

# Microbiota gastrointestinal aeróbica en niños con trastorno del espectro autista. Estudio preliminar

**Autores** Xiomara Moreno,<sup>1</sup> Giancarlo Santamaria,<sup>2</sup> Roger Sánchez,<sup>2</sup> Beatriz De la Torre,<sup>3</sup> Fátima Garcés,<sup>3</sup> Celsy Hernández,<sup>3</sup> Clara Martínez,<sup>3</sup> Ana Márquez,<sup>4</sup> Karolina López<sup>5</sup>

**Afiliaciones** <sup>1</sup>Departamento de Microbiología "Instituto Médico la Floresta". Caracas-Venezuela  
<sup>2</sup>Escuela de Bioanálisis "Universidad Central de Venezuela", Caracas-Venezuela  
<sup>3</sup>Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Escuela de Bioanálisis "Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela.  
<sup>4</sup>Unidad de Autismo "Maternidad Concepción Palacios", Caracas-Venezuela  
<sup>5</sup>Unidad de Gastroenterología y Nutrición Pediátrica Hospital General "Dr. Miguel Pérez Carreño", IVSS. Caracas-Venezuela

Revista GEN (Gastroenterología Nacional) 2015;69:(2):36-44 Sociedad Venezolana de Gastroenterología, Caracas, Venezuela. ISSN 0016-3503.

Autor correspondiente: Xiomara Moreno Calderón. Especialista en Micología Médica. Microbiólogo del Departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta.

Correo-e: x.morenoc@hotmail.com; xmorenoc@cantv.net

## Resumen

**Introducción:** la alteración de la microbiota intestinal o Disbiosis ha sido implicada en los cambios de comportamiento del neurodesarrollo y problemas gastrointestinales en pacientes con trastorno del espectro autista (TEA). **Objetivo:** evaluar la microbiota intestinal aeróbica (MGIA) y clasificarla en beneficiosa, transitoria y enteropatógena en niños con TEA en la Unidad de Autismo-Maternidad Concepción Palacios. **Pacientes y métodos:** desde el 26/02/2015 al 12/05/2015 se estudiaron de forma experimental y prospectiva 39 niños diagnosticados con TEA; en el estudio de la MGIA se utilizaron muestras de heces. Se aplicó una encuesta para recopilar datos epidemiológicos, clínicos y comportamientos del neurodesarrollo. Se propone la clasificación de severidad de la disbiosis en grado I,II,III o ausente para la evaluación de la MGIA. **Resultados:** Fueron 27 niños (69,23%) y 12 niñas (30,77%), con una edad media de 6,3. Disbiosis 31 (79,5%), Disbiosis ausente 8 (20,5%). Según el grado de disbiosis, 5 (16,13%) Grado I, 7 (22,58%) Grado II, 19 (61,29%) Grado III. Los principales agentes causales de disbiosis fueron *Klebsiella spp.* 16, *Proteus mirabilis* 8, *Streptococcus sp.* 6, *Serratia marcescens* 5, *Candida spp.* 4. Dos niños presentaron *Campylobacter coli* como MGIA patógena. Manifestaciones gastrointestinales: 25,80% dolor abdominal, 16,13% diarrea y 38,7% estreñimiento. Trastornos del neurodesarrollo: 50% aleatorios, 34% autoagresión, 61% berrinches, insomnio un 34,3%. **Conclusiones:** Se hace necesario comparar esta investigación con un grupo de niños sin TEA para confirmar que la presencia de disbiosis como causante de alteración de la MGIA se presenta con más frecuencia en niños con TEA.

**Palabras clave:** Trastornos del Espectro Autista, Disbiosis, Microbiota Gastrointestinal aeróbica, Manifestaciones gastrointestinales, Alteraciones en el Neurodesarrollo.

## GASTROINTESTINAL MICROBIOTA AEROBIC IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS. PRELIMINARY STUDY

### Summary

**Background:** altering the intestinal microbiota or Dysbiosis has been implicated in the changes the behavior of neurodevelopmental and gastrointestinal problems in patients with autism spectrum disorder (ASD). **Objective:** To evaluate aerobic intestinal micro-biota (AMGI) and rank it beneficial, transitory and enteropathogenic in children with ASD, the Autism Unit-Maternidad Concepcion Palacios. **Patients and Methods:** From 26/02/2015 to 05/12/2015 were studied experimentally and prospectively 39 children diagnosed with ASD; in this study the AMGI stool samples were used. A survey to collect epidemiological, clinical and neurodevelopmental behavior was applied. Severity classification dysbiosis proposed in grade I, II, III or absent for evaluating the AMGI. **Results:** There were 27 kids (69.23%) and 12 girls (30.77%) with a mean age of 6.3. Dysbiosis 31 (79.5%), Dysbiosis absent eight (20.5%). Depending on the degree of dysbiosis, 5 (16.13%) Grade I, 7 (22.58%) Grade II, 19 (61.29%) Grade III. The main causative agents of dysbiosis were *Klebsiella spp.* 16, *Proteus mirabilis* 8, *Streptococcus sp.* 6, *Serratia marcescens* 5, *Candida spp.* 4. Two children presented MGIA pathogenic *Campylobacter coli*. Gastrointestinal symptoms: 25,80% abdominal pain, 16.13% diarrhea and 38.7% constipation. Neurodevelopmental disorders:

50% flapping, 34% self-harm, 61% tantrums and 34.3% insomnia.

