



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

CÁTEDRA DE PASANTÍAS



**ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN DE LA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL
AERÓBICA COMO CAUSANTE DE DISBIOSIS DESPUÉS DE UN TRATAMIENTO
BIOLÓGICO Y NUTRICIONAL EN NIÑOS CON TRASTORNO DEL ESPECTRO
AUTISTA**

Autor: Andrea Olivares

Caracas, octubre de 2017



UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

CÁTEDRA DE PASANTÍAS



**ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN DE LA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL
AERÓBICA COMO CAUSANTE DE DISBIOSIS DESPUÉS DE UN TRATAMIENTO
BIOLÓGICO Y NUTRICIONAL EN NIÑOS CON TRASTORNO DEL ESPECTRO
AUTISTA**

Trabajo Especial de Investigación que se presenta para optar al Título de
Licenciado en Bioanálisis

Tutor: Msc. Xiomara Moreno

Cotutor: Dra. Clara Martínez

Caracas, octubre de 2017



Caracas, 23 de abril de 2.015

Ciudadana:
Dra. BEATRIZ DE LA TORRE
Presente.-

Después de saludarla:

Hago de su conocimiento que ha sido revisado el TRABAJO DE INVESTIGACION titulado:
"DIAGNÓSTICO Y CARACTERIZACIÓN DE NIÑOS CON TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA EN
VENEZUELA", propuesto por usted.

En atención a lo antes indicado, le notifico que el mismo ha sido APROBADO; es de resaltar
que cualquier variación y/o modificación en el mismo, debe ser informada por escrito a este
Comité de Bioética, para su respectiva aprobación.

Deseándole el mayor de los éxitos.

Por el Comité de Bioética de la Maternidad "Concepción Palacios"

Atentamente;

Dr. Enrique Loache
Director Médico
Coordinador General Docente

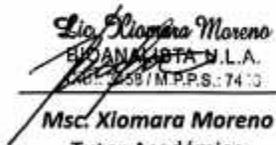


UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
CÁTEDRA DE PASANTÍAS HOSPITALARIA

Caracas, 27 de octubre de 2017

CARTA DE CULMINACIÓN DEL TUTOR ACADÉMICO

Yo, Xiomara Moreno, Especialista y Magister Scientiarum en Micología Médica, Licenciada en Bioanálisis, portadora de la Cédula de Identidad N° V- 9.398.130-. En carácter de tutora del trabajo especial de investigación: **ESTUDIO DE LA ALTERACIÓN DE LA MICROBIOTA GASTROINTESTINAL AÉROBICA COMO CAUSANTE DE DISBIOSIS DESPUÉS DE UN TRATAMIENTO BIOLÓGICO Y NUTRICIONAL EN NIÑOS CON TRASTORNO DEL ESPECTRO AUTISTA**, presentado por la bachiller Andrea Dayana Olivares Castillo C.I. N° V-20.675.441-. Hago constar que el mismo ha sido revisado y considero que reúne los requerimientos y méritos suficientes para ser entregado al jurado evaluador.


Lia Xiomara Moreno
BIOANÁLISIS U.L.A.
C.I. 9.398.130 / M.P.S.: 7410
Msc. Xiomara Moreno
Tutor Académico
Firma y sello

DEDICATORIA

Principalmente agradezco a Dios por permitirme terminar este trabajo y poder concluir con este paso tan importante en mi vida. Dedicó este trabajo de investigación a mis padres y familiares, que siempre han estado apoyándome a lo largo de la carrera, dándome fortaleza, sabiduría y apoyo incondicional en aquellos momentos de debilidad, duda y temor, por orientarme en esos momentos difíciles, aconsejándome de realizar lo correcto para poder continuar con mi meta más importante. A todos aquellos que aportaron su pequeña parte para lograr este cometido.

También les dedicó este trabajo a todos mis amigos y compañeros, por compartir grandes momentos junto a mí, estando a mi lado en buenas y malas experiencias, así como a los profesores que nos brindaron grandes conocimientos y aportaron esas grandes enseñanzas para ser cada día mejor y así poder convertirme en bioanalista.

Andrea D. Olivares C.

AGRADECIMIENTOS

Para la realización de este trabajo de investigación, debo agradecer a todas las personas e instituciones que han aportado los medios y los recursos necesarios para culminar esta fase de la investigación. Primero al Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas de la Escuela de Bioanálisis UCV, Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta, Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios y el Colegio “Patria de Bolívar”

Agradecer principalmente a mi tutora Msc. Xiomara Moreno por siempre brindarme su apoyo, su paciencia y ser una guía en todo momento, también a la profesora Dra. María Fátima Garcés por su colaboración en todo momento su tiempo y dedicación, además de expresar mi inmensa gratitud a los jurados evaluadores: Msc. Giuseppe Ferrara, Dra. Ana Cecilia Márquez y el Lcdo. Roger Sánchez, los cuales siempre han estado dispuestos a colaborar en la investigación.

Finalmente quiero agradecer en especial, al personal del departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta, como lo son: La Lcda. Carolina Macero, Lcda. Derys Silva, y la asistente de laboratorio Natasha Marcano, los cuales ayudaron en la fase experimental de este proyecto de investigación.

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
Contraportada.....	ii
Aval de Bioética.....	iii
Carta de culminación	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos	vi
Lista de Tablas.....	x
Lista de gráficos	xii
Resumen.....	xiii
Introducción.....	xv
CAPÍTULO I EL PROBLEMA	
Planteamiento del problema.....	1-3
Objetivos	
Objetivo General.....	4
Objetivos Específicos.....	4-5
Justificación.....	6
Delimitación del problema.....	7
Limitaciones del problema.....	8
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	
Antecedentes.....	9-10
Microbiota Intestinal.....	11
Composición de la Microbiota intestinal.....	11-13
Funciones de la microbiota intestinal	14- 15

Factores que afectan la microbiota intestinal.....	15
Intestino Permeable.....	15-16
Disbiosis.....	17
Causas de la disbiosis.....	17-18
Autismo.....	18-19
Trastorno del espectro autista y alteraciones gastrointestinales.....	19-20
Clínica y Fisiopatología.....	20
Relación intestino-cerebro.....	20-21
Tratamiento sugerido dentro del espectro.....	21-23
Métodos de estudio de la microbiota intestinal.....	23-24
Tablas de variables.....	25-26
Hipótesis.....	27
CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO	
Tipo de investigación.....	28
Población.....	28
Criterios de selección de grupo control.....	28
Resumen Metodológico.....	29
Recolección de datos.....	29
Obtención transporte y conservación de las muestra	29
Procesamiento de las muestras en el laboratorio de microbiología.....	29-30
Interpretación de los resultados.....	30-31
Métodos estadísticos.....	31
Recurso Humano.....	32

CAPÍTULO IV RESULTADOS

Presentación de Resultados.....	33-34
Discusión.....	53-59
CONCLUSIONES.....	60
RECOMENDACIONES.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62-68
ANEXOS.....	69-70

Lista de Tablas.

1.- Tabla 1. Composición de la Microbiota Intestinal.....	13
2.- Tabla 2. Sistema de Variables.....	25
3.- Tabla 3. Distribución por género.....	35
4.- Tabla 4. Porcentaje de aparición de los grados de Disbiosis en niños con TEA antes del tratamiento.....	36
5.- Tabla 5. Porcentaje de aparición de los grados de disbiosis en niños con TEA después del tratamiento.....	37
6.- Tabla 6. Porcentaje de aparición de disbiosis en el grupo control.....	38
7.- Tabla 7. Microorganismos benéficos y transitorios que componen la microbiota intestinal aeróbica antes y después de un tratamiento biológico y nutricional en niños con Trastorno del Espectro Autista.	39-41
8.- Tabla 8. Presencia de manifestaciones gastrointestinales en pacientes con TEA y grupo control.....	42
9.- Tabla 9. Correlación de las conductas del neurodesarrollo y la disbiosis antes y después del tratamiento biológico y nutricional.....	43-44
10.- Tabla 10. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con las manifestaciones conductuales de neurodesarrollo en niños con TEA.....	45
11.- Tabla 11. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con el aleteo en los niños con TEA.....	46
12.- Tabla 12. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con la capacidad verbal en los niños con TEA.....	47

13.- Tabla 13. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con el insomnio en los niños con TEA.....	48
14.- Tabla 14. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con los berrinches en los niños con TEA.....	49
15.- Tabla 15. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con la autoagresión en los niños con TEA.....	50
16.- Tabla 16. Correlación de Grados de Disbiosis con manifestaciones gastrointestinales de pacientes con mejoras.....	51
17.- Tabla 17. Correlación de Grados de Disbiosis con las alteraciones del neurodesarrollo de pacientes con mejoras.....	51
18.- Tabla 18. Correlación de Grados de Disbiosis con el Tratamiento Biológico y Nutricional de pacientes con mejoras.....	52

Lista de Gráficos

1.- Gráfico 1. Distribución por género.....	35
2.- Gráfica 2. Porcentaje de aparición de los grados de disbiosis en niños con TEA antes del tratamiento.....	36
3.- Gráfico 3. Porcentaje de aparición de los grados de disbiosis en niños con TEA después del tratamiento.....	37
4.- Gráfico 4. Porcentaje de aparición de disbiosis en el grupo control.....	38

RESUMEN

La Microbiota Intestinal (MI) es un conjunto de comunidades microbianas que colonizan el Tracto Gastrointestinal, un desequilibrio es conocido como disbiosis. Existe una relación entre la disbiosis, síntomas gastrointestinales y conductas del neurodesarrollo en niños con trastorno del espectro autista (TEA). Se pretende evaluar una intervención biológica y nutricional que normalice la disbiosis causada por alteraciones en la MI en niños con TEA para disminuir las manifestaciones gastrointestinales y conductas del neurodesarrollo. Se evaluaron muestras de heces mediante técnicas microbiológicas establecidas, provenientes de 67 niños: 35 niños controles y 32 niños con TEA. La investigación se realizó en dos fases: fase I previa al tratamiento, se encontraron 25 pacientes (78,1%) con disbiosis; fase II posterior al tratamiento se encontraron 29 pacientes (90,6%) con disbiosis. En la fase I el germen predominante fue *Klebsiella pneumoniae*, y en la fase II fueron: *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia fergusonii*, *Enterococcus faecium* y *Streptococcus* spp. Las manifestaciones gastrointestinales como dolor abdominal y diarrea en ambas fases tuvieron una $p < 0,001$. Relacionando las conductas del neurodesarrollo con disbiosis en la fase II los berrinches tuvieron una significancia de $p < 0,05$. La relación de algunas conductas del neurodesarrollo y el tratamiento nutricional y biológico tuvieron una significancia estadística de $p < 0,05$. De 32 pacientes, 9 (28,1%) mejoraron, 13 (40,7%) empeoraron, 1 (3,1%) se mantuvo negativo y 9 (28,1%) mantuvieron la disbiosis. La aplicación de un tratamiento biológico y nutricional, demostró mejoría en los síntomas gastrointestinales y conductas del neurodesarrollo permitiendo una repoblación de la MI, corrigiendo la disbiosis en niños con TEA que lo practicaron. Se recomienda continuar el estudio con mayor rigurosidad y monitoreo en el cumplimiento del tratamiento, para obtener mejores resultados y poder entender las alteraciones de la microbiota intestinal como causantes de estas manifestaciones.

Palabras Claves: Microbiota gastrointestinal, Trastorno del Espectro Autista, Disbiosis, Tratamiento biológico, Tratamiento nutricional, Alteraciones del neurodesarrollo, Síntomas gastrointestinales

INTRODUCCIÓN

El trastorno del espectro autista (TEA) ha sido uno de los trastornos donde más se ha estudiado el comportamiento y la conducta que presentan dicho trastorno en relación a las alteraciones de la microbiota intestinal (MI). Por lo tanto, se han postulados diversos tratamientos que tienen como objetivo minimizar dichos comportamientos para ayudar a mejorar la calidad de vida en el entorno social (1-3).

Estos pacientes tienden a manifestar ciertas características como irritabilidad, trastornos del sueño, retraso del lenguaje, poca o ausencia interacción social, entre otros. Adicionalmente presentan cuadros gastrointestinales relacionados con la alteración de la MI, que tiene múltiples causas, una de ellas involucra un predominio de la microbiota transitoria y patógena sobre la microbiota benéfica, provocando así la disbiosis. Además, los pacientes con TEA presentan una condición clínica denominada intestino permeable la cual consiste en una alteración de la membrana intestinal afectando su función como barrera protectora (4).

Las toxinas producidas por la microbiota transitoria y patógena, al pasar al torrente sanguíneo llegan fácilmente al sistema nervioso; se afianza la relación intestino-cerebro produciéndose cambios negativos en las conductas del neurodesarrollo (1), aunado a alteraciones enzimáticas que impiden el desdoblamiento eficiente de las proteínas del trigo y la leche, ocasionando alergias e intolerancias que se manifiestan con conductas similares a las drogas opiáceas provocando las alteraciones y comportamientos ya descritos (3-4).

No se tiene un tratamiento médico específico para mejorar dicho comportamiento en estos pacientes, sin embargo, en varios estudios se ha demostrado que la implementación de una dieta de eliminación de gluten, caseína, preservantes y colorantes pudieran aminorar estas manifestaciones que repercuten en el comportamiento. Otras investigaciones han establecido

tendencias como los tratamientos biológicos, que consisten en la ingesta de diversas vitaminas, suplementos, probióticos entre otros que favorecen al tratamiento en conjunto (5-7).

Con lo antes mencionado, esta investigación se enfocará en implementar un tratamiento biológico y nutricional que permita recuperar el desequilibrio de la MI presente en un grupo de niños con TEA con un diagnóstico previo de disbiosis y corroborar los cambios conductuales del neurodesarrollo en los mismos

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.- Planteamiento del problema

La microbiota intestinal (MI) está relacionada con múltiples funciones, entre las más importantes están las metabólicas, tróficas y de protección, las cuales están involucradas en el trabajo simbiótico entre la microbiota y el individuo, el epitelio intestinal actúa como una barrera biológica contra bacterias patógenas, antígenos y sustancias tóxicas; pero que al incrementarse los productos metabólicos de estos microorganismos pueden afectar los procesos neuronales (1).

Existe una diversidad respecto a la composición de la MI, en donde las bacterias benéficas están en mayor cantidad que las bacterias patógenas, garantizando el buen funcionamiento intestinal; un desequilibrio en la MI es denominado disbiosis. La disbiosis es el resultado de perturbaciones o alteraciones cualitativas y cuantitativas de la MI por cambios en la dieta o el medio ambiente, terapias prolongadas con antibióticos, estrés psicosocial, exposición a organismos patógenos o alteraciones de la inmunidad (2).

Un desequilibrio de la MI causada por la disbiosis pudiera estar relacionada con ciertos trastornos neurológicos como la depresión, la ansiedad y el autismo (3). El autismo es una condición neurológica donde hay una afectación de la comunicación, el lenguaje y la interacción social, que involucran conductas repetitivas, restringidas y estereotipadas (4). De acuerdo al Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders versión DSM-V, esta condición pasó a denominarse Trastorno del Espectro Autista (TEA), lo que permite agrupar un grupo de síndromes facilitando un diagnóstico más integral (5).

