

Informe de Resultados del Proyecto: Impacto de un probiótico sobre el microbiota en niños con alteraciones del neurodesarrollo y su influencia en el lenguaje, conducta y aprendizaje

1. Introducción y justificación

Durante los últimos años, numerosos estudios han puesto de manifiesto la estrecha relación existente entre el sistema digestivo y el sistema nervioso central, conocida como eje intestino-cerebro. Esta conexión bidireccional implica mecanismos inmunológicos, endocrinos, metabólicos y neuronales que permiten a la microbiota intestinal influir sobre procesos cognitivos, emocionales y conductuales.

En los niños con trastornos del neurodesarrollo, como el trastorno del espectro autista, el trastorno por déficit de atención e hiperactividad o la parálisis cerebral, se ha descrito con frecuencia la presencia de alteraciones gastrointestinales. Dichos síntomas —estreñimiento, diarrea, dolor abdominal o digestiones lentas— suelen coexistir con desequilibrios en la microbiota intestinal (disbiosis), lo que sugiere un posible vínculo funcional entre el intestino y el cerebro en esta población.

1.1 Disbiosis intestinal y consecuencias

La **disbiosis** se define como un desequilibrio cuantitativo o cualitativo de los microorganismos que habitan el intestino. Puede deberse a factores genéticos, dietéticos, ambientales o al uso de fármacos. Cuando se produce, el intestino pierde parte de su capacidad reguladora e inmunomoduladora, lo que genera consecuencias en cadena:

- Inflamación intestinal crónica de bajo grado, con activación del sistema inmune.
- Aumento de la permeabilidad intestinal, que permite el paso de toxinas, fragmentos bacterianos y mediadores inflamatorios al torrente sanguíneo.
- Alteración del metabolismo de nutrientes y neurotransmisores esenciales, como serotonina y ácido γ -aminobutírico (GABA).
- Posible impacto en la conducta, el aprendizaje y el estado emocional, a través de la modulación del eje intestino-cerebro.

De hecho, se ha observado que un número importante de niños con alteraciones neurológicas presentan niveles anormales de zonulina, un marcador de permeabilidad intestinal, así como disminución de bacterias protectoras como *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus plantarum* o *Faecalibacterium prausnitzii*.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar el impacto de la administración de un probiótico específico sobre la microbiota intestinal y la permeabilidad intestinal en niños con trastornos del neurodesarrollo, analizando su posible relación con mejoras en parámetros conductuales, cognitivos y del lenguaje.

2.2 Objetivos específicos

- Analizar la composición bacteriana fecal antes y después de la intervención probiótica mediante técnicas de RT-PCR cuantitativa, determinando los cambios en la abundancia relativa de las principales especies intestinales.
- Comparar la evolución de los grupos placebo y probiótico, identificando si el tratamiento genera modificaciones diferenciales en el perfil microbiano.
- Evaluar los niveles fecales de zonulina como marcador de permeabilidad intestinal y analizar su relación con la intervención y con los cambios bacterianos observados.
- Correlacionar los resultados microbianos con parámetros de conducta, aprendizaje y lenguaje, obtenidos mediante cuestionarios y evaluaciones neuropsicológicas estandarizadas.
- Determinar la seguridad y tolerabilidad del probiótico en la población infantil con alteraciones del neurodesarrollo, verificando que su administración no induce disbiosis ni efectos adversos gastrointestinales.
- Explorar la relación entre los niveles basales de microbiota y la respuesta al tratamiento, con el fin de identificar posibles biomarcadores predictivos de eficacia.

De forma global, el proyecto busca explorar el vínculo entre microbiota intestinal y funcionamiento neuroconductual, evaluando el potencial del probiótico como modulador del eje intestino-cerebro en la población pediátrica con Trastorno del Neurodesarrollo.

3. Diseño del estudio

Ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, diseñado para evaluar el impacto de la administración de un probiótico sobre la microbiota intestinal, la permeabilidad intestinal y los parámetros neuroconductuales en niños con trastornos del neurodesarrollo (TND).