**Conclusion:** It is necessary to compare this research with a group of children without ASD to confirm the presence of dysbiosis to cause impaired MGIA occurs most often in children with ASD.

**Key words:** Autism Spectrum Disorders, Dysbiosis, Aerobic Microbiota Gastrointestinal, Gastrointestinal Manifestations, Neuro-developmental Disorders.

## Introducción

El autismo es un trastorno del neurodesarrollo, caracterizado por alteraciones en la interacción social, el desarrollo del lenguaje y un patrón restringido o estereotipado de los intereses y las actividades, relacionándose con el desarrollo anormal del cerebro antes del nacimiento y durante la infancia.<sup>1,2</sup> El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), reporta en su informe semanal de Morbilidad y Mortalidad del 28 marzo 2014, que la incidencia del Trastorno del Espectro Autista (TEA), se estima en 14,7 de cada 1,000 niños, en el que 1 de 68 niños con un promedio de 8 años son diagnosticados con TEA en los Estados Unidos; señalando un aumento del 30% de prevalencia respecto a estadísticas anteriores donde 1 de cada 88 niños presentaban TEA.<sup>3</sup> En Venezuela, no existe un registro oficial de incidencia de TEA, pero se manejan algunas estadísticas, entre las cuales destaca la presentada por el servicio de Neuropediatría de la Maternidad Concepción Palacios, en la que registran que ocho de cada 10 pacientes atendidos son diagnosticados con el trastorno.<sup>4</sup> En la década de los sesenta se plantearon posibles causas microbiológicas como bacterias, virus, hongos y patógenos intracelulares, sobre todo a nivel del Tracto Gastrointestinal (TGI) que pudieran inducir una respuesta inmune, resultando en una inflamación neurológica, reacciones autoinmunes y posibles daños cerebrales.<sup>1,5</sup>

Estudios sobre la inflamación del TGI afirman que en el autismo estos síntomas se presentan con mayor severidad. El equilibrio de la pared intestinal cumple un papel importante en la adecuada absorción de nutrientes, la cual permite el bloqueo de ciertas toxinas provenientes de bacterias, alérgenos y péptidos procedentes de los alimentos, los cuales pueden ser ofensivos, al pasar a circulación sistémica por una alteración en la Permeabilidad Intestinal (PI), causando una diversidad de alteraciones en el neurodesarrollo, descritas en el autismo.<sup>2</sup>

Esta alteración en la PI sobreviene a causa de la inflamación de las paredes del TGI, donde puede verse involucrado el uso prolongado de antibióticos, antiinflamatorios no esteroideos, pesticidas, ausencia o insuficiencia de enzimas, toxinas microbianas, alimentos, malabsorción de proteínas, entre otros.<sup>2,6,7</sup> Al existir inflamación en la membrana intestinal, se altera su función inmunológica, por lo que la capacidad de absorción de nutrientes en la dieta es deficiente, presentándose un déficit en la producción enzimática, conduciendo a una alteración del microambiente donde se desarrollan los microorganismos que conforman el epitelio intestinal.<sup>8,9</sup> Estos microorganismos integran la denominada flora o microbiota intestinal, las cuales son entidades microbianas que conviven en las superficies mucosas, manteniendo un equilibrio simbiótico y benéfico con el hospedero en el que habitan.<sup>8,10</sup>

Algunos problemas de conducta relacionados con el neurodesarrollo en niños con TEA se han vinculado con el desequilibrio de la microbiota gastrointestinal causando confusión, hiperactividad, falta de concentración, letargo, irritabilidad y agresión, así como dolor abdominal, estreñimiento, gases, entre otros.<sup>11</sup> Sin embargo, la exposición repetida a los antibióticos, puede destruir la microbiota intestinal, lo cual puede

dar lugar a un crecimiento excesivo de especies de *Candida*, *Clostridium difficile* y la aparición por selección de bacterias resistentes a vancomicina como *Enterococcus gallinarum*.<sup>12</sup> Toda esta alteración gastrointestinal es denominada disbiosis intestinal y para hacer referencia sobre la misma, se necesita de la evaluación microbiológica de la microbiota intestinal presente en niños con TEA, razón por la cual se plantea evaluar la microbiota intestinal aeróbica (MGIA), clasificarla en beneficiosa, transitoria y enteropatógena, a la vez que se propone una clasificación de la disbiosis en niños con TEA en la Unidad de Autismo-Maternidad Concepción Palacios.

