de logística y de tiempo esta sesión se realizó de manera virtual por medio de la plataforma de Teams en donde asistieron algunos de los alumnos del proyecto, maestras responsables del proyecto y personal de ONI.

Infografía

La creación de la infografía (Anexo 4) sobre la recolección de muestras fecales fue un proceso cuidadoso y considerado. Para atender las diversas necesidades de los usuarios, creamos cuatro versiones diferentes. Una versión incluía tanto imágenes como texto para explicar los métodos de recolección, mientras que las otras tres se basaban exclusivamente

en imágenes. Esto se hizo con la conciencia de que algunos padres, tutores o cuidadores podrían tener dificultades para leer. Este enfoque inclusivo aseguró que la información fuera accesible para todos, promoviendo la igualdad de acceso al conocimiento.

Geles y BLAST

Se llevo a cabo la electroforesis en gel de diversos microorganismos presentes en muestras fecales. Esta técnica ha posibilitado la separación de moléculas según su tamaño, forma o punto isoeléctrico, lo que facilitó la visualización y separación de fragmentos de ADN. Además, hemos identificado estos microorganismos mediante la comparación de los patrones de bandas de ADN. Para un análisis más profundo, hemos utilizado BLAST, lo que nos ha permitido comparar y analizar las secuencias obtenidas, identificando moléculas y explorando su función potencial, enriqueciendo su comprensión en diversidad y función microbiana en las muestras analizadas (Anexo 7).

3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

3.1 Sensibilización ante las realidades

Scarlett Frausto: Este proyecto representa un compromiso ético grande e importante, en particular para poder responder a las realidades físicas, sociales y culturales de las familias y comunidades a las que se les está brindando el apoyo. Este tipo de proyectos hace que podamos ser capaces de reflexionar en las posiciones y privilegios que nos rodean y como estas influyen en nuestra percepción de las necesidades. Nos enfrentamos a la realidad de las desigualdades socioeconómicas y a los obstáculos que impiden el acceso a una alimentación adecuada para muchos niños en situación vulnerable. Me di cuenta que de cierta manera todos estamos en la posición de poder ayudar y contribuir, el proyecto creo que en general

despierta sentimientos de empatía, compasión, frustración y preocupación por las desigualdades que tenemos como sociedad. Mis valores morales me han ayudado a tomar compromiso en favor de la justicia social, y mi capacidad analítica me ha llevado a tomar decisiones informadas y éticas en pro de todos y todas. En resumen, poder participar en proyectos donde nosotros como estudiantes interactuemos con organizaciones como lo es ONI representa un desafío y un despertar ético que abre las puertas a la lucha (poca o mucha) contra las desigualdades de acceso a una nutrición adecuada y digna para los niños y niñas.

Laisha Mariscal: Durante este proyecto vi la realidad que viven muchas familias y los niños aquí en México. Hay un alto porcentaje de niños que viven con algún grado o tipo de desnutrición, lo que me llevó a pensar que pueden estar involucrados muchos factores (socioeconómico, social y cultural) y en esto también entra algo muy importante que es la educación de los padres de familia, ya que a esa edad los niños siguen siendo dependientes de la decisión de sus padres a la hora de comer. Tristemente en estas comunidades de bajos recursos es normal que los niños sufran de este tipo de situaciones de salud.

Al trabajar con personas que se encuentran en situaciones así, me puedo dar cuenta que todavía falta mucha educación nutricional. Lo que despierta en mí mis ganas de seguir educando a las familias de México y de la misma forma también entender que la realidad es que muchas veces no tienen acceso a una alimentación adecuada. Y ahí es en donde yo como nutrióloga puedo hacer una intervención en donde no solamente es darles una dieta que seguir si no enseñarles con su canasta básica como tener una alimentación nutritiva y balanceada y no solamente para los niños sino también para los adultos que pertenezcan esa familia. Como futura nutrióloga, siento la responsabilidad de trabajar hacia un sistema más justo y accesible para las comunidades marginadas.

Me di cuenta de la necesidad de no solo dar intervenciones nutricionales individualizadas, sino también abogar por políticas públicas que aborden y promuevan un acceso equitativo a alimentos nutritivos para todos.