3.1 Población y muestra

- Participantes: Niños y niñas de entre 4 y 18 años diagnosticados con alteraciones del neurodesarrollo (autismo, TDAH, trastornos del lenguaje, etc.) escolarizados en la Fundación Querer.
- Tamaño muestral: Aproximadamente 50 sujetos, divididos en dos grupos paralelos:
 - Grupo probiótico (n ≈ 26): recibió la fórmula probiótica.
 - Grupo placebo (n ≈ 23): recibió un producto idéntico en apariencia y sabor, sin microorganismos activos.
- Todos los participantes contaron con el consentimiento informado firmado por los padres o tutores legales.

3.2 Evaluaciones y variables medidas

3.2.1 Muestras biológicas

Muestras fecales recolectadas en dos momentos:

- PRE (antes del inicio del tratamiento)
- POST (al finalizar los 5 meses de intervención)

Las muestras se conservaron en condiciones controladas y se analizaron mediante RT-PCR cuantitativa para determinar la abundancia casi absoluta ($\log_{10}$) de 23 especies bacterianas representativas.

Las especies bacterianas analizadas se agruparon según su función predominante:

- **Protectora:** *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Faecalibacterium prausnitzii*
- **Inmunomoduladora:** *Enterococcus spp.*, *Bacteroides spp.*
- **Muconutritiva:** *Akkermansia muciniphila*, *Ruminococcus spp.*
- **Neuroactiva:** *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium adolescentis*
- **Proteolítica:** *Clostridium spp.*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*
- **Fúngica:** *Candida albicans*, *Geotrichum candidum*

Se midió zonulina fecal como marcador de permeabilidad intestinal.

3.2.2 Evaluación clínica y conductual

- Cuestionarios de conducta adaptativa, atención, lenguaje y sociabilidad administrados a padres y profesores.
- Registro de síntomas gastrointestinales (frecuencia de deposiciones, consistencia, molestias).

3.2.3 Datos demográficos y antropométricos

3.2.4 Edad, sexo, peso y características clínicas básicas de los participantes.

4. Resultados:

4.1 Análisis de microbiota fecal

Se analizaron 23 bacterias principales mediante RT-PCR cuantitativa. Los valores absolutos fueron transformados a escala $\log_{10}$ para normalizar la distribución.

Normalidad de los datos: comprobada mediante Kolmogorov–Smirnov, Shapiro–Wilk y análisis de asimetría/curtosis.

Pruebas paramétricas se llevaron a cabo para bacteria con una distribución normal

- **T-test pareado** (pre vs post)
- **ANCOVA** ajustada por edad, sexo y valores basales.

Pruebas NO paramétricas se llevaron a cabo para bacteria con una distribución NO normal

- **Wilcoxon pareado** (comparación intragrupo pre–post).
- **Mann–Whitney U** (comparación entre grupos placebo vs probiótico).

Nivel de significación: $p < 0.05$ (bilateral).

Resultados de la Distribución de las bacterias

4.2.1 Bacterias con distribución normal:

- *Enterococcus spp.*
- *Bifidobacterium spp.*
- *Ruminococcus spp.*
- Número total de microorganismos
- Zonulina

Bacteria	Tipo de análisis	Comparación Pre–Post dentro del mismo grupo	Comparación entre grupos (Placebo vs Probiótico)	ANCOVA (ajustada por edad, sexo y valor basal)	Interpretación
<i>Enterococcus spp.</i>	T-test pareado / ANCOVA	Probiótico: p = 0.012 → mejora significativa	p = 0.284 → no significativa	No se detectaron efectos del grupo ni covariables	Tendencia positiva en el grupo probiótico, sin efecto concluyente del tratamiento
		Placebo: p = 0.539 → sin cambio			
<i>Bifidobacterium spp.</i>	T-test pareado / ANCOVA	Placebo: p = 0.047 → mejora significativa	p = 0.282 → no significativa	Grupo: ns (p = 0.31)	Mejora asociada al nivel inicial, sin efecto directo del probiótico
		Probiótico: p = 0.050 → tendencia		Valor basal: p = 0.001	
<i>Ruminococcus spp.</i>	T-test pareado / ANCOVA	Placebo: p = 0.456	p = 0.157 → no significativa	Grupo: ns (p = 0.63)	Estabilidad bacteriana; el valor inicial determina el resultado final
		Probiótico: p = 0.460 → sin cambios		Valor basal: p < 0.001	
<i>Nº total de microorganismos</i>	T-test pareado / ANCOVA	Sin diferencias significativas (p > 0.05)	p = 0.419 → no significativa	Sin efecto del grupo o covariables	La carga bacteriana total se mantuvo estable; efecto cualitativo más que cuantitativo
<i>Zonulina</i>	T-test pareado / ANCOVA	Sin diferencias significativas (p > 0.05)	p = 0.411 → no significativa	Sin efecto del grupo o covariables	Tendencia a niveles más bajos en el grupo probiótico, sin significación estadística