## Pacientes y Métodos

Estudio transversal, prospectivo, experimental y descriptivo basado en la recolección de datos epidemiológicos, clínicos y comportamientos del neurodesarrollo y muestras de heces, provenientes de 39 niños con TEA, evaluados en la Unidad de Autismo de la Maternidad Concepción Palacios y la Unidad de Gastroenterología y Nutrición del Hospital "Dr. Miguel Pérez Carreño" IVSS Caracas-Venezuela, entre febrero y mayo de 2015. A los padres se les solicitó el consentimiento informado, como también se les explicó la forma correcta para la recolección de la muestra de heces, conservación y transporte en medios microbiológicos: Stuart o Amies y Cary-Blair, los cuales contienen nutrientes específicos, de bajo potencial oxidoreducción y un pH adecuado para la recuperación de microorganismos.<sup>13</sup> Los criterios de inclusión fueron niños entre 3 y 13 años, que no estuvieran recibiendo antibióticos, anti-micóticos y probióticos mínimo un mes antes de realizarse el estudio de la MGIA. Se elaboró una ficha para recolectar la información proveniente de las historias médicas, observaciones del médico y padres; registrándose edad, sexo clínica, signos, síntomas gastrointestinales y conductas del neurodesarrollo.

En el procesamiento de las muestras en el laboratorio 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) y CNA (Agar sangre con suplemento CNA-Oxoid), para la obtención de bacterias enteropatógenas, flora benéfica y transitoria incluyendo Gram negativos y Gram positivos. 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). En la 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 de heces se sembraron en base a cuatro cuadrantes, para su posterior lectura e interpretación. Los microorganismos en estudio se identificaron por pruebas bioquímicas convencionales, prueba de filamentización en suero, medios automatizados (VITEK® 2 Compact) y pruebas de aglutinación.

Las condiciones de la MGIA fueron evaluadas en base al crecimiento de microorganismos beneficiosos, transitorios y/o presencia de enteropatógenos aeróbicos, utilizando como in-

dicador de microbiota beneficiosa a *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) los cuales siempre deben estar en mayor cantidad que los demás, en una proporción de 3 a 4 cruces (+) de crecimiento en placa. Mientras que la flora transitoria como *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Candida spp.*, entre otras,<sup>14</sup> deberían encontrarse ausentes o hasta 1 (+). La microbiota enteropatógena no es evaluada por cuadrantes debido a que son patógenos verdaderos como *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Aeromonas sp.*, *Plesiomonas sp.*, *Vibrions sp.* y *Campylobacter sp.* Cada cruz corresponde a un cuadrante de siembra y la escala es la siguiente (15): 1(+): cre-cimiento escaso (<103) UFC/gH; 2(+): crecimiento leve (103-104) UFC/gH; 3(+): crecimiento moderado (105-106) UFC/ gH; 4(+): crecimiento abundante (>107) UFC/gH.

En la interpretación de la disbiosis se propone clasificarla en números romanos de la siguiente manera: Grado de disbiosis I: microbiota gastrointestinal transitoria con crecimien-to hasta el segundo cuadrante (2+). Grado de disbiosis II: microbiota gastrointestinal transitoria con crecimiento hasta el tercer cuadrante (3+). Grado de disbiosis III: microbiota gastrointestinal transitoria con crecimiento hasta el cuarto cua-drante (4+). Ausencia de disbiosis: microbiota gastrointestinal transitoria ausente o con crecimiento en el primer cuadrante el cual es considerado normal para este tipo de gérmenes 1(+).

En los procedimientos estadísticos de esta investigación se utilizó el programa estadístico SPSS versión 20 para Windows. Todas las variables fueron descritas utilizando porcentajes. Para comparar los datos cualitativos se utilizó Chi-cuadrado, como también la prueba de Kruskal Wallis para la comparación de poblaciones microbianas. El intervalo de confianza fue de un 95% con una significancia de  $p < 0.05$ .

## Resultados

El grupo en estudio fue de 39 niños con edades comprendi-das entre 3 y 13 años cuya media fue de  $6.8 \pm 2.98$ . De los cuales 28 (71.8%) fueron género masculino y 11 (28.2%) gé-nero femenino. No se reportó disbiosis en 8 niños (20.50%). Se encontró disbiosis en 31 niños (79.48%), los cuales fueron agrupados en Grado I: 5 pacientes con 16.13%. Grado II: 7 pacientes con 22.58% y Grado III: 19 pacientes con 61.3%; este grupo representa la mayoría de niños que presentaron disbiosis con un único microorganismo como agente causal de disbiosis. También se observa que la multicasualidad en el desarrollo de disbiosis presenta un porcentaje decreciente a medida que más microorganismos están implicados en el grado. Solo se reportó un caso de disbiosis con cuatro microorganismos en un paciente con disbiosis grado III, que representa un 3.2%, **Cuadro 1**.