Lucia Navarro: Como biotecnóloga, mi labor se centra en trabajar con muestras y reactivos, siguiendo procedimientos meticulosos. Sin embargo, ¿alguna vez me detengo a reflexionar sobre el origen de esas muestras? ¿La situación de la persona que nos las proporciona? La

respuesta, lamentablemente, es no. Me limito a cumplir con las tareas asignadas sin considerar el trasfondo humano detrás de cada muestra. Recientemente, me vi confrontada con la realidad de que estoy trabajando con personas reales, incluyendo menores y niños en situaciones vulnerables. Esta revelación me hizo consciente de mi privilegiada posición y de la incapacidad para comprender completamente las circunstancias de aquellos con los que interactúo profesionalmente.

Afrontar la disparidad entre estos niños, conocer las condiciones en las que nacieron y la necesidad de apoyo adicional para su supervivencia y desarrollo fue un golpe difícil de asimilar. El proceso de elaborar infografías visuales, tras haber creado una versión con texto, me hizo confrontar la realidad de que muchos padres de familia no han tenido acceso a una educación adecuada.

En mi búsqueda por definirme como biotecnóloga, aspiró a ser reconocida por mi ética, responsabilidad y confiabilidad. Es crucial para mí comprender a fondo la situación de las personas con las que trabajo para poder desempeñar mi labor de manera más efectiva y significativa. No quiero simplemente cumplir con las tareas asignadas; quiero estar consciente de que mi trabajo puede tener un impacto real en vidas en riesgo, y estoy comprometida a utilizar mis habilidades para ayudar en todo lo posible.

Alondra Meza: A lo largo de mi carrera y de mi vida personal no había tenido oportunidad de ser parte de algo importante, de algún proyecto que trascendiera más allá de lo teórico y que pudiera causar algún impacto real, me ha despertado el querer aprender más de mi entorno, porque me ha abierto los ojos y sensibilizado a una situación en la que viven familias, condiciones de vulnerabilidad, cuando mencionan la palabra “vulnerable” uno se puede imaginar la situación en la que se vive sin embargo no fue hasta que se tuvo las visitas a los centros y a la sede de ONI que se aprendió el verdadero significado, desde que llegan las familias y ves la malnutrición de los niños y niñas e incluso de los tutores, al tomar los datos de las familias, haciendo las entrevistas se logra conocer el contexto, familias que no han tenido oportunidades, que tienen un contexto familiar disfuncional, que no pueden o han podido tener acceso a educación básica, que a veces solo tienen para comer lo mínimo, mamás que trabajan turnos de noche y de día para poder mantener a sus bebés, incluso no

conocer bien el proyecto pero buscar el bien de sus bebés ante todo y aprovechar cualquier oportunidad para tener un mayor panorama de la salud de éstos.

Este proyecto más allá de ser un entregable me ha ayudado a saber que hay áreas de oportunidad, hace falta educación nutricional en Jalisco, también me ayudó a saber que puedo poner mi grano de arena de alguna forma en la sociedad con mis conocimientos, valorar la ética y el compromiso con mi entorno, querer ayudar en todo lo que pueda y saber que si esto trasciende se podrá ayudar a muchos niños y niñas que lo necesitan y a muchas madres y padres que quieren hacer todo por sus niños.

Yarely Franco:

Definitivamente el PAP fue una experiencia en la que todo el tiempo estuve en constante sensibilización. Desde la parte de investigación del PAP hasta las visitas a ONI, me dieron la oportunidad de poder aplicar lo aprendido durante la carrera con fines que beneficiar a niñas y niños en situación vulnerable a partir de un estudio para mejorar su salud nutricional y alimentaria.

En nuestro primer acercamiento con ONI, al presentarles el PAP, pude conocer incluso como ONI se preocupa por mantener la identidad cultural de los beneficiarios, ya que la ONI formula distribuida en zonas indígenas, principalmente contienen ingredientes que aportan consistencias que mantienen la identidad cultural en la alimentación de estos grupos. Asimismo, al visitar el centro de San Isidro Tlaquepaque, encuestar a los tutores y conocer a los beneficiarios me permitió concientizar su situación.