En niños con TEA se ha encontrado que la inflamación del tracto gastrointestinal (TGI) se presenta con mayor severidad que en niños neurotípicos (6). La inflamación del TGI viene dada por múltiples causas como lo son el uso de antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos, ausencia o insuficiencia de enzimas, toxinas microbianas, alimentos, malabsorción de proteínas, entre otros (4).

Esta alteración en el TGI hace conexión con el cerebro reconociéndose como una base fisiopatológica entre enfermedades gastrointestinales y enfermedades neurológicas, donde síntomas como estreñimiento, diarrea, dolor abdominal entre otros, son referidos por pacientes con desórdenes degenerativos como el Parkinson, y cuyos síntomas son similares a los referidos por los padres con niños dentro del TEA (6).

La mayoría de niños con TEA presentan deficiencias enzimáticas que les impiden desdoblar correctamente las proteínas de la leche (caseína) y el trigo (gluten), estos péptidos mal digeridos pasan al torrente sanguíneo e incluso hasta el cerebro. Este tipo de proteínas presentan una estructura química semejante a los receptores opioides llegando a provocar los mismos efectos de las drogas. Entre los comportamientos que se presentan por la ingesta de estos péptidos encontramos: aislamiento, autoagresión, auto-estimulaciones, hipersensibilidad al dolor, cambios de humor, alergias e intolerancias alimentarias, entre otros. Una limitación gradual de alimentos que contengan estas proteínas contribuiría a mejorar este tipo de conductas (7,8)

No existe ningún tratamiento farmacológico específico para tratar el TEA. No obstante, son formulados fármacos psicotrópicos para minimizar determinados síntomas y trastornos comórbidos de cada individuo dentro del TEA. Existe un perfil de respuesta propio por lo que un fármaco puede ser útil en algunos individuos y en otros no. Ciertos investigadores en el área proponen tendencias como tratamientos biológicos que involucran suplementos vitamínicos,

prebióticos, probióticos y desintoxicación que ayudan a corregir errores metabólicos en esta población de individuos, generando respuestas más satisfactorias y sin efectos secundarios (9-11).

La disbiosis como causante de la alteración de la MI viene dada por múltiples factores, pero el tipo de alimentación y la higiene moderna, así como el uso generalizado de antibióticos figuran entre los más importantes. Por lo tanto, en el presente trabajo especial de investigación proponemos evaluar la MI aeróbica después de aplicar un tratamiento biológico y nutricional para observar los cambios en las conductas del neurodesarrollo en pacientes con TEA.

2. Objetivo General

Evaluar como una intervención biológica y nutricional actúa como coadyuvante para la normalización de la disbiosis intestinal causada por la alteración de la microbiota intestinal aeróbica en niños dentro del espectro autista con el fin de disminuir ciertas manifestaciones gastrointestinales y conductuales del neurodesarrollo.

3. Objetivos Específicos

1. Evaluar los microorganismos que componen la microbiota intestinal aeróbica como causante de disbiosis intestinal en muestras de heces de niños con trastorno del espectro autista, diagnosticados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios.
2. Evaluar la aplicación de un tratamiento biológico: vitamina B6, ácido fólico, magnesio, zinc, omega3 y probióticos en el comportamiento de las manifestaciones conductuales del neurodesarrollo en niños con trastorno del espectro autista, diagnosticados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios.
3. Evaluar la aplicación de una dieta sin gluten y caseína en el comportamiento de las manifestaciones conductuales del neurodesarrollo en niños con trastorno del espectro autista, diagnosticados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios.
4. Evaluar las manifestaciones clínicas gastrointestinales (signos y síntomas) antes y después del tratamiento biológico y nutricional en niños con trastornos del espectro autista, diagnosticados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios.

5. Correlacionar la aplicación del tratamiento biológico y nutricional con el grado de disbiosis presente en niños con trastornos del espectro autista, diagnosticados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios.

6. Correlacionar el comportamiento de las manifestaciones conductuales del neurodesarrollo con el grado de disbiosis intestinal en niños con trastornos del espectro autista, diagnosticados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios después de un tratamiento biomédico y nutricional.

4. Justificación

Los niños con TEA se caracterizan por presentar alteraciones en la interacción social, el desarrollo del lenguaje y un patrón restringido de los intereses y las actividades. (4). El TEA es un síndrome profundamente heterogéneo, puesto que las diferencias interindividuales pueden ser muy amplias (5). El TEA ocurre en todos los grupos raciales, étnicos y socioeconómicos. Algunos problemas de conducta relacionados con el neurodesarrollo en niños con TEA se han vinculado con el desequilibrio de la MI, causando confusión, hiperactividad, falta de concentración, letargo, irritabilidad y agresión, así como dolor abdominal, estreñimiento, gases, entre otros. Sin embargo y a manera de tratar este desequilibrio, la exposición repetida a los antibióticos, puede destruir la MI, dando lugar a un crecimiento excesivo de especies de *Cándida*, *Clostridium difficile* y la aparición por selección de bacterias resistentes (4). La idea de que el TEA es una condición de origen gastrointestinal, ha ocasionado la emergencia de terapias nutricionales como alternativas al tratamiento, las cuales tienen bases científicas limitadas. Se ha brindado particular interés a la dieta libre de gluten y caseína, con base en la suposición de que estos componentes alimenticios forman sustancias que penetran al flujo sanguíneo y funcionan como falsos neurotransmisores (17). Por lo tanto, una aplicación biológica y nutricional dirigida por expertos buscará el bienestar y una mejor calidad de vida en niños con TEA, aportando nuevas opciones terapéuticas para un mejor entendimiento de esta compleja patología (4).

5. Delimitación del problema

Este proyecto se basa en implementar un tratamiento a una población de niños y adolescentes con TEA entre 4-14 años de edad diagnosticados en la unidad de autismo por el servicio de neuropediatría, ubicado en el anexo “Negra Matea”, de la Maternidad Concepción Palacios, a los cuales se le realizó un estudio previo, cuyos resultados indicaron presencia de disbiosis. Se estableció un tratamiento biológico el cual incluye la ingesta de probióticos, zinc, magnesio, vitamina B6, omega 3, y un tratamiento nutricional libre de gluten. Dicha población se comparará con un grupo de niños controles con las mismas características etarias, provenientes de la Unidad Educativa Colegio Patria de Bolívar, ubicada en la Urbanización Santa Mónica, Caracas Venezuela, los cuales serán evaluados de la misma manera que el grupo en estudio.

6. Limitaciones del problema

De acuerdo al proyecto diseñado para la presente investigación se cuenta con la disponibilidad en la obtención de las muestras y datos relacionados, además con el laboratorio especializado y personal capacitado para su ejecución.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

1. Antecedentes de la investigación

Distintas investigaciones establecen una relación entre los pacientes que presentan TEA, las manifestaciones gastrointestinales y alteraciones en el neurodesarrollo, por lo tanto, se han establecido distintos tratamientos biomédicos, terapias alternativas y tratamientos nutricionales con la intención de evaluar la influencia de la dieta en la mejoría de los síntomas gastrointestinales y conductas en niños con TEA (12). El trastorno autista según el Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders de la American Psychiatric Association DMS-IV y la Clasificación Internacional de Enfermedades, agrupan otras entidades clínicas como el síndrome de Rett, trastorno desintegrativo infantil, trastorno de Asperger y Trastorno Generalizado del Desarrollo no especificado, dentro del epígrafe de los Trastornos Generalizados del Desarrollo (13).

La microbiota intestinal es el ecosistema microbiano del intestino, el cual incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastrointestinal y una serie variable de microorganismos vivos que se encuentran transitoriamente en el tubo digestivo. La MI se adquiere en el momento del nacimiento y está compuesta por una gran diversidad de bacterias que cumplen múltiples funciones (14). El TGI constituye la principal superficie de intercambio y comunicación entre el medio externo y el medio interno. En el individuo adulto la mucosa gastrointestinal alcanza una superficie de 300 a 400 metros cuadrados (considerando la superficie total, con las vellosidades desplegadas), y está dotada de estructuras y funciones (sensores, receptores, glándulas, secreciones, actividad mecánica, etc.) específicamente adaptadas al reconocimiento analítico y bioquímico de las sustancias que transitan por el tubo digestivo. Como

resultado de la actividad del TGI, el individuo obtiene dos importantes beneficios: nutrición, por la digestión y absorción de nutrientes; y también defensa, por reconocimiento de elementos foráneos y desarrollo de sistemas de prevención y rechazo de posibles agresiones desde el mundo exterior (15).

En un estudio realizado en niños con TEA, reportaron alteraciones gastrointestinales en un 20%, mientras que otro estudio presentó un porcentaje más alto de manifestaciones gastrointestinales que oscilan de un 46-84%. Extrapolando estos estudios indicadores de un desequilibrio a nivel de MI, se encuentra que especies de *Clostridium* spp., se encontraban en mayor proporción en niños con TEA respecto al grupo control. Niveles bajos de *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* y niveles mayores de *Lactobacillus* spp., y *Klebsiella pneumoniae* sugieren un desequilibrio en las bacterias beneficiosas especialmente en pacientes con TEA (4).

Con lo antes mencionado, esta investigación se orientará en implementar un tratamiento biológico y nutricional que permita revertir el desequilibrio de la MI ya presentada en un grupo de niños con TEA bajo los diferentes grados de disbiosis establecidos y poder corroborar los cambios gastrointestinales y conductuales del neurodesarrollo en los mismos.

2. Bases teóricas

Microbiota intestinal:

El tubo digestivo, alberga un ecosistema bacteriano complejo cercano a los 100 trillones (10^{14}) de microorganismos que forman la MI, la cual ha evolucionado junto con el ser humano, adaptándose y conviviendo con él en una estrecha relación simbiótica, la microbiota ejerce funciones nutricionales, metabólicas y protectoras que la vuelven indispensable para el huésped mientras que este le entrega nutrientes y condiciones adecuadas para su crecimiento.

La MI inicia su desarrollo después del nacimiento, e influye dependiendo del tipo de microorganismos y de la velocidad de proliferación, en el desarrollo del sistema inmune y en la predisposición a padecer ciertas enfermedades. Inicialmente, existe un predominio de microorganismos aerobios o anaerobios facultativos (*Enterobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Lactobacillus* spp., etc.), los cuales favorecen el establecimiento posterior de una microbiota integrada en mayor medida por bacterias anaerobias estrictas (*Bifidobacterium* spp., *Bacteroides* spp., *Eubacterium* spp., *Clostridium* spp., etc.). La MI anaeróbica benéfica, está representada principalmente por los géneros *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp.; mientras que la MI aeróbica benéfica está constituida por *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*, los cuales favorecen las condiciones del hospedador por sus funciones metabólicas, protectoras y tróficas, interviniendo en la modulación del sistema inmune y en el desarrollo y la proliferación celular (4,17-18).

Composición de la microbiota intestinal:

El estudio de la composición de la MI se realiza con muestra de heces, se puede evaluar la microbiota que se encuentra en el colon y recto. En diversos estudios se han reportado recuentos

totales de 10^{10} a 10^{12} UFC/ g de heces. Sin embargo, la verdadera extensión de la microbiota del colon no es conocida debido a la dificultad de que muchos microorganismos no pueden ser cultivados. Se estima que existen entre 400 y 500 géneros y especies bacterianas en el colon, donde hay predominio de los anaerobios sobre los aerobios y se ha establecido que en los adultos los *Bacteroides* son las especies más comunes (10^{11}), seguidos por microorganismos grampositivos no esporulados (10^9 a 10^{10}) como *Eubacterium* spp., *Lactobacillus* spp., cocos anaerobios (*Peptostreptococcus* spp., *Ruminococcus* spp., *Coprococcus* spp., *Veillonella* spp., *Acidaminococcus* spp. y *Streptococcus* spp.) y el género *Clostridium* spp. (10^7 - 10^8 UFC/g). En el intestino grueso son comunes los microorganismos anaerobios facultativos (*Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp). *Escherichia coli* es el microorganismo frecuentemente aislado (10^8 /g de heces); otros microorganismos gramnegativos como *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, entre otros, se aíslan en una concentración menor a 10^5 /g de heces (17). Los microorganismos que forman parte de la flora intestinal, y en base a UFC/en 1 gramo de heces se enumeran en la tabla 1.

Tabla 1. Composición de la microbiota del tracto gastrointestinal en base a 1 gramo de heces/UFC.

	Microorganismo	Normal (UFC/g)	Disminuido o (UFC/g)	Aumentado. (UFC/g)
Bacterias Aerobias Facultativas	<i>Escherichia coli.</i>	10^6-10^7	$<10^6$	$>10^7$
	<i>Enterococcus</i> spp.	10^6-10^7	$<10^6$	$>10^7$
	<i>Enterobacteria</i>	10^5		$>10^5$
	<i>Proteus</i> spp.			
	<i>Klebsiella</i> spp.			
	<i>Citrobacter</i> spp.			
	<i>Enterobacter</i> spp.			
	<i>Bacillus</i> spp.	10^4		$>10^4$
	<i>Pseudomonas</i> spp.			
<i>Staphylococcus</i> spp.				
Microaerofilia	<i>Lactobacillus</i> spp.	10^6-10^7	$<10^6$	$>10^7$
Bacterias Anaerobias	<i>Prevotella</i> spp.	10^8-10^{10}	$<10^8$	$>10^{10}$
	<i>Bifidobacterium</i> spp.			
	<i>Bacteroides</i> spp.			
	<i>Clostridium</i> spp.	10^5		$>10^5$
Hongos	<i>Candida</i> spp.			
	<i>Saccharomyces</i> spp.			
	<i>Aspergillus</i> spp.	10^2		$>10^2$
	<i>Mucor</i> spp.			
	<i>Geotrichum</i> spp.			

Fuente: Soyucen E, Gulcan A, Aktuglu-Zeybek AC, Onal H, Kiykim E., Aydin A. Differences in the gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes. *Pediatrics International* 2014; 56(18): 336–343.