**Cuadro 1** Número de microorganismos implicados en los diferentes grados de disbiosis y porcentajes

Número de Microorganismos	Grado Disbiosis I	Grado Disbiosis II	Grado Disbiosis III	n (%)
1 germen	5	4	10	19 (61.3)
2 germen	0	1	6	7 (22.6)
3 germen	0	2	2	4 (12.9)
4 germen	0	0	1	1 (3.2)
<b>Total</b>	<b>5</b>	<b>7</b>	<b>19</b>	<b>100</b>

La presencia de *E. coli* como flora benéfica se encontró en 34 niños (87.2%) en condiciones normales de acuerdo a los criterios establecidos en la interpretación del estudio de disbiosis, mientras que en 3 niños (7.7%) hubo ausencia, y en 2 niños (5.1%) se encontró disminuida. La presencia de *E. fae-calís* como flora benéfica estuvo ausente en 3 niños (7.7%) y se encontró disminuido en 9 niños (23.1%) **Cuadro 2**; la microbiota transitoria debido a la gran variedad encontrada se detalla de acuerdo a su crecimiento, interpretación y porcentajes en los **Cuadros 2 y 3**. Al aplicar la prueba estadística de Kruskal-Wallis para determinar si existe diferencia entre

*K. pneumoniae*, *P. mirabilis* y *S. marcensces* como gérmenes transitorios mayormente aislados y los diferentes grados de disbiosis propuestos, se obtuvo un valor de  $P 0.030 < p 0.050$ , expresando que el crecimiento de estos tres gérmenes varía entre los diferentes grados de disbiosis ( **Cuadro 5**) es decir, que su crecimiento varía según el grado de disbiosis y la media de crecimiento se ubica entre el grado de disbiosis

II y III , ver **Figura 1**. Dos niños presentaron *Campylobacter coli* como agente enteropatógeno.

En este estudio la disbiosis por especies de *Candida* solo estuvo incrementada en 4 niños, a expensas de *Candida tropicalis* en 2 niños (5.1%), *Candida glabrata* y *Candida krusei* con 1 niño por especie (2.6%) respectivamente. Las demás especies aisladas se observan en el **Cuadro 3**.

Las manifestaciones gastrointestinales como signos y síntomas más comunes en niños con TEA fueron dolor abdominal 8 (25.80%), diarrea 5 (16.13)% y estreñimiento 12 (38.7%), los restantes se detallan en el **Cuadro 4**. Entre los trastornos de conducta más relevantes en el neurodesarrollo de niños con TEA que se tomaron en consideración fueron: aleteos 17 (50%), autoagresión 12 (34%), berrinches, 22 (61%) e insomnio 12 (34.3%), datos más detallados en el **Cuadro 4**. La diferencia entre el número total de niños (39 pacientes) y el número de variables analizadas (manifestaciones gastroin-

testinales y alteraciones del neurodesarrollo), no pudieron ser recopiladas por su ausencia en las historias clínicas y/o los padres tampoco proporcionaron la información.

**Cuadro 2** Microbiota aeróbica benéfica (*E. coli* y *E. faecalis*) y transitoria (todas las demás investigadas diferentes a *E. coli* y *E. faecalis*), su interpretación y porcentajes en niños con TEA.

Microbiota Aeróbica	Interpretación	nº	%
<i>Escherichia coli</i>	Normal	34	87,2
	Disminuida	2	5,1
	Ausente	3	7,7
<i>Enterococcus faecalis</i>	Normal	27	69,2
	Disminuida	9	23,1
	Ausente	3	7,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Ausente	26	66,7
	Normal	2	5,1
	Aumentado	11	28,2
<i>Proteus mirabilis</i>	Ausente	25	64,1
	Normal	6	15,4
	Aumentado	8	20,5
<i>Serratia marcescens</i>	Ausente	32	82,1
	Normal	2	5,1
	Aumentado	5	12,8
<i>Klebsiella ozaenae</i>	Ausente	37	94,9
	Normal	0	0
	Aumentado	2	5,1
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	Ausente	37	94,9
	Normal	0	0
	Aumentado	2	5,1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	0	0
	Aumentado	1	2,6
<i>Serratia odorifera</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	0	0
	Aumentado	1	2,6
<i>Citrobacter freundii</i>	Ausente	36	92,3
	Normal	0	0
	Aumentado	3	7,7
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Ausente	37	94,9
	Normal	0	0
	Aumentado	2	5,1
<i>Enterobacter sakizakii</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	0	0
	Aumentado	1	2,6

*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* : normal de 4 a 3 (+), disminuido: de 2 a 1 (+), Ausente: ningún crecimiento. Otras enterobacteria diferentes a *Escherichia coli*: normal hasta 1(+), aumentado de 2 a 4 (+). nº: número de microorganismos. %: porcentajes de los microorganismos de acuerdo a su crecimiento. TEA: trastorno del espectro autista.