Abril Arias: Este proyecto de aplicación profesional nos confronta con las desigualdades socioeconómicas que dificultan el acceso a una alimentación adecuada para muchos niños y niñas en nuestra sociedad. Esto no me conduce a otro lado más que a cuestionar si mi percepción de las necesidades y desafíos que enfrentan otros es certera y lo suficientemente amplia como para desarrollar una verdadera empatía, y a preocuparme que exista una alimentación pobre solo por injusticias fuera de la manos de los niños.

A medida que me involucraba más con la organización de nutrición infantil, mis valores morales me guiaron hacia un compromiso en favor de la justicia social. Esto me motiva a

actuar desde mi formación profesional, a tomar decisiones éticas e informadas que buscan el beneficio de todos y todas, especialmente de aquellos que están en una situación vulnerable y necesitan apoyo.

3.2 Aprendizajes logrados

Scarlett Frausto:

Durante el proyecto reflexioné sobre las diferentes realidades que enfrentan las personas tanto físicas como sociales y culturales. Fue y sigue siendo un proceso lento y duro poderse cuestionar a si mismo las creencias ante las realidades que se viven actualmente y como es que tenemos una responsabilidad ante ellas.

La posición privilegiada que sé que vivo influye en mi percepción de las problemáticas que enfrentan otras personas, esta reflexión me llevo a tener aún más empatía y sensibilidad hacia las realidades de la mayor parte de la población mexicana. El proyecto nos permitió integrar nuestros conocimientos de biología molecular, en específico técnicas de PCR para el análisis de muestras fecales que permitirá estudiar la composición de la microbiota intestinal de los niños y niñas de ONI. También se desarrolló el pensamiento crítico y analítico para comenzar a estandarizar procesos nuevos para la mayoría de nosotros. Otro conocimiento importante aplicado fue la

Lucia Navarro:

El Programa de Aprendizaje Profundo (PAP) ha sido esencial para mi comprensión de cómo llevar mi carrera a la práctica diaria. Al principio, subestimé la importancia de la investigación exhaustiva, la revisión de artículos y las exposiciones, pero pronto me di cuenta de su relevancia al ver cómo contribuían a la preparación de nuestro proyecto, sobre todo al ser pioneros en este campo.

Durante la presentación ante ONI, experimenté un momento de tensión. A pesar de sentirme preparada, era consciente de que siempre hay áreas de mejora. La revisión de nuestras ideas y puntos de investigación por parte de ONI demostró lo delicada que puede ser una investigación científica cuando se modifican variables, lo que nos llevó a replantear las bases de nuestro proyecto. Esta experiencia amplió mi comprensión sobre el trabajo de ONI y la

responsabilidad que tenemos al manejar datos y muestras que involucran a menores y seres humanos en general. Además, perfeccionar mi habilidad en la elaboración de geles y la ejecución de electroforesis ha sido de gran valor. Estos conocimientos no solo los aplicaba en mi rutina diaria, sino que también los destinaba a un propósito más amplio que beneficiaría a otras personas. Esta destreza me permitió comprender y analizar los resultados de manera más efectiva, trascendiendo así la mera satisfacción personal en mi práctica.

Destaco especialmente la utilidad de la bitácora, tanto en la presentación con ONI como en el laboratorio. Esta herramienta ha facilitado la documentación detallada de cada paso, permitiendo una mejor comprensión y repetición precisa de los procedimientos.

Laisha Mariscal:

Este proyecto fue un reto para mí hablando académicamente ya que estuve trabajando la mayor parte del tiempo en otra área diferente a mi carrera, fue estar cada clase manteniéndome al día con los temas. Convivir con personas de otra carrera fue sinceramente retador porque traen ideas diferentes o enfoques. Sin embargo, me gustó mucho vivir la experiencia del trabajo multidisciplinario y los resultados que se pueden obtener. Otra de las cosas que sentí que fue un reto, fueron los trabajos en el laboratorio para mí todo era nuevo y aunque mis demás compañeros ya se sabían cosas que fueron muy simples para mí fue todo un reto (pipetear y usar los equipos del laboratorio) pero con la ayuda de mis compañeros y la guía de mis maestras aprendí muchísimas cosas tanto del laboratorio como de la microbiota intestinal.