Funciones de la microbiota intestinal:

La interacción simbiótica humano-microbiota intestinal se cataloga en la actualidad como un supra o super organismo, el cual cumple con funciones biológicas que están revolucionando el enfoque de muchas enfermedades crónicas, entre ellas tenemos:

a. –Desarrollo del sistema inmunitario adaptativo: desde el nacimiento colabora en el desarrollo del sistema inmunitario, las interacciones entre microorganismos, epitelio, y tejidos linfoides intestinales son múltiples, de modo que remodelan constantemente los mecanismos locales y sistémicos de la inmunidad.

b. – Función defensiva de barrera: en la MI, existe un equilibrio entre las poblaciones bacterianas dominantes y aquellas subdominantes, cuando este equilibrio es adecuado actúa como una barrera que impide la multiplicación de patógenos y el desarrollo de patologías gastrointestinales. Contribuyendo al efecto barrera y al desplazamiento de microorganismos patógenos.

c. – Metabolismo de nutrientes: interviene en la transformación de fibra dietética o mucopolisacáridos en azúcares simples, ácidos grasos de cadena corta y otros nutrientes que pueden ser absorbidos interviniendo en la asimilación de nutrientes de la dieta y glicanos endógenos.

d. –Síntesis de proteínas: interviene en la producción de vitaminas K, B12, B6, tiamina, ácido fólico, ácido nicotínico, además participa en el metabolismo y recirculación de ácidos biliares.

e. – Aumento de la biodisponibilidad de algunos minerales: calcio, hierro, cobre, zinc.

f. – Modula el crecimiento y diferenciación de células epiteliales: (factor protector contra el cáncer) interviene en la transformación de carcinógenos potenciales como los compuestos nitrosos y aminas heterocíclicas y la activación de compuestos bioactivos como los fitoestrógenos.

g. –Regulación del metabolismo energético del organismo: participa en el almacenamiento de la grasa en los adipocitos; la MI de los individuos obesos está alterada, lo que podría explicar su mayor eficiencia en la extracción de energía a partir de los alimentos. El contenido en grasa de la dieta es un factor que puede alterar la composición de la microbiota a través del aumento de las concentraciones plasmáticas de lipopolisacáridos y el consiguiente desarrollo de un estado proinflamatorio que facilita la aparición de resistencia insulínica.

Los carbohidratos y proteínas no digeridos constituyen los principales sustratos a disposición de la microbiota. La fermentación de estos sustratos da como resultado la producción de una gama de metabolitos que incluyen ácidos grasos de cadena corta, ácidos grasos de cadena ramificada, amoníaco, aminas, compuestos fenólicos y gases, incluyendo hidrógeno, metano y sulfuro de hidrógeno. Por consiguiente, la MI está implicada en la producción de vitaminas, la activación o inactivación de componentes alimentarios bioactivos tales como isoflavonoides y lignanos vegetales, la conversión de profármacos en sus formas bioactivas y la transformación de ácidos biliares y xenobióticos (19).

Factores que afectan la microbiota intestinal:

Existen diferentes factores los cuales pueden dividirse en extrínsecos que involucran bacterias del medio ambiente, alimentos, estrés, el consumo de agua, elementos de consumo regular como antiinflamatorios, laxantes, entre otros. El uso de antibióticos afecta de forma considerable la MI reduciendo las poblaciones dominantes, favoreciendo el desarrollo de la

microbiota transitoria o patógenas verdadera que alteren el funcionamiento intestinal normal. Entre los factores intrínsecos están la carga genética y fisiología del huésped.

Intestino permeable:

El intestino tiene una función permeable además de que tiene la capacidad de rechazar aquellas sustancias nocivas para el ser humano, en ciertas condiciones esta puede ser lesionada o destruida por múltiples causas que no necesariamente puedan estar relacionadas con enfermedades intestinales como alergia por alimentos, enfermedades metabólicas y por defectos del colágeno, además del síndrome del intestino irritable e inflamación intestinal (19)

Dichas patologías provocan la pérdida de la actividad protectora y su capacidad de absorber nutrientes, producir enzimas digestivas y de crear el ambiente perfecto para que los microorganismos que habitan en nuestro interior convivan en armonía.(20-25) El principal problema del intestino permeable es el paso de péptidos, tóxicos, bacterias, parásitos y otras sustancias alergénicas al torrente sanguíneo que afectan a varios sistemas del organismo como el sistema nervioso central (SNC), el sistema inmunológico, hormonal, respiratorio y reproductivo, trayendo alteraciones a nivel intestinal como estreñimiento, flatulencias, irritabilidad, insomnio, náuseas, fatiga, entre otros. Con un intestino permeable, estamos expuestos a cualquier invasión/infección (25).

Al mismo tiempo un intestino inflamado es más susceptible a la invasión de parásitos, bacterias, o levaduras, estos microorganismos suelen inflamar el intestino, causando un exceso de permeabilidad. Cuando la inflamación es persistente, se hace crónica, entonces el sistema inmunológico interviene mediante la regulación de citocinas inflamatorias (células que se generan en el lugar de la infección/lesión para su reparación), éstas son las responsables de los mecanismos neuro-endocrino-inmunológico y tienen lugar en el TGI, una vez resuelto el problema, la liberación de citocinas cesa, y comienza la secreción por parte de otras células que

se encargaran de poner fin a la respuesta inmunológica, pero cuando este proceso de desactivación no se lleva a cabo correctamente, pueden aparecer enfermedades que derivan de la agresión del sistema inmunológico, éste ataca las células sanas por error, generando enfermedades autoinmunes como la de Hashimoto (enfermedad de la tiroides), artritis, esclerosis múltiple, entre otras (19,25)

Disbiosis:

Es una alteración de la MI, causando un desequilibrio en la misma, comparado con el patrón considerado normal; la cual está influenciada por la nutrición en múltiples formas. Primero, estos organismos compiten con el hospedero humano por las vitaminas, minerales, aminoácidos, carbohidratos y grasas esenciales. Segundo, estos organismos pueden producir sustancias químicas que desactivan factores nutricionales clave o bloquean sus efectos. Un buen ejemplo es la arabinosa, que bloquea enzimas clave que requieren la biotina, ácido lipólico, o derivados de la vitamina B6. La disbiosis también es una causa común de diarrea o estreñimiento. Además los antígenos microbianos, se unen a enzimas clave del tracto gastrointestinal, bloqueando la digestión de proteínas importantes como el gluten (11).

Causas de la Disbiosis:

La causa principal, es la inflamación y porosidad debido a sustancias químicas, alimentarias y forma de vida, que dañan la integridad de la mucosa intestinal. Esta inflamación puede ser debido a:

- a.** -Poca masticación, deficiencia de ácido clorhídrico o enzimas pancreáticas. Cuando los alimentos ingeridos no se digieren bien se produce fermentación/putrefacción en el intestino, dando lugar a la producción de ciertos gases que pueden dañar/inflamar la pared intestinal.
- b.** -Ciertos alimentos y sustancias como el gluten, lácteos, café, etc., irritan el intestino provocando inflamación y permeabilidad. La sensibilidad y alergias alimenticias causan

inflamación y atrofia de las células intestinales, porque producen toxinas en el intestino y, por consiguiente, irritación e inflamación.

c. -Antiinflamatorios no esteroideos: inhiben las prostaglandinas protectoras y como resultado hay un aumento de inflamación e hiper-permeabilidad; promueven el crecimiento de hongos y/o levaduras los cuales se adhieren a las células intestinales. El uso de estos medicamentos (aspirina y paracetamol), aunque alivian los síntomas de inflamación, afectan a la mucosa gastrointestinal, precipitando un ataque enzimático y de ácido en la pared intestinal.

d. -Infecciones intestinales (infecciones por virus, bacterias, parásitos y hongos).

e. -Estrés crónico: inhibe la peristalsis, reduce la IgA secretora, aumenta la supresión inmunológica, ante una hiperactividad adrenal y reduce el suministro de sangre al intestino.

f. -Dieta baja en fibra: reduce el tránsito intestinal.

g. -Neurotoxicidad: su presencia causa daño en la membrana afectando el metabolismo energético, pobre funcionamiento de las membranas celulares, ineficiente catabolismo de nutrientes, mala digestión y absorción de nutrientes, interacción competitiva entre nutrientes/toxinas, incapacidad de los riñones de llevar a cabo sus funciones de excreción, y finalmente daño a los mecanismos de reparación del DNA (2).

Trastorno del Espectro Autista:

El TEA es un trastorno del desarrollo neurológico que persiste toda la vida y que incluye un amplio margen de alteraciones conductuales. El autismo no es una enfermedad sino un síndrome clínico, presente desde los primeros meses de vida y que incluye alteraciones en conducta, comunicación verbal y no verbal e interacción social y emocional anómala. El niño autista habitualmente muestra un retardo importante en la adquisición del lenguaje, usa las palabras inadecuadamente y sin un adecuado propósito comunicativo. El autismo no representa un solo proceso patológico, sino un cortejo sintomático que puede deberse a diferentes

enfermedades (21). La etiología es bastante heterogénea, entre los más importantes están los factores genéticos y los factores ambientales, sin embargo, también existen otras causas como alteraciones neuroquímicas y alteraciones de la función inmune. El autismo es un trastorno poligénico en el que las interacciones entre varios genes pueden dar lugar al fenotipo característico de los TEA en grados de intensidad variable (22).

El DSM-5 clasifica al TEA, como una categoría diagnóstica única y lo define con las siguientes características, debiendo cumplir todas ellas:

1. Déficit persistente en la comunicación y en la interacción social en diversos contextos, no atribuible a un retraso general del desarrollo.
2. Patrones de comportamiento, intereses o actividades restringidas y repetitivas.
3. Los síntomas, que deben estar presentes en la primera infancia, limitan y discapacitan al individuo para el funcionamiento cotidiano (6).

A los niños y adolescentes con TEA se les ha asociado distintos eventos bioquímicos, así como disfunciones intestinales, existiendo una correlación entre los síntomas gastrointestinales y la gravedad del autismo, también se ha asociado a otro trastorno del neurodesarrollo mental o del comportamiento con catatonía.

El DSM-5 presenta la siguiente clasificación:

Nivel 1: necesita ayuda

Nivel 2: necesita ayuda notable

Nivel 3: necesita ayuda muy notable (6)

Trastorno de espectro autista y alteraciones gastrointestinales:

Se ha determinado que los niños con TEA, poseen un sistema digestivo inmaduro, padeciendo de infecciones intestinales por microorganismos anaerobios y aerobios e infecciones de otras procedencias, lo cual conduce a que sean tratados con antibióticos ocasionando

desequilibrio de la MI; a su vez el sistema inmunitario de la mayoría de estos niños tiene poca sensibilidad para reaccionar contra microorganismos transitorios en el intestino obteniendo como consecuencia un crecimiento exagerado de los microorganismos problema, por lo que se debería indicar una dieta de eliminación lo cual previene el sobrecrecimiento de estos gérmenes.

El pediatra que trata pacientes con TEA cuenta con muy poca información en el interrogatorio directo e indirecto y se enfrenta a un niño poco cooperador a la exploración física. Por ello, es de gran utilidad saber cuál es la patología gastrointestinal frecuente en estos individuos y buscarla de forma intencionada (4,17).

Clínica y fisiopatología:

En investigaciones previas se evaluó la estructura y la función del tracto gastrointestinal superior en un grupo de sujetos con TEA, así como un análisis de enzimas intestinales, y cultivos de bacterias y hongos. El cuadro clínico asociado fue diarrea crónica, flatulencias, dolor y distensión abdominal. Se documentó baja actividad de la lactasa y sacarasa intestinal y se determinó un aumento de la producción de líquido pancreato-biliar (17).

Existe una prevalencia elevada para manifestar síntomas gastrointestinales en esta población (se reporta en un rango del 9-70%), lo cual es crítico para la práctica pediátrica, ameritando hospitalizaciones por alteraciones de esta índole. Los niños con TEA tienen cinco veces más riesgo de desarrollar un trastorno en la alimentación, siendo la dieta selectiva la más frecuente, con especial preferencia por comida rica en almidón, comida procesada y botanas (4,9,17).

Relación intestino-cerebro

El eje cerebro-intestino es una construcción homeostática reconocida, que en los últimos años se ha ampliado para abarcar la MI. El eje microbiota-intestino-cerebro reconoce la capacidad de la MI de comunicarse con el intestino y el cerebro y está emergiendo como un

concepto emocionante en salud, ofreciendo nuevas oportunidades de intervención potencial en estados de enfermedad gastrointestinal y síndromes funcionales (20).

Se describe una hipótesis de un mecanismo análogo de encefalopatía tóxica por falla hepática en el TEA, donde refiere una alteración en la bioquímica de algunos opioides en ambas entidades, y la evidencia sugiere que péptidos de algunos opioides son los mediadores centrales de los respectivos síndromes. En la relación intestino-cerebro los componentes neuroactivos son derivados del lumen intestinal que pasan por la mucosa de éste a través de la unión estrecha intestinal, cruzan la barrera hematoencefálica y causan alteraciones cognitivas, psiquiátricas y de comportamiento (17).

Tratamientos sugeridos dentro de espectro autista:

Tratamiento Biológico:

En los pacientes con TEA se ha establecido un tratamiento biológico como vitaminas y suplementos que se encuentran deficientes los cuales sugieren efectos beneficiosos con respecto al comportamiento. Entre ellos citaremos algunos:

La vitamina B6 es una vitamina hidrosoluble. Los humanos dependen de fuentes externas para cubrir sus necesidades de vitamina B6 y la forma piridoxal-5-fosfato (PLP) es de gran importancia. La necesidad de vitamina B6 aumenta cuando se sigue una dieta rica en proteína, puesto que el metabolismo de la proteína sólo puede funcionar adecuadamente con la ayuda de piridoxina. Los suplementos como la vitamina B6, pueden administrarse en megadosis, es decir, en dosis muy superiores (27). Para los niños con TEA presenta varios beneficios de los cuales se destaca mejoría en el sueño, favorece la concentración evitando las distracciones, también tiene beneficios con respecto al lenguaje y su manera para expresarse, la administración de vitamina B6 ha ocasionado que disminuyan notablemente los síntomas del autismo, en especial la conducta, agresividad y la autolesión (11).

El zinc es uno de los elementos esenciales más abundantes en el cuerpo humano y que se encuentra en su mayoría en el citosol, siendo el segundo oligoelemento en relación a la cantidad total en el organismo, superado tan sólo por el hierro. Para valorar su estatus en el organismo se usan principalmente como biomarcadores los niveles en suero, plasma y eritrocitos (28). Muchos investigadores consideran que el zinc es uno de los principales suplementos que debe recibir un paciente TEA, incluso el más indispensable, aunque como oligoelemento que funciona en el cuerpo a concentraciones bajas, participa en muchísimas reacciones químicas del organismo. Es necesario para la digestión de los péptidos y también participa en las funciones de desintoxicación, protege al hígado de daños químicos, evita la formación de radicales libres, se requiere para la síntesis de proteínas y la formación del colágeno además de preservar el sistema inmune (29).

El magnesio (Mg) es esencial para la estructura y la función del cuerpo humano. Se debe mantener una ingesta necesaria de magnesio, ya que se ha determinado que ayuda al organismo a generar energía a partir de los hidratos de carbono y las grasas, regular la transmisión de los impulsos nerviosos, la contracción muscular y el ritmo cardíaco; a la vez que favorece la regulación de los niveles de calcio, cobre, zinc, potasio y vitamina D (30). Tiene una importancia metabólica con respecto a la vitamina B6. También se ha determinado una relación con la taurina (aminoácido no esencial) cuando este aminoácido está en bajas concentraciones, causa una deficiencia de absorción de magnesio al afectarse el transporte celular de electrolitos. En general los pacientes con TEA poseen la taurina baja generando a su vez bajos niveles de magnesio. La deficiencia de magnesio interfiere en la transmisión de los impulsos nerviosos (31).