**Cuadro 3** Microbiota aeróbica transitoria, interpretación y porcentajes en niños con TEA.

Microbiota Aeróbica	Interpretación	nº	%
<i>Streptococcus sp.</i>	Ausente	30	76,9
	Normal	3	7,7
	Aumentado	6	15,4
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	33	84,6
	Normal	4	10,3
	Aumentado	2	5,1
<i>Staphylococcus sp.</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	0	0
	Aumentado	1	2,6
<i>Candida albicans</i>	Ausente	33	84,6
	Normal	6	15,4
	Aumentado	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	Ausente	32	82,1
	Normal	5	12,8
	Aumentado	2	5,1
<i>Candida glabrata</i>	Ausente	37	94,8
	Normal	1	2,6
	Aumentado	1	2,6
<i>Candida krusei</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	0	0
	Aumentado	1	2,6
<i>Candida rugosa</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	1	2,6
	Aumentado	0	0
<i>Sacharomyces cerevisiae</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	1	2,6
	Aumentado	0	0
<i>Trichosporon sp.</i>	Ausente	38	97,4
	Normal	1	2,6
	Aumentado	0	0

Cocos gram positivos diferentes a *Enterococcus faecalis*, especies de *Candida* y levaduras: normal hasta 1 (+), aumentado de 2 a 4 (+). nº: número de microorganismos. %: porcentajes de los microorganismos de acuerdo a su crecimiento. TEA: trastorno del espectro autista.

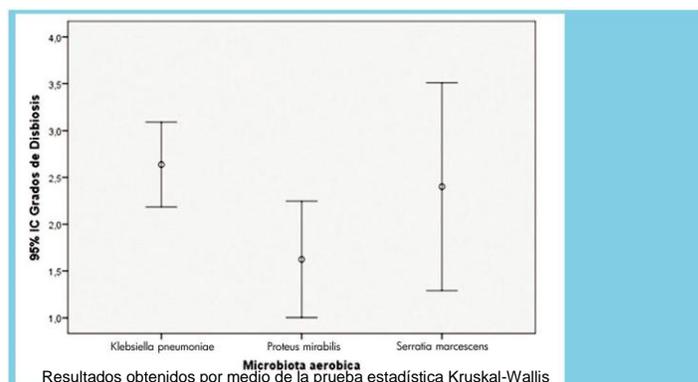
**Cuadro 4** Manifestaciones gastrointestinales, alteraciones en el neurodesarrollo, grado de disbiosis, porcentajes y su significancia estadística en pacientes con TEA. n (39)\*.

Microbiota Aeróbica	Interpretación	Disbiosis Negativa	Disbiosis Grado I	Disbiosis Grado II	Disbiosis Grado III	%	p
Dolor Abdominal (n° 31)	Presente	2	0	3	3	25,8	0,366
	Ausente	5	3	3	12	74,2	
Diarrea (n° 31)	Presente	1	1	0	3	16,1	0,574
	Ausente	6	2	6	12	83,9	
Estreñimiento (n° 31)	Presente	1	1	3	7	38,7	0,472
	Ausente	6	2	3	8	61,3	
Nauseas (n° 29)	Presente	0	0	1	1	6,9	0,669
	Ausente	6	3	5	13	93,1	
Enrojecimiento anal (n° 31)	Presente	0	1	0	1	6,5	0,375
	Ausente	6	3	6	14	93,5	
Bruxismo (n° 31)	Presente	2	0	1	6	29,0	0,386
	Ausente	6	3	5	8	71,0	
Aleteos (n° 34)	Presente	2	2	4	9	50,0	0,383
	Ausente	6	1	2	8	50,0	
Autoagresión (n° 35)	Presente	3	1	2	6	34,3	0,978
	Ausente	5	3	4	11	65,7	
Berrinches (n° 36)	Presente	6	2	5	9	61,1	0,649
	Ausente	2	2	2	8	38,9	
Insomnio (n° 35)	Presente	3	1	2	6	34,3	0,986
	Ausente	5	2	5	11	65,7	
Capacidad Verbal (n° 35)	Verbal	6	4	5	11	74,3	0,643
	No Verbal	2	0	2	5	25,7	

\* La diferencia entre el n° total de niños (39 pacientes) y el n° de variables analizadas (manifestaciones gastrointestinales y alteraciones del neurodesarrollo), no pudo ser recopilada por su ausencia en las historias clínicas y/o los padres tampoco proporcionaron la información. TEA: trastorno del espectro autista. %: porcentaje de las variables. p: significancia estadística.

**Cuadro 5** Prueba de Kruskal-Wallis para determinar si existe diferencias significativas en el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Serratia marcescens* en los diferentes grados de disbiosis.