Hablando más de un poco de todo el trabajo de investigación al principio sentí que iba a ser un reto muy complicado. Nos tocó hacer muchísima investigación y consultar muchos artículos científicos, así como realizar uno, me sentía muy principiante en esta área, a pesar de ello sentí mucho acompañamiento de parte de las maestras responsables del proyecto.

En el trabajo con la organización ONI, me pareció una oportunidad para aprender a trabajar con niños y padres de familia, y también a difundir cosas en un lenguaje muy simple, ya que quienes les damos los pasos para avanzar en el proyecto como la recolección de muestras fecales, no eran expertos en el tema.

En cuenta al ámbito personal, aprendí a trabajar con personas que tienen un enfoque totalmente diferente al mío, aprender a interpretar lo que estaban queriendo decir o lo que ellos estaban viendo y poder interpretarlo en e mi propia área.

Alondra Meza: Profesionalmente me ha ayudado a tener un panorama más enfocado de lo que puedo lograr con mi carrera, todos los aprendizajes previos que he tenido lo he puesto en práctica este semestre, he aprendido más sobre la parte de genética y biología molecular, sobre inmunología, incluso nutrición que no llevamos mucho de ello en la carrera y he conocido sobre las medidas antropométricas o parámetros de malnutrición, aprendí a utilizar herramientas como cuestionarios para obtener datos que próximamente se analizan con análisis estadístico, sobre todo aprendí sobre la microbiota intestinal, qué es, qué la afecta, efectos que tiene sobre cada individuo, la variedad de microbiota. En laboratorio también he aprendido a hacer extracción y análisis de muestras fecales, mejorar mis buenas prácticas de laboratorio y procedimientos como PCR y electroforesis; se me ha requerido pensar más allá de la caja y aprender de los errores siempre buscando un fundamento y cómo solucionarlo.

Personalmente tuve un crecimiento enorme, aprendí a ser empática con mi entorno y con las personas, buscar alternativas de dialogo, formas de hacer llegar la información de manera efectiva adaptándome a las situaciones, a perder el miedo y hablar con mayor seguridad de mis conocimientos y de mi trabajo, a darme un acercamiento a lo que quiero hacer en el futuro, a darme cuenta de lo que me gusta o no me gusta, a organizarme, etc.

Yarely Franco:

Durante el PAP aprendí a estandarizar procesos de laboratorio y documentación, realizar manuales, investigar y reportar resultados de artículos. Al igual que aplicar y reforzar conocimientos y habilidades técnicas obtenidas durante la carrera sobre inmunología, biología molecular e ingeniería genética

Abril Arias: Además de la reflexión ética respecto a la sensibilización de las realidades, durante este PAP aprendí principalmente a colaborar y trabajar en equipo, así como también, a buscar información adecuada en la literatura científica. Por otro lado, mi visión y

conocimiento de lo que involucra realizar un proyecto de investigación se amplió demasiado y ahora comprendo que la metodología para llevarlo a cabo debe ser cauteloso y preciso, que debe ser estandarizado desde la forma en que vas a recopilar las muestras o información, hasta el análisis de datos.

1. Referencias

- Information on Sample Collection, Preservation and Transport. (2023). *World Health Organization*.
- Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz, J., González-López, J. J., & Mira, N. O. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127-134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>
- *La salud de los mexicanos en cifras: resultados de la Ensanut 2022*. (s.f.). <https://www.insp.mx/informacion-relevante/la-salud-de-los-mexicanos-en-cifras-resultados-de-la-ensanut-2022>
- Maya-Lucas, O., Murugesan, S., Nirmalkar, K., Alcaraz, L. D., Hoyo-Vadillo, C., Pizano-Zárate, M. L., & García-Mena, J. (2019). The gut microbiome of Mexican children affected by obesity. *Anaerobe*, 55, 11-23.
- ONI. Organismo de nutrición Infantil A.C. Revisado el 09 de febrero del 2024. <https://www.oni.org.mx/>

- De Helsinki, D. (2013). Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. *Asociación Médica Mundial*, 59.
- De Helsinki, D. (2017) Antecedentes y Posición de la Comisión Nacional de Bioética. *Secretaría de Salud*.