Omegas. Entre las funciones de los ácidos grasos se encuentran varios procesos biológicos y fisiológicos que son importantes para el organismo, por lo tanto, la dieta debe suplementarse con ácidos grasos esenciales como lo son omega 3 y omega 6. El déficit de ácidos

grasos da como consecuencia una serie de síntomas físicos además de unos síntomas psíquicos como: hiperactividad, irritabilidad y falta de atención. Se ha determinado que mejoran la función cerebral, regulan los ciclos de sueño y ayudan a reparar la membrana intestinal (31). Se ha determinado que hay una relación bioquímica entre los ácidos grasos y la vitamina B6, en relación al metabolismo del ácido linoleico y del ω -linolénico; además se ha visto que a menores concentraciones de ácidos araquidónico y docosapentaenoico se producen moléculas no benéficas para la salud (10).

El ácido fólico es una de las vitaminas que tienen un papel en la síntesis de bases nitrogenadas, participando principalmente en la formación de metionina, la MI está involucrada en la producción de ácido fólico por lo tanto cuando hay disbiosis se genera un descenso de dicha vitamina y recomiendan su consumo externo (32-33).

Tratamiento nutricional:

Se establece una relación entre la dieta de eliminación y la mejoría en lo que respecta a la conducta y el comportamiento; observándose una disminución en el comportamiento agresivo, el llanto inmotivado o impredecible y el movimiento constante. Se ha determinado que dicha dieta debe excluir las proteínas del gluten, la caseína, azúcares, colorantes y preservantes. Los efectos opiáceos de los componentes de algunos alimentos, conllevan a la hipótesis de alteraciones endorfinicas como causa del autismo. Algunos estudios evaluaron diversos alimentos como leche de vaca y de cabra, junto a trigo, centeno y cebada, los cuales presentaron proteínas con acciones opiáceas (10,13).

Métodos de estudio de la microbiota intestinal

Métodos tradicionales directos.

Basados en las características fenotípicas clásicas, se realiza el cultivo de la muestra fecal para el estudio de la MI, en medios selectivos y diferenciales, es en apariencia el método más simple y

directo, se toma en consideración que no son métodos factibles para el estudio de bacterias anaerobias estrictas, pero es uno de los métodos con buena reproductibilidad para microorganismos aeróbicos ajustándose a los parámetros ya establecidos (4,34).

Métodos tradicionales indirectos.

Se basa en el estudio del metabolismo bacteriano por el análisis y la cuantificación de sus metabolitos y/o ciertas actividades enzimáticas, entre los metabolitos empleados están los ácidos grasos volátiles o productos del metabolismo de los ácidos biliar, utilizando técnicas cromatográficas, o actividades enzimáticas de origen microbiano. Entre los inconvenientes que se presentan por este método es la falta de especificidad de las actividades de un microorganismo (33,35).

Métodos moleculares.

Estos métodos son más sensibles y específicos para la identificación de la composición de la MI, utilizando la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), usando cebadores específicos para tal fin (35-36). Una de las desventajas de las técnicas de cultivo es la variación en el comportamiento fenotípico. Las diferencias entre los métodos tradicionales de cultivo y los métodos moleculares se basan en la manera de caracterizar o identificar a los microorganismos. La finalidad de los métodos moleculares consiste en la identificación de microorganismos en base a similitudes genéticas principalmente se utiliza el gen que codifica 16S de ARN ribosomal. (37)

3. Tabla de variables

Indicador de Variable	Definición Operacional	Tipo de Variable	Tipo de Escala	Medición de la Escala
Trastorno del Espectro Autista	Condición neurológica	Cualitativa	Nominal	Dependiente
Género	Categoría relacional	Cualitativa	Nominal	Masculino Femenino
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento	Cuantitativa	Ordinal	Edad cronológica
Lenguaje	Medio de comunicación	Cualitativa	Nominal	Ausente Presente
Microbiota Gastrointestinal	Conjunto de microorganismos que viven en simbiosis en el intestino	Cualitativa	Nominal	Normal Ausente Disminuida Aumentada
Dolor abdominal	Signos y Síntomas Clínicos	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente
Diarrea, Estreñimiento	Signos y Síntomas Clínicos	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente
Insomnio	Signos y Síntomas Clínicos	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente
Aleteo, Autoagresión, Berrinches, Insomnio	Conductas del neurodesarrollo	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente

Microorganismos	Componentes benéficos, transitorios y patógenos del Tracto Gastrointestinal	Cualitativa	Nominal	Presente Ausente
Disbiosis Intestinal	Alteración en la composición de la Microbiota Intestinal	Cualitativa	Ordinal	Grado I Grado II Grado III Ausente
Tratamiento Biomédico: Vitamina B6, Omega 3, Magnesio, Zinc, Ácido fólico, probióticos, antibióticos	Coadyudantes en la disminución y/o normalización del déficit de atención e hiperactividad, desintoxicación, cambios de humor, agresividad, etc.	Cualitativa	Nominal	Ingesta No ingesta
Tratamiento dietético: Libre de gluten y caseína	Proteínas no digeribles por el déficit metabólico de enzimas en el Sistema Digestivos los cuales actúan como opiáceos	Cualitativa	Nominal	Ingesta No ingesta

4. Hipótesis

Un desequilibrio en la microbiota gastrointestinal aeróbica como causante de disbiosis, pudiera regularse con un tratamiento biológico y dietético, disminuyendo la severidad en el comportamiento de las manifestaciones gastrointestinales y conductuales del neurodesarrollo.

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

1. Tipo de estudio

Se presenta una investigación aplicada, colocando en práctica una metodología donde se intenta demostrar un problema teórico. Es de tipo experimental, porque se utilizarán muestras biológicas que se procesarán en un laboratorio, bajo las metodologías y condiciones seleccionadas para tal fin, donde se obtendrá parte de la información que será utilizado para el análisis final de resultados. También es de nivel descriptivo, porque se busca establecer características y situaciones existentes entre las variables, como el estado de la MI y las posibles alteraciones que puedan estar relacionadas con las manifestaciones gastrointestinales y conductas en el neurodesarrollo en niños con TEA posterior a un tratamiento biológico y nutricional.

2. Población

Niños de la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios, Caracas, Venezuela, en edades comprendidas entre los 4 años y 14 años. Condición que fue diagnosticada por el Médico Psiquiatra de la institución, de acuerdo a los lineamientos propuestos por la Guía de consulta de los criterios de diagnósticos DSM-V. Estos niños fueron seleccionados previamente para un estudio en fase I en el año 2015 indicando el tratamiento biológico y nutricional inmediatamente después de la recolección de la muestra y fueron nuevamente evaluados al año siguiente 2016 (4), donde se les fue diagnosticado una alteración de MI como causante de disbiosis.

3. Criterios de selección del grupo control

- a) Niños y adolescentes entre 4 y 14 años.
- b) Niños en buen estado físico y mental.
- c) Niños con un buen estado de salud

d) Niños que no cursen con déficit de atención e hiperactividad.

4. Resumen Metodológico

El estudio fue expuesto a los padres de los participantes; los cuales llenaron el consentimiento informado, con el que aceptaron formar parte del mismo. A su vez se explicó el modo correcto para la recolección de la muestra de heces, conservación y su transporte.

4.1. Recolección de datos

Se elaboró una ficha para recolectar la información proveniente de las historias médicas y observaciones del médico psiquiatra; se registraron datos epidemiológicos, psicológicos, signos y síntomas gastrointestinales, conductas del neurodesarrollo, tratamiento biológico y nutricional. Después de un período de un año donde los pacientes evaluados previamente estuvieron bajo tratamiento biológico y nutricional.

4.2. Obtención transporte y conservación de las muestras

Las muestras de las deposiciones fueron tomadas por los padres de acuerdo a un instructivo sobre la recolección de las muestras. Fueron recogidas en medios de transporte microbiológicos: Ammies, Stuart/ Cary-Blair, los cuales son medios con nutrientes específicos, de bajo potencial oxido-reducción y un pH adecuado para la recuperación de microorganismos (26).

4.3. Procesamiento de las muestras en el laboratorio de microbiología

Se emplearon medios de cultivo selectivos y diferenciales como Levine (Oxoid), MacConkey (Oxoid), SS agar (Oxoid), XLD (Oxoid), TCBS (Oxoid), Campylobacter libre de sangre (Oxoid), CNA (Agar sangre con suplemento CNA-Oxoid) y CLED (Oxoid), para la obtención de bacterias enteropatógenas, microbiota benéfica y transitoria incluyendo gramnegativos y grampositivos. Para la recuperación de hongos levaduriformes y filamentosos se emplearon medios de Sabouraud Dextrosa Agar (Oxoid), Sabouraud Dextrosa Agar+Gentamicina, Chromo Agar (Oxoid) y Mycosel Agar (BBL).

Para hacer semicuantificación de los componentes de la microbiota gastrointestinal, se utilizó un gramo de heces correspondiente a: unidades formadoras de colonia/gramo de heces (UFC/gH).

Las muestras se sembraron en base a cuatro cuadrantes, para su posterior lectura e interpretación. Los medios inoculados en MacConkey, Levine, SS agar, XLD, TCBS, CLED, Sabouraud dextrosa agar, Sabouraud+Gentamicina, Chromo Agar y Mycosel Agar se incubaron a 35 °C y se les hizo lectura a las 24, 48 y 72 horas, mientras que los inoculados en Campylobacter agar se incubaron en microaerofilia a 42°C y su lectura se realizó a las 72 horas; los inoculados en CNA se incubaron a 35°C en microaerofilia y se realizó la lectura a las 48 horas. Los microorganismos en estudio se identificaron por pruebas bioquímicas convencionales, prueba de filamentización en suero, sistema automatizado (VITEK® 2 Compact) y pruebas de aglutinación.

4.4. Interpretación de los resultados

Se evaluaron las condiciones de la microbiota gastrointestinal bacteriana en base al crecimiento de microorganismos beneficiosos, transitorios y/o presencia de enteropatógenos aeróbicos, utilizando como indicador de microbiota beneficiosa a *Escherichia coli*, y *Enterococcus faecalis* que siempre deben estar en mayor cantidad que los demás, en una proporción de 3 a 4(+). El patrón empleado para la semicuantificación, tomando en cuenta una escala que va de 1(+) a 4 (+), de la microbiota gastrointestinal, fue el siguiente (4,27):

1(+): Crecimiento escaso ($<10^3$), UFC/gH

2(+): Crecimiento leve (10^3 - 10^4), UFC/gH

3(+): Crecimiento moderado (10^5 - 10^6), UFC/gH

4(+): Crecimiento abundante ($>10^7$), UFC/gH

El medio de Levine Agar, CNA y Sabouraud Dextrosa Agar, se tomaron como los medios básicos para la lectura de los cuadrantes. El sistema de cruces se registrará en base al desarrollo bacteriano en cada cuadrante, donde cada cruz corresponderá a un cuadrante con desarrollo microbiano, entendiéndose de esta manera, si colonias de *E. coli* se desarrollan en 3 cuadrantes, su proporción se determina como 3(+). A su vez, si alguno de los otros microorganismos que conforman la microbiota transitoria estudiada (*Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Candida* spp, etc.), presentan un crecimiento de 2(+) en adelante estarán causando la disbiosis y esta dependerá de dicho agente, y si se presenta algún enteropatógeno al mismo también se destacará en la lista de causantes de disbiosis como patógeno verdadero.

El grado de disbiosis se clasificó en números romanos de la siguiente manera (4):

Grado de disbiosis I: MI transitoria con crecimiento en el segundo cuadrante (2+).

Grado de disbiosis II: MI transitoria con crecimiento en el tercer cuadrante (3+).

Grado de disbiosis III: MI transitoria con crecimiento en el cuarto cuadrante (4+)

Ausencia de disbiosis: MI transitoria ausente o con crecimiento en el primer cuadrante (1+).

4.5. Métodos estadísticos

Para el estudio de los datos obtenidos y las variables propuestas en esta investigación se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17 para Windows. Todas las variables fueron descritas en porcentajes. Para comparar los datos cualitativos y cuantitativos se utilizó la comprobación estadística en base a Z y la prueba exacta de Fisher de dos colas. El nivel de significación se evaluó con $p < 0.05$.

4.6. Recurso Humano

Se contó con el apoyo de la Tutora de este trabajo, MSc. Xiomara Moreno, además del personal profesional y técnico del Departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta. Para el análisis estadístico se contó con el apoyo de un asesor experto en la materia como fue el Prof. Leopoldo Sánchez.

CAPÍTULO IV

Resultados

La investigación está conformada por una población de 67 pacientes, de los cuales 32 son los niños que representan a la población en estudio con Trastorno del Espectro Autista, con edades comprendidas entre 4 y 14 años cuya media fue de 8,3. Un total de 21 (65,6%) fueron del género masculino y 11 (34,4%) fueron del género femenino, Tabla 3 y Gráfico 1. Con respecto al grado de disbiosis; 9,4% presentan disbiosis grado I, 18,7% disbiosis grado II, 62,5% disbiosis grado III y 9,4% no presentan disbiosis, Tabla 5 y Gráfico 3.

La población control estuvo conformada por 35 niños en edades comprendida entre 2 y 11 años, cuya media fue de 7,1 años. De los cuales 17 (49%) fueron del género masculino y 18 (51%) femenino. La presencia de disbiosis en esta población se distribuyó de la siguiente manera: no presentaron disbiosis 65,7%, grado de disbiosis I 8,6%, grado de disbiosis II 2,8% y grado de disbiosis III 22,9%, Tabla 6 y Gráfico 4.

La composición de la MI benéfica y transitoria investigada antes y después del tratamiento en niños con TEA, se encontró que *E. coli* como MI benéfica no presentó variación alguna en los grupos investigados, mientras que *E. faecalis* se pudo observar que en el grupo post tratamiento hubo una disminución significativa $p < 0.0001$ respecto al grupo control antes del tratamiento. En cuanto a la MI transitoria, *Klebsiella pneumoniae* sigue siendo la principal especie causante de disbiosis en los grupos estudiados. Seguidamente en el grupo post tratamiento, *Streptococcus* spp., y *E. faecium* fueron los aislamientos más identificados como causantes de disbiosis en este grupo. La disposición más detallada de la MI benéfica y transitoria encontrada antes y después del tratamiento se observa en la Tabla 7.

La presencia de manifestaciones gastrointestinales en niños con TEA entre los grupos antes y después del tratamiento, el dolor abdominal y diarrea presentaron una significancia estadística de $p < 0.001$; mientras que en el grupo antes del tratamiento el dolor abdominal y estreñimiento tuvieron mayor significancia respecto al grupo después del tratamiento donde diarrea y estreñimiento fueron los que presentaron una significancia de $p < 0.001$, detalles en la Tabla 8.

La correlación de las conductas del neurodesarrollo respecto al grado de disbiosis después del tratamiento, se pudo observar que el porcentaje de sensibilidad en general después del tratamiento biológico y nutricional aumentó de forma significativa a un 100% respecto al grupo antes del tratamiento, como también el valor predictivo negativo, exceptuando la capacidad verbal. La relación entre berrinches como un indicador de conductas del neurodesarrollo y grado de disbiosis presentó una significancia de $p < 0.05$, ver Tabla 9.