Microorganismo	n	X	P
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	11	15,50	0,030
<i>Proteus mirabilis</i>	8	7,63	
<i>Serratia marcescens</i>	5	13,70	
<b>Total</b>	<b>24</b>		



**Figura 1** Gráfico de barras de error, que demuestran la existencia de diferencias significativas en el crecimiento de *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Serratia marcescens* en los diferentes grados de disbiosis en niños con TEA

## Discusión

En el presente estudio se determinó que los niños con TEA presentan disbiosis en diferentes grados. En los últimos años se han descrito hipótesis donde se discute la variación en la composición de la microbiota intestinal como posible causa de alteraciones en las conductas del neurodesarrollo en estos niños. Estos cambios vienen relacionados con la población en estudio que se seleccione, la cual no debe ser directa sino al azar para obtener una mejor incidencia en la investigación. La mayoría de estudios poblacionales en niños con TEA el género masculino prevalece sobre el femenino, los datos obtenidos en este estudio fueron más niños que niñas (28/11) datos que coinciden con otras publicaciones.<sup>15,11,16</sup>

Los microorganismos que constituyen el ecosistema de la microbiota gastrointestinal, se clasifican en dos importantes grupos: el grupo de microorganismos que habitan permanentemente como colonizantes y que van a aportar funciones benéficas al sistema, y el grupo de microorganismos que se comportan como microbiota transitoria proveniente de la ingesta y digestión diaria de los alimentos.<sup>14</sup>

La microbiota gastrointestinal aeróbica constituye aproximadamente el 30%, mientras que el 70% pertenece a la microbiota anaeróbica,<sup>17</sup> caracterizándose este estudio por el análisis de la MGIA. Existen pocos estudios sobre la evaluación de esta parte de la microbiota gastrointestinal, sobre todo en niños con TEA que presentan problemas gastrointestinales. *E. coli* representa a nivel de colon solo un 0.1% de la microbiota aeróbica que compone el grupo de las enterobacterias.<sup>18</sup> Las especies de *E. coli* diferentes a *E. coli* enterotoxigénica, estimulan el sistema inmunitario y la síntesis de defensina e inmodulación, por lo que una disminución o ausencia de *E. coli* en la microbiota fecal podría afectar negativamente la nutrición de los enterocitos.<sup>19,20</sup> Enterobacterias diferentes a *E. coli*, también sintetizan sustancias tóxicas contra las bacterias enteropatógenas, entre ellas tenemos: *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Citrobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Pseudomonas spp.*, entre otras. Este tipo de enterobacterias se encuentran en el humano en cantidades limitadas, asociándose a la ingesta diaria de alimentos.<sup>14,18</sup> En el presente estudio fueron investigadas de acuerdo a los criterios establecidos, denominándolas transitorias. *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) fue el germen más aislado, en 11 niños (28.2%) y el que mayor prevaleció en el grado III, seguido de *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*), aislado en 8 niños (20.5%) y 5 niños (12.8%) con aislamientos aumentados de

*Serratia marcescens* (*S. marcescens*).

*K. pneumoniae* y *P. mirabilis* son responsables de inducir colitis y cáncer colorectal.<sup>19,20,21</sup> Gonzalez et al.,<sup>16</sup> en 36 niños con TEA reportaron 73.91% de colitis crónica activa severa con hiperplasia linfóide y un 26.09% de colitis crónica activa severa sin hiperplasia linfóide. Este estudio no confirmó el agente causal de la colitis. Infecciones oportunistas por *K. pneumoniae* y *P. mirabilis*, son más conocidas causando infecciones a nivel respiratorio y urinario, sin embargo se observa con más frecuencia en heces de pacientes con colitis ulcerosa que en controles sanos.<sup>21</sup> Malas condiciones de higiene se

relacionan con colonizaciones tempranas por enterobacterias, por lo que se produce un desequilibrio en la composición de la microbiota gastrointestinal,<sup>10</sup> así como también la exposición temprana a antibióticos. Estudios relacionan a *Klebsiella oxytoca* (*K. oxytoca*) como causante de colitis hemorrágica asociada a antibióticos tales como amoxicilina, amoxicilina-ácido clavulánico y claritromicina.<sup>22,23</sup> Un estudio realizado por Adams et al.,<sup>15</sup> encontraron 1.7% de aislados de *K. oxytoca* en 58 niños con TEA.

*E. faecalis* favorece la protección de mucosas, la síntesis de IgA y la resistencia a la colonización.<sup>24,25</sup> Un estudio en niños con TEA aislaron  $0.81 \pm 1.4$  de *E. faecalis* en un rango de 0-4.<sup>15</sup> Especies de *Enterococcus* diferentes a *E. faecalis* resistentes a ampicilina y a vancomicina no fueron aislados en esta investigación. En la presente investigación *Streptococcus*  $\alpha$  hemolítico se encontró aumentado en 6 niños (15.4%), *S. aureus* en 2 niños (5.1%) y *Staphylococcus coagulans* negativa en 1 niño (2.6%), **Cuadro 3.** Un estudio en niños con TEA identificó 13.8% de *S. aureus*, con resultados casi similares a esta investigación y 13% de *Streptococcus*  $\alpha$  hemolíticos.<sup>15</sup> Especies de *Candida* y levaduras son consideradas como microbiota normal a nivel intestinal, y no superan 104 UFC/gH.<sup>14,26</sup> Una alteración en el sistema gastrointestinal puede aumentar el crecimiento de este tipo de hongos, pero especies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterias* y algunas especies de *Bacteroides* actúan de manera inhibitoria mediante la producción de ácidos grasos de cadena corta y bacteriocinas.<sup>24</sup> Otro estudio venezolano identificó de manera indirecta 8 niños con aislamientos de *Candida*, pero no establecieron las condiciones de microbiota normal o si estaban aumentadas.<sup>2</sup> Emam et al.,<sup>11</sup> describen un estudio sobre *Candida albicans* donde 15 niños (18.1%) tenían cultivos negativos, 22 niños (26.5%) tenían crecimiento mínimo y 46 niños (55.4%) tenían crecimiento elevado; pero los criterios de recolección de las muestras no fue la adecuada, ni hubo referencia del método utilizado para su recuento.