Después de la aplicación del tratamiento biológico y nutricional en los niños con TEA se pudo relacionar que una dieta libre de gluten y caseína y el suministro de suplementos biológicos Omega 3 y Zinc presentaron una significancia favorable de $p < 0.01$ respectivamente para los berrinches como una manifestación conductual del neurodesarrollo. Las demás variables estudiadas en este aspecto se observan en las Tabla 10. 11. 12. 13. 14. 15.

Como resultado final de los 32 pacientes con TEA evaluados, 9 (28.1%) obtuvieron mejoría notable, mientras que 13 (40.7%) desmejoraron. Un paciente (3.1%) no presentó disbiosis en ninguna de las dos fases evaluadas y 9 (28.1%) se mantuvieron en la misma condición de positivos en las dos fases.

En la segunda fase no se identificaron gérmenes enteropatógenos a diferencia de la primera fase donde se aisló en dos pacientes *Campylobacter coli*.

Tabla 3. Distribución por género

Género	Porcentaje
Masculino	65,6%
Femenino	34,4%

Gráfico 1. Distribución por género

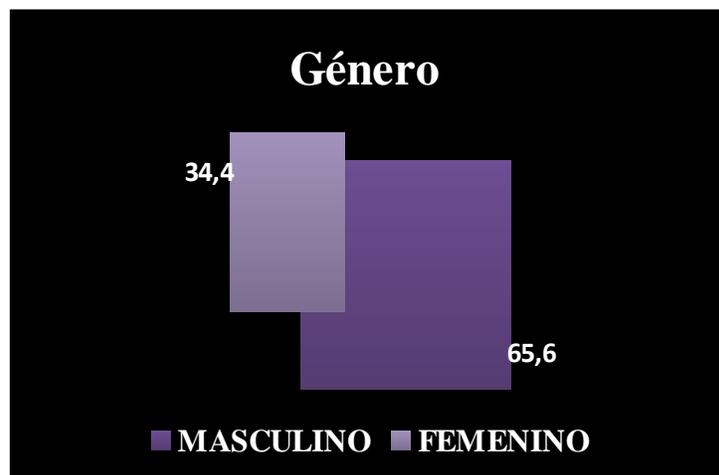


Tabla 4. Porcentaje de aparición de los grados de Disbiosis en niños con TEA antes del tratamiento

Grado de disbiosis	Nº de pacientes con TEA (32)	Porcentaje (%)
Ausente	7	21,9
Disbiosis I	2	6,2
Disbiosis II	7	21,9
Disbiosis III	16	50

Gráfica 2. Porcentaje de aparición de los grados de Disbiosis en niños con TEA antes del tratamiento



Tabla 5. Porcentaje de aparición de los grados de disbiosis en niños con TEA después del tratamiento

Grado de disbiosis	Nº de pacientes con TEA (32)	Porcentaje (%)
Ausente	3	9,4
Disbiosis I	3	9,4
Disbiosis II	6	18,7
Disbiosis III	20	62,5

Gráfico 3. Porcentaje de aparición de los grados de disbiosis en niños con TEA después del tratamiento

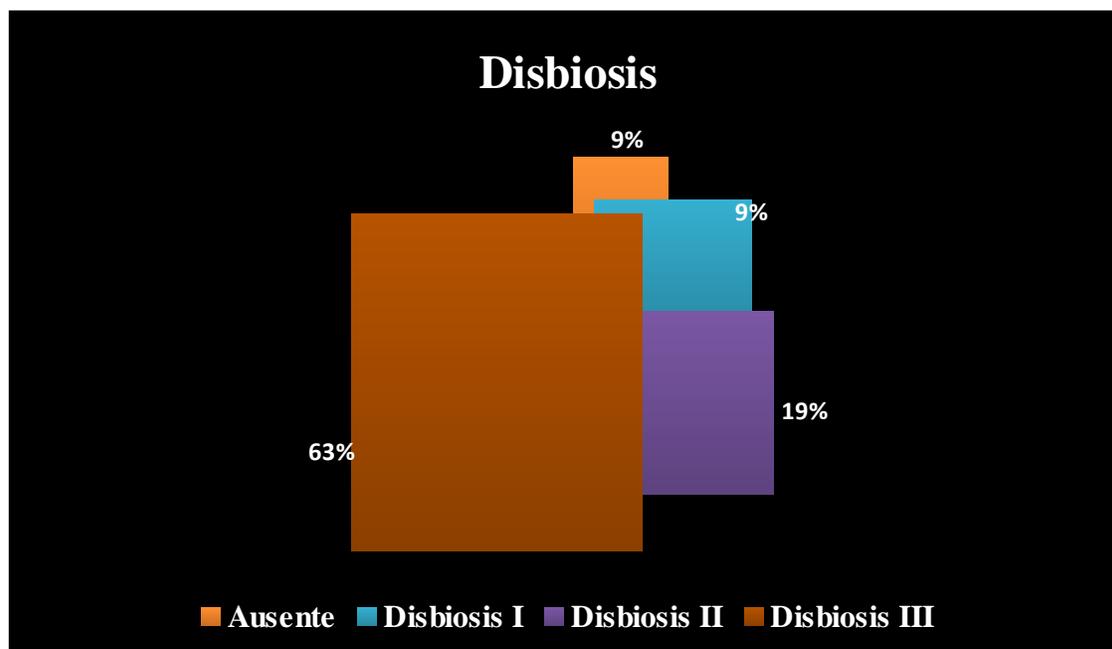


Tabla 6. Porcentaje de aparición de disbiosis en el grupo control

Grado de disbiosis	Nº de pacientes controles (35)	Porcentaje (%)
Ausente	23	65,7
Disbiosis I	3	8,6
Disbiosis II	1	2,8
Disbiosis III	8	22,9

Gráfico 4. Porcentaje de aparición de disbiosis en el grupo control

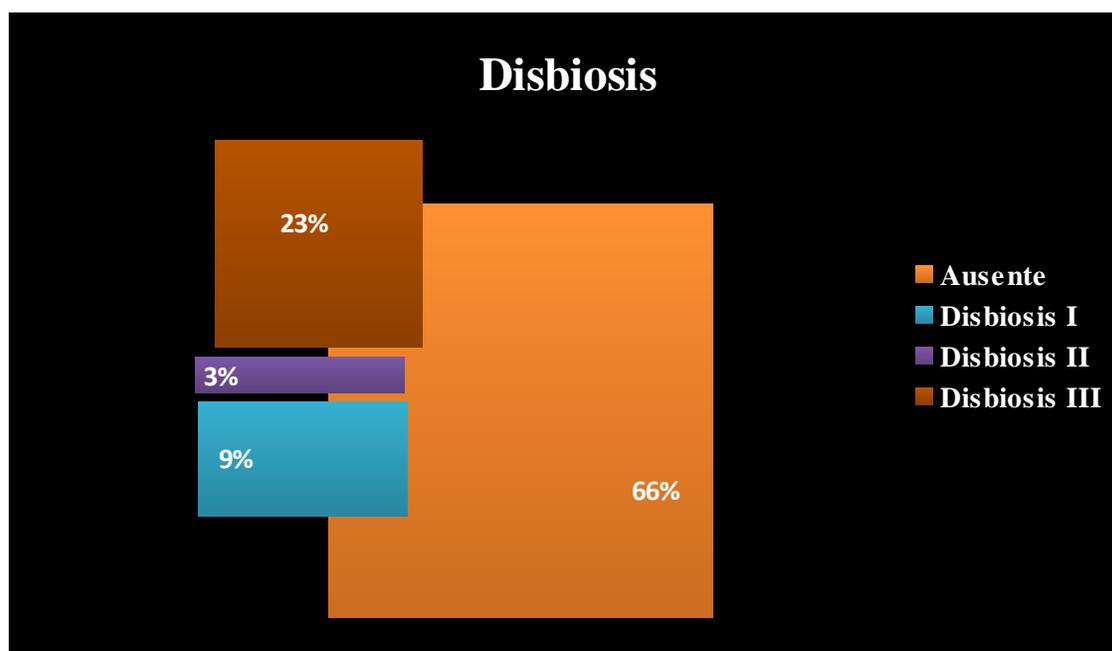


Tabla 7. Microorganismos benéficos y transitorios que componen la microbiota intestinal aeróbica antes y después de un tratamiento biológico y nutricional en niños con Trastorno del Espectro Autista

Antes del tratamiento

Después del tratamiento

Microorganismos aeróbicos benéficos	Interpretación	Grupo Control	Pacientes TEA	Porcentaje Total	<i>p</i>	Microorganismos aeróbicos benéficos	Interpretación	Grupo control	Pacientes TEA	Porcentaje total	<i>p</i>
<i>Escherichia coli</i>	Normal	32(91,4%)	28(87,4%)	89,5%	0.7013	<i>Escherichia coli</i>	Normal	32 (91,4%)	30 (93,8%)	92,5%	1
	Disminuido	2(5,7%)	2(6,3%)	5,3%			Disminuido	2 (5,7%)	0	3,0%	
	Ausente	1(2,9%)	2(6,3%)	5,3%			Ausente	1 (2,9%)	2 (6,2%)	4,5%	
<i>Enterococcus faecalis</i>	Normal	29(82,9%)	23(71,9%)	75,0%	0.3813	<i>Enterococcus faecalis</i>	Normal	29 (82,9%)	11 (34,4%)	59,7%	<0,0001
	Disminuido	6(17,1%)	8(25,0%)	21,1%			Disminuido	6 (17,1%)	2 (6,2%)	11,9%	
	Ausente	0(0,0%)	1(3,1%)	3,9%			Ausente	0 (0,0%)	19 (59,4%)	28,4%	
Microorganismos aeróbicos transitorios	Interpretación	Grupo Control	Pacientes TEA	Porcentaje Total	<i>p</i>	Microorganismos aeróbicos transitorios	Interpretación	Grupo control	Pacientes TEA	Porcentaje total	<i>p</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ausente	33(94,3%)	23(71,9%)	78,9%	0.0393	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ausente	33 (94,3%)	21 (65,6%)	80,6%	0.0044
	Normal	0(0,0%)	1(3,1%)	2,6%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	2(5,7%)	8(25,0%)	18,4%			Aumentado	2 (5,7%)	11 (34,4%)	19,4%	
<i>Proteus mirabilis</i>	Ausente	33(94,3%)	23(71,9%)	78,9%	0.1035	<i>Escherichia fergusonii</i>	Ausente	35 (100%)	27 (84,4%)	92,5%	0.0208
	Normal	2(5,7%)	6(18,7%)	10,5%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	3(9,4%)	10,5%			Aumentado	0 (0,0%)	5 (15,6%)	7,5%	
<i>Serratia marcescens</i>	Ausente	35(100%)	27(84,3%)	90,8%	0.1035	<i>Serratia marcescens</i>	Ausente	35 (100%)	31 (96,9%)	98,5%	0.4776
	Normal	0(0,0%)	2(6,3%)	2,6%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	3(9,4%)	6,6%			Aumentado	0 (0,0%)	1 (3,1%)	1,5%	

Microorganismos aeróbicos transitorios	Interpretación	Grupo Control	Pacientes TEA	Porcentaje Total	<i>p</i>	Microorganismos aeróbicos transitorios	Interpretación	Grupo control	Pacientes TEA	Porcentaje total	<i>p</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Ausente	35(100%)	31(96,9%)	97,4%	0.4776	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Ausente	35 (100%)	31 (96,9%)	98,5%	0.4776
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	1(3,1%)	2,6%			Aumentado	0 (0,0%)	1 (31,1%)	1,5%	
<i>Klebsiella ozaenae</i>	Ausente	33(94,3%)	30(93,7%)	94,7%	0.2243	<i>Klebsiella ozaenae</i>	Ausente	33 (94,3%)	31 (3,1%)	95,5%	1
	Normal	2(5,7%)	0(0,0%)	2,6%			Normal	2 (5,7%)	1 (3,1%)	4,5%	
	Aumentado	0(0,0%)	2(6,3%)	2,6%			Aumentado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ausente	34(97,1%)	31(96,9%)	97,4%	1	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ausente	34 (97,1%)	31 (96,9%)	97,0%	1
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	1(2,9%)	1(3,1%)	2,6%			Aumentado	1 (2,9%)	1 (3,1%)	3,0%	
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	Ausente	34(97,1%)	30(93,7%)	93,7%	0.6025	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	Ausente	34 (97,1%)	31 (96,9%)	97,0%	1
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	1(2,9%)	2(6,3%)	6,3%			Aumentado	1 (2,9%)	1 (3,1%)	3,0%	
<i>Serratia odorifera</i>	Ausente	35(100%)	31(96,9%)	98,7%	0.4776	<i>Acinetobacter lowffii</i>	Ausente	34 (97,1%)	31 (96,9%)	97,0%	1
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	1(3,1%)	1,3%			Aumentado	1 (2,9%)	1 (3,1%)	3,0%	
<i>Enterobacter sakazakii</i>	Ausente	35(100%)	31(96,9%)	98,7%	0.4776	<i>Elizabethkingia meningoséptica</i>	Ausente	35(100,0%)	31 (96,9%)	98,5%	1
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	1 (3,1%)	1,5%	
	Aumentado	0(0,0%)	1(3,1%)	1,3%			Aumentado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	Ausente	34(97,1%)	32(100%)	98,7%	1	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	Ausente	34 (97,1%)	31 (96,9%)	97,0%	1
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	1(2,9%)	0(0,0%)	1,3%			Aumentado	1 (2,9%)	1 (3,1%)	3,0%	
<i>Streptococcus spp.</i>	Ausente	32(91,4%)	25(78,1%)	84,2%	0.4144	<i>Streptococcus spp.</i>	Ausente	32 (91,4%)	20 (62,5%)	77,6%	0.0095
	Normal	1(2,9%)	3(9,4%)	5,3%			Normal	1 (2,9%)	2 (6,3%)	4,5%	
	Aumentado	2(5,7%)	4(12,5%)	10,5%			Aumentado	2 (5,7%)	10 (31,2%)	17,9%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	34(97,1%)	27(84,4%)	90,8	0.6025	<i>Lactococcus garviae</i>	Ausente	35 (100%)	30 (93,7%)	97,0%	0.2243
	Normal	0(0,0%)	3(9,4%)	5,3%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	1(2,9%)	2(6,2%)	3,9%			Aumentado	0 (0,0%)	2 (6,3%)	3,0%	
<i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	Ausente	35(100%)	31(96,9%)	98,7%	0.4776	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	Ausente	35 (100%)	30 (93,7%)	97,0%	0.2243
	Normal	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	1(3,1%)	1,3%			Aumentado	0 (0,0%)	2 (6,3%)	3,0%	

Microorganismos aeróbicos transitorios	Interpretación	Grupo Control	Pacientes TEA	Porcentaje Total	<i>p</i>	Microorganismos aeróbicos transitorios	Interpretación	Grupo control	Pacientes TEA	Porcentaje total	<i>p</i>
<i>Candida albicans</i>	Ausente	34(97,1%)	28(87,5%)	90,8	1	<i>Candida albicans</i>	Ausente	34 (97,1%)	28 (87,5%)	92,5%	0.2243
	Normal	1(2,9%)	4(12,5%)	9,2%			Normal	1 (2,9%)	2 (6,3%)	4,5%	
	Aumentado	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Aumentado	0 (0,0%)	2 (6,3%)	3,0%	
<i>Candida tropicalis</i>	Ausente	30(85,7)	25(78,1%)	84,2%	0,2243	<i>Candida tropicalis</i>	Ausente	30(85,7%)	31 (96,9%)	91,0%	1
	Normal	5(14,3%)	5(15,6%)	13,2%			Normal	5 (14,3%)	1 (3,1%)	9,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	2(6,3%)	2,6%			Aumentado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	34(97,1%)	35(85,4%)	90,8	0.142	<i>Enterococcus faecium</i>	Ausente	35 (100%)	24 (75%)	88,1%	0.0016
	Normal	0(0,0%)	4(9,8%)	5,3%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	1(2,9%)	2(4,9%)	3,9%			Aumentado	0 (0,0%)	8 (25%)	11,9%	
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Ausente	34(97,1%)	40(97,6%)	97,4%	0,712	<i>Enterococcus gallinarum</i>	Ausente	35 (100%)	27 (84,4%)	92,5%	0.1035
	Normal	1(2,9%)	1(2,4%)	2,6%			Normal	0 (0,0%)	2 (6,3%)	3,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Aumentado	0 (0,0%)	3 (9,4%)	4,5%	
<i>Candida rugosa</i>	Ausente	35(100%)	40(97,6%)	98,7%	0,539	<i>Enterococcus durans</i>	Ausente	35 (100%)	29 (90,6%)	95,5%	0.1035
	Normal	0(0,0%)	1(2,4%)	1,3%			Normal	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Aumentado	0 (0,0%)	3 (9,4%)	4,5%	
<i>Candida glabrata</i>	Ausente	35(100%)	39(95,1%)	97,4%	0.416	<i>Candida parapsilosis</i>	Ausente	35 (100%)	28 (87,5%)	94,0%	0.4776
	Normal	0(0,0%)	1(2,4%)	1,3%			Normal	0 (0,0%)	3 (9,4%)	4,5%	
	Aumentado	0(0,0%)	1(2,4%)	1,3%			Aumentado	0 (0,0%)	1 (3,1%)	1,5%	
<i>Candida krusei</i>	Ausente	33(94,3%)	40(97,6%)	96,1%	0,200	<i>Candida krusei</i>	Ausente	33 (94,3%)	30 (93,7%)	94,0%	0.2243
	Normal	2(5,7%)	0(0,0%)	2,6%			Normal	2 (5,7%)	0 (0,0%)	3,0%	
	Aumentado	0(0,0%)	1(2,4%)	1,3%			Aumentado	0 (0,0%)	2 (6,3%)	3,0%	
<i>Trichosporon spp.</i>	Ausente	35(100%)	40(97,6%)	98,7%	0,539	<i>Trichosporon spp.</i>	Ausente	35 (100%)	31 (96,9%)	98,5%	1
	Normal	0(0,0%)	1(2,4%)	1,3%			Normal	0 (0,0%)	1 (3,1%)	1,5%	
	Aumentado	0(0,0%)	0(0,0%)	0,0%			Aumentado	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0,0%	

Test exacto de Fisher

Tabla 8. Presencia de manifestaciones gastrointestinales en pacientes con TEA y grupo control

A.- Antes del tratamiento

Manifestaciones	Interpretación	Grupo Control n°(35)	TEA a/t n° (32)	Z _(ob) C/ at	p C/ at
Dolor abdominal	Presente	7 (20%)	12 (37,5%)	-10,9808	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	28 (80%)	20 (62,5%)	7,0203	<u>≤ 0,001</u>
Diarrea	Presente	5 (14,3%)	6 (18,8%)	-3,7148	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	30 (85,7%)	26 (81,2%)	1,6712	> 0,05
Estreñimiento	Presente	5 (14,3%)	11 (34,4%)	-13,6954	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	30 (85,7%)	21 (65,6%)	7,8306	<u>≤ 0,001</u>

B.- Después del tratamiento

Manifestaciones	Interpretación	Grupo Control n° (35)	TEA d/t n° (32)	Z _(ob) C/ dt	p C/ dt
Dolor abdominal	Presente	7 (20%)	7 (21,9%)	-1,3950	> 0,05
	Ausente	28 (80%)	25 (78,1%)	0,7245	<u>≤ 0,001</u>
Diarrea	Presente	5 (14,3 %)	1 (3,1%)	12,7370	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	30 (85,7%)	31 (96,9%)	-3,9813	<u>≤ 0,001</u>
Estreñimiento	Presente	5 (14,3%)	10 (31,3%)	-11,9677	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	30 (85,7%)	22 (68,7%)	6,5576	<u>≤ 0,001</u>

C.- Comparativa entre los dos grupos TEA

Manifestaciones	Interpretación	TEA a/t n° (32)	TEA d/t n° (32)	Z _(ob) at / dt	p at / dt
Dolor abdominal	Presente	12 (37,5%)	7 (21,9%)	9,4160	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	20 (62,5%)	25 (78,1%)	-6,1598	<u>≤ 0,001</u>
Diarrea	Presente	6 (18,8%)	1 (3,1%)	15,5609	<u>≤ 0,001</u>
	Ausente	26 (81,2%)	31 (96,9%)	-5,5247	<u>≤ 0,001</u>
Estreñimiento	Presente	11 (34,4%)	10 (31,3%)	1,7800	> 0,05
	Ausente	21 (65,6%)	22 (68,7%)	-1,2518	> 0,05

Tabla 9. Correlación de las conductas del neurodesarrollo y la disbiosis antes y después del tratamiento biológico y nutricional

Fase I antes del tratamiento

Alteraciones del Neurodesarrollo		Interpretación		S	E	VPP	VPN	p
		Presencia (13)	Ausencia (19)					
Disbiosis	Aleteos							
	Presencia (25)	11	14	84,6%	26%	44%	71,4%	0,2695
	Ausencia (7)	2	5					
Disbiosis	Autoagresión							
	Presencia (25)	9	16	75,0%	20%	36,0%	57,14%	0,3167
	Ausencia (7)	3	4					
Disbiosis	Berrinches							
	Presencia (25)	15	10	71,43%	9,1%	60%	14,29%	0,1773
	Ausencia (7)	6	1					
Disbiosis	Insomnio							
	Presencia (25)	11	14	78,57%	22,22%	44,0%	57,14%	0,3309
	Ausencia (7)	3	4					
Disbiosis	Cap. verbal							
	Presencia (25)	18	7	78,26%	22,22%	72,0%	28,57%	0,3599
	Ausencia (7)	5	2					

Cap. Verbal: Capacidad verbal, S: Sensibilidad, E: Especificidad, VPP: Valor Predictivo Positivo, VPN: Valor Predictivo Negativo

Fase II después del tratamiento

Alteraciones del neurodesarrollo		Interpretación		S	E	VPP	VPN	<i>p</i>
Disbiosis	Aleteos	Presencia (14)	Ausencia (18)					
	Presencia (29)	14	15	100%	17%	48%	100%	0,1086
	Ausencia (3)	0	3					
Disbiosis	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)					
	Presencia (29)	7	22	100%	12%	24,1%	100%	0,3357
	Ausencia (3)	0	3					
Disbiosis	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (2)					
	Presencia (29)	20	9	100%	25%	69%	100%	<u>0,0188</u>
	Ausencia (3)	0	3					
Disbiosis	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)					
	Presencia (29)	11	18	100%	14%	38%	100%	0,1879
	Ausencia (3)	0	3					
Disbiosis	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)					
	Presencia (27)	24	5	89,0%	0%	83,0%	0%	0,434
	Ausencia (5)	3	0					

Cap. Verbal: Capacidad verbal, S: Sensibilidad, E: Especificidad, VPP: Valor Predictivo Positivo, VPN: Valor Predictivo Negativo

Tabla 10. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con las manifestaciones conductuales de neurodesarrollo en niños con TEA

Manifestaciones	Gluten (<i>p</i>)	Caseína (<i>p</i>)	Omega 3 (<i>p</i>)	Magnesio (<i>p</i>)	Zinc (<i>p</i>)	Vit. B6 (<i>p</i>)	Á. fólico (<i>p</i>)	Probiótico (<i>p</i>)	Antibiótico (<i>p</i>)
Aleteos	0,563	0,563	0,247	0,194	0,425	0,179	0,123	0,471	1
Autoagresión	0,058	0,056	0,177	0,138	0,244	0,222	0,173	0,379	0,536
Berrinches	<u>0,001</u>	<u>0,001</u>	<u>0,044</u>	0,554	0,039	0,19	0,297	0,724	0,274
Insomnio	0,49	0,49	0,086	0,164	0,289	0,264	0,859	0,724	0,540
Cap. Verbal	0,173	0,173	0,101	0,289	0,401	0,363	0,101	0,337	1

Cap. Verbal: Capacidad Verbal, Vit. B6: Vitamina B6, Á. fólico: Ácido fólico

Tabla 11. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con el aleteo en los niños con TEA

Gluten	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (15)	4	11	
	Ausencia (17)	10	7	0,563
Caseína	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (15)	4	11	
	Ausencia (17)	10	7	0,563
Zinc	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (5)	0	5	
	Ausencia (27)	14	13	0,425
Omega 3	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (11)	4	7	
	Ausencia (21)	10	11	0,247
Magnesio	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (12)	4	8	
	Ausencia (20)	10	10	0,194
Vitamina B6	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (10)	3	7	
	Ausencia (22)	11	11	0,179
Ácido Fólico	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (11)	3	8	
	Ausencia (21)	11	10	0,123
Probióticos	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (12)	4	8	
	Ausencia (20)	10	10	0,4709
Antibióticos	Aleteo	Presencia (14)	Ausencia (18)	<i>p</i>
	Presencia (3)	1	2	
	Ausencia (29)	13	16	1

Tabla 12. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con la capacidad verbal en los niños con TEA

Gluten	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (15)	14	1	0,173
	Ausencia (17)	13	4	
Caseína	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (15)	14	1	0,173
	Ausencia (17)	13	4	
Zinc	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (5)	5	0	0,401
	Ausencia (27)	22	5	
Omega 3	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (11)	11	0	0,101
	Ausencia (21)	16	5	
Magnesio	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (12)	11	1	0,289
	Ausencia (20)	16	4	
Vitamina B6	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (10)	9	1	0,363
	Ausencia (22)	18	4	
Ácido Fólico	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (11)	11	0	0,101
	Ausencia (21)	16	5	
Probióticos	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (12)	9	3	0,337
	Ausencia (20)	18	2	
Antibióticos	Cap. verbal	Presencia (27)	Ausencia (5)	<i>p</i>
	Presencia (3)	3	0	1
	Ausencia (29)	24	5	

Cap. Verbal: Capacidad Verbal

Tabla 13. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con el insomnio en los niños con TEA

Gluten	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (15)	3	12	0,490
	Ausencia (17)	9	8	
Caseína	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (15)	3	12	0,490
	Ausencia (17)	9	8	
Zinc	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (5)	1	4	0,289
	Ausencia (27)	11	16	
Omega 3	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (11)	2	9	0,086
	Ausencia (21)	10	11	
Magnesio	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (12)	3	9	0,164
	Ausencia (20)	9	11	
Vitamina B6	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (10)	3	7	0,264
	Ausencia (22)	9	13	
Ácido Fólico	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (11)	2	9	0,859
	Ausencia (21)	10	11	
Probióticos	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (12)	5	7	0,724
	Ausencia (20)	7	13	
Antibióticos	Insomnio	Presencia (12)	Ausencia (20)	<i>p</i>
	Presencia (3)	2	1	0,540
	Ausencia (29)	10	19	

Tabla 14. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con los berrinches en los niños con TEA

Gluten	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (15)	4	11	<u>0,001</u>
	Ausencia (17)	16	1	
Caseína	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (15)	4	11	<u>0,001</u>
	Ausencia (17)	16	1	
Zinc	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (5)	0	5	<u>0,039</u>
	Ausencia (27)	20	7	
Omega 3	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (11)	3	8	<u>0,044</u>
	Ausencia (21)	17	4	
Magnesio	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (12)	5	7	0,554
	Ausencia (20)	15	5	
Vitamina B6	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (10)	5	5	0,190
	Ausencia (22)	15	7	
Ácido Fólico	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (11)	4	7	0,297
	Ausencia (21)	16	5	
Probióticos	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (12)	7	5	0,724
	Ausencia (20)	13	7	
Antibióticos	Berrinches	Presencia (20)	Ausencia (12)	<i>p</i>
	Presencia (3)	3	0	0,274
	Ausencia (29)	17	12	

Tabla 15. Correlación del tratamiento biológico y nutricional con la autoagresión en los niños con TEA

Gluten	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (15)	0	15	0,058
	Ausencia (17)	7	10	
Caseína	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (15)	0	15	0,058
	Ausencia (17)	7	10	
Zinc	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (5)	0	5	0,244
	Ausencia (27)	7	20	
Omega 3	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (11)	1	10	0,177
	Ausencia (21)	6	15	
Magnesio	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (12)	1	11	0,138
	Ausencia (20)	6	14	
Vitamina B6	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (10)	1	9	0,222
	Ausencia (22)	6	16	
Ácido Fólico	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (11)	1	10	0,177
	Ausencia (21)	6	15	
Probióticos	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (12)	4	8	0,3793
	Ausencia (20)	3	17	
Antibióticos	Autoagresión	Presencia (7)	Ausencia (25)	<i>p</i>
	Presencia (3)	1	2	0,536
	Ausencia (29)	6	23	

Tabla 16. Correlación de Grados de Disbiosis con manifestaciones gastrointestinales de pacientes con mejoras.

N°	Grado de Disbiosis		Diarrea		Dolor Abdominal		Estreñimiento	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
1	III	I	No	No	No	No	No	No
2	III	I	No	No	No	No	No	No
3	III	Au	Si	No	No	No	No	No
4	III	II	No	No	No	Si	No	No
5	III	II	Si	No	No	No	No	No
6	III	II	No	No	Si	No	Si	Si
7	III	II	No	No	Si	No	Si	Si
8	III	II	No	No	Si	No	No	No
9	III	I	Si	No	Si	Si	No	No

Au: Ausente

Tabla 17. Correlación de Grados de Disbiosis con las alteraciones del neurodesarrollo de pacientes con mejoras.

N°	Grado de Disbiosis		Cap. Verbal		Aleteos		Autoagresión		Berrinches		Insomnio	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
1	III	I	Si	Si	No	No	Si	No	No	No	No	No
2	III	I	Si	Si	No	No	No	No	No	No	No	No
3	III	Au	Si	Si	Si	No	No	No	No	No	No	No
4	III	II	Si	Si	No	No	Si	No	No	No	No	No
5	III	II	Si	Si	No	No	Si	No	No	Si	No	No
6	III	II	Si	Si	No	No	No	No	Si	No	No	No
7	III	II	Si	Si	No	No	No	No	Si	No	No	No
8	III	II	Si	Si	Si	Si	Si	No	No	No	Si	No
9	III	I	Si	Si	No	Si	No	No	No	No	Si	No

Au: Ausente

Tabla 18. Correlación de Grados de Disbiosis con el Tratamiento Biológico y Nutricional de pacientes con mejoras.