En cuanto a bacterias enteropatógenas, en 2 niños (5.13%) se aisló *Campylobacter coli* (*C. coli*), no se evidenciaron aislamientos de especies de *Salmonella*, *Shigella*, *Plesiomonas*, *Aeromonas* y *Vibrions*. La prevalencia de *Campylobacter coli* es cosmopolita, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Un gran número de infecciones por *C. coli*, son asintomáticas. Entre 5-10% de los casos presentan recaídas si no es tratada la campylobacteriosis. El hallazgo de portadores sanos en países sudamericanos es muy frecuente.<sup>25,27</sup>

Las diversas manifestaciones gastrointestinales observadas en niños con TEA en este estudio, coincide con diversos estudios realizados.<sup>15,28</sup> Un estudio realizado en los Estados Unidos en una población de 137 niños con TEA, el síntoma más común fue diarrea con un 17%,<sup>29</sup> resultado similar a esta investigación. Así también, un estudio recopilatorio publicado por la revista *The American Academy of Pediatrics*,<sup>28</sup> donde analizaron 15 publicaciones para un total de 2215 niños con TEA, refieren una prevalencia de mayor a menor: diarrea 80%, estreñimiento 60% y dolor abdominal 53%. Un estudio realizado en Venezuela donde evaluaron 45 niños con TEA el vómito fue el síntoma predominante en un 55.5%.<sup>16</sup> En el

presente trabajo, el vómito solo se presentó en 1 niño (2,6%). Sin embargo, como se observa en el **Cuadro 4**, en este estudio no se encontró correlación significativa  $p < 0.05$ , entre la evidencia de estas manifestaciones gastrointestinales y el grado de disbiosis, dado que dichas manifestaciones presentan una misma distribución en cada uno de los niveles de disbiosis planteados. Igualmente no hubo significancia estadística  $p < 0.05$  entre las alteraciones o conductas del neurodesarrollo y los diferentes grados de disbiosis propuestos.

Los problemas gastrointestinales son comunes en niños con TEA, y varían de acuerdo a la población en estudio y la metodología empleada. Cabe resaltar que en esta investigación en relación a la MGIA se encontraron microorganismos que cuando sobrepasan su estado normal de crecimiento, pueden verter al sistema intestinal toxinas y productos de su metabolismo capaces de causar signos y síntomas gastrointestinales, las bacterias principalmente involucradas fueron *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* y *Serratia marscescens*. La propuesta sobre la clasificación de los grados de disbiosis permite evaluar el tipo y duración del tratamiento. En cuanto a las conductas del neurodesarrollo y los grados de disbiosis, estas pudieran estar relacionadas con la condición, más que con la presencia de la infección gastrointestinal, por lo que pudieran presentarse con mayor intensidad en niños con TEA, que en niño con condiciones del neurodesarrollo normal. Se necesitan más estudios sobre la microbiota para poder entender la complejidad de los signos y síntomas y la etiología del TEA.

## Agradecimientos

Agradecemos al Concejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV) por su aporte parcial a nivel económico. Al Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Al Departamento de Microbiología del Instituto Médico la Floresta especialmente a la Lcda. Carolina Macero y al Lcdo. Gustavo Martínez, por su valiosa colaboración en el desarrollo parcial de la parte experimental de este trabajo.

## Clasificación

Área: pediatría

Tipo: clínico

Tema: microbiota gastrointestinal. Autismo

Patrocinio: Aporte parcial a nivel económico por el Concejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela (CDCH-UCV)