N°	Grado de Disbiosis		Gluten		Caseína		Omega 3		Magnesio		Zinc		Vit-B6		Á-Fólico		Probióticos		Antibióticos	
	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II	Fase I	Fase II
1	III	I	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	No
2	III	I	NA	Si	NA	Si	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No
3	III	Au	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	No	NA	No
4	III	II	NA	Si	NA	Si	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	Si	NA	No
5	III	II	NA	No	NA	No	NA	No	NA	Si	NA	No	NA	Si	NA	Si	NA	No	NA	Cip.
6	III	II	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	No
7	III	II	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	No
8	III	II	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	No	NA	No	NA	Si	NA	No	NA	No
9	III	I	NA	Si	NA	Si	NA	Si	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No	NA	No

Vit-B6: Vitamina B6, Á. Fólico: Ácido Fólico, Au: Ausente, Cip.: Ciprofloxacina NA: No Aplica

DISCUSIÓN

Se ha determinado como la MI favorece la digestión, además del correcto funcionamiento intestinal (38), sin embargo, también se ha demostrado como la alteración de dicha microbiota perturba de forma seria al intestino provocando diversas enfermedades por la estrecha relación de uno con el otro tales como la inflamación e irritación del epitelio intestinal (39,40). La alteración de la microbiota transitoria tiene varias causas una de las cuales está vinculada con la alimentación del individuo, edad y genética por lo tanto se sigue probando si la alteración de una dieta varía la MI (39,41).

De los microorganismos que componen MI el 90% pertenecen a la *Phyla Firmicutes* y *Bacteroidetes* y el 10% está compuesto por las *Phyla: Actinobacteria, Proteobacteria, Fusobacteria, Spirochaetae* y *Verrucomicrobia* (42). Nuestra investigación se basa en la identificación de la MI aeróbica donde los aislados más comunes fueron *Klebsiella pneumoniae* en la fase I y *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia fergusonii* en la fase II perteneciente a la *Phyla Proteobacteria; Klebsiella pneumoniae*, es considerada causante de colitis (43), debido a la producción de enterotoxinas, productos metabólicos y enzimas que causan lesiones en el epitelio intestinal, debido a su sobrecrecimiento (4, 43, 44).

Con respecto a *Escherichia fergusonii* se encontró como MI transitoria, mas no se han encontrado soportes bibliográficos que describan su patogenia con respecto a su sobrecrecimiento a nivel intestinal, se deberán hacer estudios más contundentes relacionando su sobrecrecimiento como causante de disbiosis y las manifestaciones gastrointestinales y neuroconductuales en pacientes con TEA y otras condiciones.

La *Phyla Firmicutes* incluye más de 250 géneros, involucrando los dos géneros restantes aislados en la fase II, como fueron *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* spp., causantes de irritación intestinal y colitis (45).

El tercer germen mayormente aislado fue, *Enterococcus faecium*, con respecto a su sobrecrecimiento a nivel intestinal, se ha determinado que el mismo posee una capacidad de producir ciertas toxinas que pueden inhibir el desarrollo de otros organismos propios de la MI benéfica como lo son los *Lactobacillus* spp., provocando de esta forma una alteración en el equilibrio de la MI (46).

Como cuarto germen aislado se encontró el género *Streptococcus* spp., su desarrollo a nivel intestinal es poco frecuente sin embargo es mucho más predominante en la cavidad oral, su sobrecrecimiento en el intestino está asociado con enfermedades como el síndrome de colon irritable e inflamación intestinal (47).

La diversidad de los microorganismos que componen la MI está influenciada por la ingesta de alimentos, lo cual es favorable para mantener el equilibrio, sin embargo, el consumo constante de alimentos específicos en la dieta contribuyen a que exista un sobrecrecimiento de la MI aeróbica transitoria.

Con respecto a las manifestaciones gastrointestinales investigadas en el grupo antes del tratamiento se observó que el dolor abdominal predomina en los niños con TEA obteniendo 12 niños (37,5%), seguido de estreñimiento con 11 niños (34,4%) y por último la diarrea con 6 niños (18,8%), mientras que el grupo control predominó el dolor abdominal con 7 niños (20%), seguido por la diarrea con 5 niños (14,3%) y el estreñimiento con 5 niños (14,3%). Según el estudio realizado por Horvath y col., la manifestación gastrointestinal que predominó en una población de 112 niños con TEA fueron las flatulencias con 60,3%, seguido por el dolor abdominal con 37,9%, (48). Un estudio realizado en un hospital pediátrico en Estados Unidos de una población

de 137 niños con TEA, el principal síntoma gastrointestinal fue la diarrea crónica con 12,4%, seguido del estreñimiento con 8,8% (49). En otro trabajo realizado obtuvieron que dolor abdominal se encontraba como el síntoma gastrointestinal más predominante (50). Mientras que en un estudio realizado en Venezuela en una población de 45 niños con TEA, refiere que el vómito fue el principal síntoma gastrointestinal con un 55,5%, sin embargo dicho resultado difiere al de esta investigación con los resultados obtenidos en la dos fases del estudio (7).

Después del tratamiento la manifestación gastrointestinal que predominó en los niños con TEA, fue el estreñimiento con 10 niños (31,3%), seguido del dolor abdominal con 7 niños (21,9%) y por último la diarrea con 1 niño (3,1%). Los síntomas que tienen una significancia estadística con respecto al grupo control fueron diarrea y estreñimiento, mientras que dolor abdominal no tiene una significancia estadística ya que existe la misma cantidad de pacientes controles que niños con TEA que manifiestan dolor abdominal.

Al comparar los grupos en estudio antes y después del tratamiento se obtiene que el síntoma que no presenta mejoría es el estreñimiento pudiera deberse a que los pacientes no cumplieron a cabalidad el tratamiento biológico y nutricional de tal manera que no hubo mejoría relativa con respecto a la disbiosis. A pesar de que en el estreñimiento no se observó una mejoría, el dolor abdominal y la diarrea si obtuvieron una significancia estadística después del tratamiento, por ende se observó un descenso con respecto al número de niños con TEA que manifestaron los síntomas antes y después del tratamiento, resultado que coincide con el trabajo presentado por Rossell y col., en el cual hubo mejoría de los síntomas gastrointestinales en un grupo de niños con TEA después de cumplir un tratamiento (13).

Se ha demostrado que hay una relación entre el MI y el sistema nervioso, conocido como relación intestino-cerebro, afectando de tal forma el comportamiento de las personas con TEA (51). En el presente estudio se observó un aumento de la sensibilidad a un 100% de la

investigación de disbiosis respecto a las conductas del neurodesarrollo evaluadas en la fase II respecto a la fase I, exceptuando la capacidad verbal ya que la mayoría de los niños en este estudio eran verbales, por lo tanto los niños con TEA que manifiesten alguna de las alteraciones de conductas del neurodesarrollo pueden presentar algún grado de disbiosis, dejando ver que los valores predictivos negativos con un 100% en la fase II nos permiten predecir que los que no tienen disbiosis no debieran presentar alguna alteración muy marcadas en cuanto a conductas del neurodesarrollo. Se mantiene una baja especificidad en ambas fases, es decir que es poco específico para determinar si existe una alteración en la relación intestino-cerebro, sin embargo se obtiene un alto valor predictivo negativo demostrando que aquellos con resultados negativos verdaderamente no manifiestan la enfermedad.

Clásicamente se considera el Trastorno del Espectro Autista como una disfunción neurológica (5,6,20); pero en base a informes empíricos de reportes de padres y cuidadores, estudios con y sin metodología científica han informado en la actualidad que los síntomas y ciertas manifestaciones conductuales del neurodesarrollo pueden tratarse y mejorar a partir de tratamientos nutricionales y suplementos biológicos que desintoxican el organismo, a la vez que ayudan a una repoblación de la microbiota del tracto gastrointestinal adecuada en el tiempo permitiendo una corrección de la disbiosis intestinal, presentando así una disminución o ausencia de estas conductas (52).

En nuestra investigación una dieta libre de gluten y caseína y una suplementación de Omega-3 y zinc, refieren una significancia estadística de $p < 0.05$ respecto a los berrinches como una de las conductas inadecuadas más destacadas del neurodesarrollo en el conjunto de niños con TEA evaluados.

El consumo de nutrientes promueve cambios en la ecología y funcionalidad de la MI; y patrones alimenticios a repetición inducen a la intrusión de microorganismos transitorios o patobiontes importantes, asociados a disbiosis (41).

La eliminación de las proteínas del gluten y la caseína como fuentes de alimentación en niños con TEA, ha sido puesta en práctica por especialistas para ayudar al manejo terapéutico y conductual de esta población. Según Shattock y col., Reitchelt y col. (53,54), formularon hipótesis donde los péptidos del gluten y la caseína reaccionan con los receptores opiáceos del cerebro, simulando efectos como los que presenta la heroína y morfina, afectando los neurotransmisores y provocando modificaciones en las conductas del neurodesarrollo, los niños con TEA tienen mayor tendencia a presentar alteraciones metabólicas en la deficiencia de las enzimas que descomponen estos péptidos (11, 13, 55).

En la presente investigación al aplicar una dieta libre de gluten y caseína se encontró una significancia estadística de 0,001 para ambos péptidos relacionándolo con los berrinches como una de las principales conductas en niños con TEA, seguido de la autoagresión con 0,058 y 0,056 para gluten y caseína respectivamente estos resultados son similares a los encontrados por Knivsberg y col., Milward y col. (56,57), con grupos controles que permitieron la reducción significativa de conductas del neurodesarrollo. Otro estudio realizado en la unidad de gastroenterología y nutrición pediátrica “Dra. Georgette Daoud”, Hospital “Dr. Miguel Pérez Carreño” demostró que de 254 niños 211 cumplieron con la dieta libre de gluten y caseína observándose una mejoría clínica con relación a los síntomas gastrointestinales y conductuales (13).

La microbiota intestinal juega un papel importante en la producción de ácidos grasos de cadenas cortas (AGCC), regulando la homeostasis intestinal. Uno de los principales AGCC es el butirato, el, cual es originado por el metabolismo de la microbiota del colon, siendo la fuente

principal de energía para los colonocitos, inhibiendo la proliferación de células intestinales, lo que permite reducir los síntomas de colitis.

Existen consensos donde las dietas ricas en grasas promueven la disbiosis, pero estudios recientes sugieren que el tipo específico de ácidos grasos de la dieta pareciera ser relevante en cuanto a las calorías totales provenientes de la grasa (58). La dieta rica en Omega 6, rica en ácidos grasos poliinsaturados aumenta la microbiota transitoria, pero las dietas hipo-calóricas con Omega-3 rica en ácidos grasos poliinsaturados pueden revertir estas alteraciones en la MI; resultados que apoyan los datos obtenidos en este estudio donde el consumo de Omega-3 reporto una significancia del 0.044 asociado a una disminución de los berrinches, donde 11 de 32 niños que tomaron Omega-3, 8 no presentaron berrinches después de su ingesta.

En la actualidad Walsh (59) ha concebido una enorme base de datos de niños con TEA, Trastornos de déficit de atención con hiperactividad (TDAH), depresión y trastornos del comportamiento en análisis químicos de sangre, orina y tejidos. Encontró que, en los trastornos mentales, su función es afectada por unos seis o siete desequilibrios químicos. Estos son factores de nutrientes que están involucrados en la síntesis o funcionamiento de los neurotransmisores. De acuerdo a la base de datos de Walsh, este indicó que el 70% de individuos en los Estados Unidos tienen una típica metilación normal, 22% están submetilados y un 8% se encuentran sobremetilados. También indica que el 70% de las personas que padecen trastornos mentales tienen uno de estos trastornos de metilación, cuyos síntomas y tratamiento son diferentes. Además, asevera que la mayoría de las personas que padecen trastornos mentales no tienen o tienen deficiencia de zinc.

En este trabajo de investigación a pesar de que la muestra es pequeña, de 32 niños 5 tomaron zinc y no presentaron berrinches comparado con 27 de 32 que no tomaron zinc y 20 presentaron berrinches, se observó una significancia estadística de 0.039. Muchos pacientes con

problemas mentales tienen una debilidad genética en la metilación del zinc, nacen con deficiencia de zinc y necesitan de cantidades mayores a las usuales para mantener los niveles normales.

También cuando hay desequilibrio en los niveles de zinc, la proteína metalotioneína no funciona correctamente por lo que tampoco funciona el glutatión. Por lo tanto, normalizar los niveles de zinc permite que la metalotioneína funcione y sustente al glutatión. Para tener una buena salud mental y física, se necesitan que los niveles de zinc plasmático se encuentren entre 90 y 130 $\mu\text{g/dL}$ (59).

Los 9 pacientes que mejoraron 8 cumplieron a cabalidad el tratamiento nutricional y algunos trataron de cumplir con el tratamiento biológico, debido a que fue muy compleja la adquisición de los suplementos. El paciente que no cumplió con el tratamiento nutricional, posiblemente mejoró su grado de disbiosis debido al tratamiento con antibiótico sin embargo solo bajo un grado de disbiosis (de grado III a grado II). Una alteración de la diversidad microbiana está relacionada con un desequilibrio de los microorganismos que conforman la MI, por lo que pudiera incrementarse algunas conductas del neurodesarrollo.

A pesar de la discontinuidad del tratamiento biológico los 9 pacientes pudieron mejorar con el tratamiento nutricional, sin embargo, para equilibrar los microorganismos que componen la MI transitoria que están en sobrecrecimiento y la recuperación de la MI benéfica que esté disminuida se necesita de un tratamiento continuo y a largo plazo con la administración de probióticos y dieta libre de gluten, caseína, a la vez que sea rotativa (2).

Un paciente no presentó disbiosis en ninguna de las dos fases evaluadas, sin embargo, las alteraciones del neurodesarrollo y los síntomas gastrointestinales pudieran estar relacionados con alteraciones en el metabolismo y no por la alteración de la MI gastrointestinal causante de disbiosis (59).

La interacción de una dieta rotatoria libre de gluten y caseína junto con la administración de suplementos biológicos pueden conducir a mejorar la disbiosis como causante de la alteración de la MI, y por consiguiente esto favorecerá una disminución o ausencia de los síntomas gastrointestinales y conductas del neurodesarrollo.

CONCLUSIONES

1.- El germen que más se aisló en ambas fases fue *Klebsiella pneumoniae*, sin embargo, en la fase II hubo una variedad de gérmenes aislados como *Escherichia fergusonii*, *Enterococcus faecium* y *Streptococcus* spp. Un cambio en la dieta favorece la diversidad de microorganismos de la MI a sus niveles normales mientras que un sobrecrecimiento de los microorganismos favorece la presencia de disbiosis.