## Referencias bibliográficas

- Ratajczak H. Theoretical aspects of autism: Causes - A review. *Journal of Immunotoxicology*. 2011;8(1):68-79.
- González L. Manifestaciones Gastrointestinales en Trastornos del Espectro Autista. *Colombia Médica*. 2005 Abril-Junio; 36(2):36-38.
- Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network Surveillance Year 2010 Principal Investigators. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years — Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2014 Marzo; 63(2):1-22.
- De la Torre B, Hernández C. Trastornos del Espectro Autista: Caracterización a Través de Biomarcadores. *Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas*. 2013;16(2):62-69.
- Cuxart F. El Autismo. Aspectos Descriptivos y Terapéuticos Málaga: Ediciones Aljibe, S.L.; 2000.
- Vallés Runge A. Estudio Observacional de un Tratamiento Biológico y Dietético de los Trastornos del Espectro Autista. 2007;1-35.
- Hawrelak J. The Causes of Intestinal Dysbiosis: A Review. *Alternative Medicine Review*. 2014;9(2):180-197.
- 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.
- Dupont A, Dupont H. The Intestinal Microbiota and Chronic Disorder of the Gut. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2011;8(9):523-531.
- Gómez Duque M, Acero F. Composición y Funciones de la Flora Bacteriana Intestinal. *Repertorio de Medicina y Cirugía*. 2011;20(2):74-82.
- Emam M, Mamdouh E, Abdelrahim S. *Candida albicans* Infection in Autism. *Journal of American Science*. 2012; 8(12):739-744.
- Rodríguez C, García S, Barberis C, Saposnik E, Weyland B, Nastro M. *Enterococcus sp*: Resistencia Antimicrobiana en Infecciones Intrahospitalarias. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2013;47(1):155-160.
- Murray P. *Manual of Clinical Microbiology*. 7th ed. Washington DC; 1999.
- Soyucen E, Gulcan A, Cigdem Aktuglu-Zeybek A, 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.
- 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):1333-1341.
- González L, López K, Navarro D, Negrón L, Flores L, Rodríguez R, et al. Características Endoscópicas, Histológicas e Inmunológicas de la Mucosa Digestiva en Niños Autistas con Síntomas Gastrointestinales. *Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría*. 2006;69(1):19-25.
- Cortes B. La flora bacteriana intestinal.. Instituto de medicina biológica y antienvjecimiento. 2009.
- Beckman G, Rüffer A. *Mikroökologie Des Darmes: Grundlagen, Diagnostik, Therapie*, Schlütersche. 2000.
- Chow J, Tang H, Mazmanian S. Pathobionts of the gastrointestinal microbiota and inflammatory disease. *Curr Opin Immunol*. 2011;23(4):473-480.
- Garret W. Colitis-associated colorectal cancer driven by T-bet deficiency in dendritic cells. *Cancer Cell*. 2009;16(3): 208-219.

21. Garret W et al. Enterobacteriaceae act in cert with the gut microbiota to induce spontaneous and maternally transmitted colitis. *Cell Host Microbe*. 2010;2(3):292-300.
22. Beagerie L, Metz M, Barbut F. *Klebsiella oxytoca* as an agent of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2003;1:370-376.
23. Högenauer C, Langner C, Beubler E, Lippe I, Schicho R, Gorkiewicz G. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *N Engl J Med*. 2006;355:2418-2426.
24. Sonoyama K, Miki A, Sugita R. Gut colonization by *Candida albicans* aggravates inflammation in the gut and extra-gut tissues in mice. *Med Mycol*. 2011;49:237-247.
25. Fernández H. Campylobacter y campylobacteriosis una mirada desde america del sur. *Rev. Peru Med Exp Salud Publica*. 2011;28(1):127-27.
26. Bernhard H, Wellmer A, Zimmerman K, Knoke M. Growth of *Candida albicans* in normal and altered faecal flora in the model of continuous flow culture. *Mycoses*. 1995;38:265-270.
27. Nielsen H, Engberg J, Ejlersen T, Bucker R. Short-term and medium term clinical outcomes of *Campylobacter concius* infection. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:E459-E465.
28. Mc Elhanon B, Mc Cracken C, Karpen S, Sharp W. Gastrointestinal symptoms in autism spectrum disorders: A meta-analysis. *Pediatrics*. 2014 Mayo; 133(5):872-883.
29. Molloy C, Manning-Courtney P. Prevalence of chronic gastrointestinal symptoms in children with autism and autistic spectrum disorders. *Autism* 2003. 2003 Jul;2:165-171.



SOCIEDAD  
VENEZOLANA DE  
GASTROENTEROLOGÍA

SÍGUENOS!



@sovegastro



Sociedad Venezolana de  
Gastroenterología

o visítanos en nuestro portal Web  
[www.sovegastro.org](http://www.sovegastro.org)

**Envíanos tus sugerencias y entérate  
de nuestras más recientes actividades!**

Inscríbete en la Sociedad Venezolana de  
Gastroenterología y goza de  
innumerables beneficios:

- \* Recibe nuestros ejemplares educativos e informativos: GEN, Notigen y Notigen Digital
- \* Participa en las actividades de las secciones y los capítulos
- \* Inscríbete en el Fondo de Previsión Social
- \* Participa gratis o con descuento en nuestros congresos anuales.

Entre otros, que te mantendrán  
al día con las últimas tendencias.

Xiomara Moreno y col. Microbiata gastrointestinal aeróbica en niños con trastorno del espectro autista. Estudio preliminar. Revista Gen 2015;69(2):36-44