2.- Hubo una disminución de los síntomas gastrointestinales, específicamente dolor abdominal y diarrea posterior al tratamiento biológico y nutricional, mientras que el estreñimiento no tuvo significancia estadística por lo que se mantuvo en ambas fases. Si se realiza de manera constante el tratamiento este favorecerá la reconstitución de la MI, acelerando el tránsito intestinal y por ende la mejora de estos síntomas

3.- El tratamiento nutricional y biológico contribuyó a aumentar la sensibilidad de la relación entre disbiosis y conductas del neurodesarrollo donde la relación entre disbiosis y berrinches alcanzó una significancia de $p = 0,02$; por lo que la presencia de berrinches se relaciona con algún grado de disbiosis

4.- Posterior a la aplicación del tratamiento biológico y nutricional, hubo una significancia estadística de $p < 0.05$ entre el gluten, caseína, omega 3 y zinc respecto a los berrinches, por lo que si se mantiene el tratamiento tienden a disminuir o desaparecer ciertas alteraciones del neurodesarrollo.

RECOMENDACIONES

- 1.- Se sugiere continuar con el estudio de microbiota intestinal aeróbica aumentando en número de pacientes.

- 2.- Monitorear con más rigurosidad el tratamiento en la población para así obtener mejores resultados que avalen la hipótesis planteada.

- 3.- Ampliar la investigación incluyendo el estudio de la microbiota intestinal anaeróbica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Krajmalnik-Brow R, Lozupone C, Dae-Wook K, Adams J. Gut bacteria in children with autism spectrum disorders: challenges and promise of studying how a complex community influences a complex disease. *Microbial Ecology in Health and Disease* 2015; 26:1-7.
2. Guarner F. Cuando la microbiota intestinal pierde su equilibrio. Contacto de prensa: impressum health & science communication, Miami; 5-6 marzo 2016.
3. Chávez I. M. E. Microbiota intestinal en la salud y la enfermedad. *Rev Gastroenterol Mex* 2013; 78:240-248.
4. Moreno X, Santamaria G, Sánchez R, De la Torre B, Garcés Fátima, Hernández C, Martínez C, Márquez A, López K. Microbiota gastrointestinal aeróbica en niños con trastorno del espectro autista. Estudio preliminar. *Rev Gen*, 69 (2):36-44.
5. Cuxart F. El autismo. Aspectos descriptivos y terapéuticos. Ediciones Aljibe. 2000;Málaga
6. DSM-V. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. American Psychiatric. Edit Med Panam, 2013; España.
7. González L, López K, Navarro D, Negrón L, Flores L, Rodríguez R, y col. Características Endoscópicas, Histológicas e Inmunológicas de la mucosa digestiva en Niños Autistas con Síntomas Gastrointestinales. *ArchVenezol Puericul y Ped* 2006; 69 (1):19-25.
8. Rimland B. Nutrition in: The Treatment of Autistic Children. Ponencia presentada en el I simposio Internacional de Autismo. 1978; Madrid.
9. DePhillippis-Silva E. Alimentación para pacientes con Autismo. www.centroleokanner.cl/evadephilippis.pdf. Visitada el 04-03-2017.

10. Higuera C.M. Tratamientos biológicos del Autismo y dietas de eliminación. *Rev Chil Ped* 2010; 81 (3): 204-214.
11. Shaw W. Tratamientos Biológicos del Autismo y PDD. Grat Plains Laboratory. Kansas. USA. 1998.
12. Diaz-Atienza F. Bases biológicas del autismo y tratamientos farmacológicos. *Rev Psiquiatr. Psicol. Niño Adolesc* 2001; 18-30.
13. Rossell A, López K, Materán V, Navarro D, Nogales A, Candelario E, Neri S, Belandria K. Influencia de la dieta en los síntomas gastrointestinales y conducta en niños con trastorno del espectro autista. XXXVI Congreso Venezolano de Gastroenterología. XVII Congreso Venezolano de Gastroenterología Pediátrica. Caracas, 2015.
14. Salvador M. B. Valoración Antropométrica y Nutricional en niños con trastorno del espectro autista. Universidad de Valencia. Tesis Doctoral, 2014.
15. Gómez M, Acero F. Composición y funciones de la flora bacteriana intestinal. *Repert Med Cir* 2011; 74-82.
16. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr Hosp* 2007; 22(2):14-9.
17. Casaubon P, Goldbard D. Manifestaciones gastrointestinales en niños con trastorno de espectro autista. *Centro Médico ABC* 2015; 60: 266-272
18. Thompson O C, Maldonado J, Gil A. La microbiota intestinal en el niño y la influencia de la dieta sobre su composición. *Alim. Nutri. Salud.* 2004; 37-48.
19. Kato T, Honda Y, Kurita Y, Iwasaki A, Sato T, Kessoku T, Shioru U, Ogawa Y, Ohkubo H, Higurashi T, Yamanaka T, Usuda H, Wada K, Nakajima A. Lubiprostone improves intestinal permeability in humans, a novel therapy for the leaky gut: A prospective

- randomized pilot study in healthy volunteers. 2017 PLoS ONE 12(4): e0175626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175626> Visitada: mayo 2017
20. Soyucen E, Gulcan A, Aktuglu-Zeybek AC, Onal H, Kiykim E., Aydin A. Differences in the gut microbiota of healthy children and those with type 1 diabetes. *Pediatrics International* 2014; 56: 336–343.
 21. Ortiz R. J. Autismo. *Gac Méd Méx* 2005; 141 (2):143-147.
 22. Guía de práctica clínica para manejo de pacientes con trastornos del espectro autista en atención primaria Madrid 2009.
 23. Iovene MR, Bombac F, MarescaR, Sapone A, Iardino P, Marotta R, Schiraldi C, Serra N, Magistis L, Bravaccio C. Intestinal dysbiosis and yeast isolation in stool of subjects with autism spectrum disorders. *Micopathologia* Published 21 septiembre 2016. Visitada: mayo 2017.
 24. Carding S, Verbeke K, Vipond D.T, Corfe B. M, Owen L.J. Dysbiosis of the gut microbiota in disease. *Microb Ecol Health Dis* 2015; 26:1-9.
 25. Marcus N. Síndrome del intestino permeable (leaky gut) y su relación con las enfermedades. In 27 Congreso nacional AMMFEN 2012; Puerto Vallarta. p. 1-5.
 26. Aziz Q, Dore J, Emmanuel A, Guarner F, Quigley E.M.M. Gut microbiota and gastrointestinal health: current concepts and future directions. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 4–15.
 27. Vitamina B6 Nutrifacts. www.nutri-facts.org visitada el 22-02-2017
 28. Rubio C, Weller G. D, Izquierdo R.E, Revert C, Rodríguez I, Hardisson A. El zinc: oligoelemento esencial. 2007; 22(1): 101-107.
 29. Juárez E. Autismo: Consecuencia de la contaminación. Solucionando el problema. T. Ed. MA&M Editores. 2009.

30. Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, García B, Díaz G. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: Nutrición bioquímica y salud 2006; REB 25 (3): 72-79.
31. Delgado S. Microbiota intestinal humana: análisis y evolución de poblaciones representativas e identificación de bacterias probióticas. Tesis Doctoral. Oviedo- 2005.
32. Rodríguez G. Actualización ácido fólico y vitamina B12 en la nutrición humana e higiene de los alimentos. Revista Cubana Alimet Nutr 1998 12 (2): 107-19.
33. Farías MM, Silva C, Rozowski J. Microbiota intestinal: rol en la obesidad. Rev Chil Nutr 2011; 38(2): 228-233.
34. O'Sullivan DJ. 2000. Methods for analysis of the intestinal microflora. Curr Issues Intest Microbiol 1: 39-50.
35. Genus SJ, Bouchard TP. Celiac Disease Presenting as Autism. Journal of Child Neurology 2010; 25(1).
36. Adams A, Johansen L, Powell L, Quig D, Rubin R. Gastrointestinal flora and gastrointestinal status in children with autism—comparisons to typical children and correlation with autism severity. BMC Gastroenterology 2011; 11(22):1-13.
37. García Mazcorro J, Garza Gonzalez E, Marroquín- Cardona A, Tamayo J. Caracterización, influencia y manipulación de la microbiota gastrointestinal en salud y enfermedad Gastroenterología y Hepatología 2015. www.elsevier.es/gastroenterología. Visitado julio 2017.
38. Dibaise J, Young R, Vanderhoof J. Enteric Microbial flora bacterial overgrowth and short bowel syndrome. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2006, 4: 11-20.
39. Kang S, Denman S, Morrison M, Yu Z, Dore J, Leclerc M, Dysbiosis of faecal microbiota in Crohn's disease patients as revealed by a custom phylogenetic microarray. Inflammatory bowel disease 2010; 16 (12): 2034-2042.

40. Uranga J, López M, Lombo F, Abalo R. Food Nutrients and Nutraceuticals affecting the course of inflammatory bowel disease. *Pharmacological Report* 2016 (499).
41. Jeffery I, Toole P, Öhman L, Claesson M, Deane J, Quigley E. An irritable bowel síndrome subtype defined by species- specific alteration in faecal microbiota *GUT* 2012, 61: 997-1006.
42. Kwan Chan Y, Estaki M, Gibbson D. Consecuencias clínicas de la disbiosis inducida por la dieta. *Ann Nutr Metab* 2013; 63: 28-40.
43. Garret W, Gallini C, Yatsumenko T, Michaud M, DuBois A, Delaney M, Punit S, Karlsoon M, Bry L, Glickman J, Gordon J, Onaerdonk A, Glimcher L. Enterobacteriaceae act in concert with Gut Microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe* 2010; 8 (3): 292-300.
44. Strune C, Krogfelt K, Role of capsule in *Klebsiella pneumoniae* virulence lack of correlation between in vitro and in vivo studies. *FEMS microbiology lettres* 2003; (218) 149-154.
45. Mönckerberg F, Corsini G. Microbiota Intestinal, metabolismo y balance calórico. *Gut Microbiota, metabolism and caloric balance Rev Chil Nutr* 2011; 38 (4): 477-481.
46. Marekova M, Lavkova A, DeVuyst L, Skaugen M, Neg I. Partial Characterization of bacteriocins produced by environmental strain *Enterococcus faecium* EK13. *Journal of Applied Microbiology* 2003; 94: 523-530.
47. Quinlong Y, Yifang G, Li X, Yang W, Jia L, Chen C, Han Y, Zhao L, Li P, Fang Z, Zhou J, Guan X, Ding Y, Wang S, Khan M, Xin Y, Li S, Ma Y. Alterations of the Gut Microbiome in Hypertension. [Sci-hub.io/http://journal.frontiersin.org](http://journal.frontiersin.org). Visitada 10-09-2017.
48. Horvath K, Perman J. Autistic disorder and gastrointestinal disease. *Current Opinion in Pediatrics* 2002; 14: 583-587.

49. Molloy C, Manning-Courtney P. Prevalence of chronic gastrointestinal symptoms in children with autism and autistic spectrum disorder. *The National Autistic Society* 2003; 7(2): 165-171.
50. Chaidez V, Hansen R, Hertz-Picciotto I. Gastrointestinal problems in children with autism, developmental delays or typical development 2014; *J Autism Dev Disord.* 44 (5): 1117-1127.
51. Sherwin E, Dinam T, Cryan J. Recent developments in understanding the role of the Gut microbiota in brain health disease. *Ann N.Y. Acad. Sci* 2017; ISSN. 077-8923. 1-21.
52. Wu GD, Chen J, Hoffman C, Bittinger K, Chen YY, Keilbaugh SA, Bewtra M, Knights D, Walters WA, Knight R, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes. *Science* 2011; 334:105-108.
53. Shattock P., Whiteley P. Biochemical aspects in autism spectrum disorders: updating the opioid-excess theory and presenting new opportunities for biomedical intervention. *Expert Opin. Ther* 2002; *Targets* 6, 175–183 10.1517/14728222.6.2.175.
54. Reichelt K. L., Tveiten D., Knivsberg A.-M., Brønstad G. Peptide's role in autism with emphasis on exorphins. *Microbial. Ecol. Health Dis* 2012; 23 18958.
55. Vallés A. Estudio observacional de un tratamiento biológico y dietético de los trastornos del espectro autista. *AAPS* 2007.
56. Knivsberg A, Reichelt K, Høien T, Noland M. Effect of a Dietary Intervention on Autistic Behavior 2003; 18 (4): 248-257.
57. Millward C, Ferriter M, Calver S, Connell-Jones G. Dietas libres de gluten y caseína para el trastorno del espectro autista (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus*, 2008 Número 4. Oxford: Update Software Ltd. Disponible en:

<http://www.update-software.com>. (Traducida de The Cochrane Library, 2008 Issue 3. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).

58. Ghosh S, DeCoffe D, Brown K, Rajendiran E, Estaki M, Dai C, Yip A, Gibson DL. Fish Oil Attenuates Omega-6 Polyunsaturated Fatty Acid Induced Dysbiosis and Infectious Colitis but Impairs LPS Dephosphorylation Activity Causing Sepsis. Plos One 2013; 8: e55468.
59. Walsh W. Nutrient Power: Heal your biochemistry and heal your brain. Ed. Skyhorse publishing. New York 2014.

Anexo 1

Recolección de datos para II protocolo de trabajo especial

“Estudio de la alteración de la Microbiota Gastrointestinal aeróbica como causante de disbiosis después de un tratamiento biológico y nutricional en niños con Trastornos del Espectro Autistas”

Datos Personales:

Apellido y Nombre del paciente: _____

Edad: _____ Sexo: _____ N° de protocolo: _____

Nombre y Apellido del representante: _____

Datos epidemiológicos:

Verbal: _____ No verbal: _____

Toma pre-bióticos: _____ Antibióticos y otros: _____

Gluten: _____ Caseína: _____

Muestra:

Recolección normal: _____ Hisopado rectal: _____

Síntomas y signos gastrointestinales:

Dolor abdominal: _____ Diarrea: _____

Estreñimiento: _____

Alteraciones del Neurodesarrollo:

Aleteos: _____ Autoagresión: _____ Berrinches y pataletas continuas: _____

Insomnio: _____ Otros: _____

Anexo II

Modelo de Reporte



Universidad Central de Venezuela.
Facultad de Medicina.
Escuela de Bioanálisis.
Laboratorio de investigaciones
Básicas y Aplicadas.



N° ESTUDIO TEA

NOMBRE

EDAD

NUMERO DE EXAMEN:

SEXO:

INFORME MICROBIOLÓGICO AERÓBICO DE HECES

Microbiota gastrointestinal	Crecimiento cuadrantes	I	Agente(s) causal(es) de Disbiosis	Grado de disbiosis
Microbiota benéfica				
<i>Escherichia coli</i>	4(+)	N		
<i>Enterococcus faecalis</i>	4(+)	N		
Microbiota transitoria				
<i>Escherichia fergusonii</i>	4(+)	A	<i>Escherichia fergusonii</i>	III
<i>Enterococcus faecium</i>	4(+)	A	<i>Enterococcus faecium</i>	
<i>Candida tropicalis</i>	1(+)	N		
Microbiota enteropatógena				
Negativa				

I: INTERPRETACIÓN

A: aumentada, N: normal, D: disminuida, X: ausente

Lic. Xiomara Moreno Br. Andrea Olivares