Conclusión global del bloque paramétrico

Las bacterias que seguían una distribución normal mostraron tendencias de mejora leve o estabilidad tras el tratamiento probiótico.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos, pero los resultados apuntan hacia una mayor estabilidad de la microbiota y una menor progresión de la disbiosis en el grupo probiótico.

El efecto del probiótico parece modulador, no disruptivo, favoreciendo un equilibrio microbiano y manteniendo la integridad intestinal sin inducir disbiosis.

Resultados de las Bacterias con distribución NO normal

Bacterias con distribución NO normal:

Escherichia coli, *E. coli* Biovar e, *Bacteroides spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium adolescentis*, *L. plantarum*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Clostridium spp.*, *Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Lactobacillus H₂O₂+*, y otros microorganismos proteolíticos.

Con la prueba de Mann–Whitney, se evaluó si las abundancias bacterianas diferían entre grupos (placebo vs probiótico), tanto antes como después de la intervención.

Resultado: casi todas las bacterias tuvieron $p > 0.05$, por lo tanto, NO hubo diferencias entre grupos.

Microorganismo	Momento	Sig. (p)	Decisión	Interpretación
<i>E. coli</i>	PRE	0.291	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>E. coli</i>	POST	0.912	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Bacteroides spp.</i>	PRE	0.231	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Bacteroides spp.</i>	POST	0.944	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Lactobacillus spp.</i>	PRE	0.710	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Lactobacillus spp.</i>	POST	0.630	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>H₂O₂-Lactobacillus</i>	PRE	0.860	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>H₂O₂-Lactobacillus</i>	POST	0.590	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Faecalibacterium</i>	PRE	0.567	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos

<i>Faecalibacterium</i>	POST	0.166	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Akkermansia muciniphila</i>	PRE	0.779	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Akkermansia muciniphila</i>	POST	0.602	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	PRE	0.809	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	POST	0.681	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Lactobacillus plantarum</i>	PRE	0.982	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Lactobacillus plantarum</i>	POST	0.363	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>E. coli</i> Biovare	PRE	0.001	! Rechazar H ₀	Diferencia significativa (más alta en un grupo)
<i>E. coli</i> Biovare	POST	0.606	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Proteus spp.</i>	PRE	0.347	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Proteus spp.</i>	POST	0.907	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Pseudomonas spp.</i>	PRE	0.789	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Pseudomonas spp.</i>	POST	0.208	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
Otros microorganismos proteolíticos	PRE	0.913	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
Otros microorganismos proteolíticos	POST	0.554	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Clostridium spp.</i>	PRE	0.449	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Clostridium spp.</i>	POST	0.534	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Candida albicans</i>	PRE	0.841	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Candida albicans</i>	POST	0.674	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Geotrichum candida</i>	PRE	0.251	Conservar H ₀	No diferencias entre grupos
<i>Geotrichum candida</i>	POST	0.087	Conservar H ₀	Tendencia (no significativa)

De todas las bacterias evaluadas (exceptuando las excluidas), solo ***E. coli Biovare_PRE*** mostró diferencias significativas entre grupos ($p = 0.001$).

En todos los demás casos no se hallaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). En *Geotrichum candida_POST* ($p = 0.087$) se observa una tendencia no significativa que podría merecer exploración en un análisis ampliado.

En este análisis, la prueba de Mann–Whitney permitió comparar las distribuciones bacterianas entre los grupos placebo y probiótico, sin asumir normalidad de los datos.

Los resultados muestran que, salvo en el caso de *E. coli Biovar e (PRE)*, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, **lo que sugiere que la administración del probiótico no modificó de forma significativa las concentraciones de los microorganismos analizados respecto al placebo.**

La prueba de rangos con signo de Wilcoxon permitió analizar cambios longitudinales dentro de cada grupo (es decir, evolución individual de cada participante):

- ¿Las abundancias bacterianas cambian de PRE a POST en el grupo probiótico?
- ¿Cambian de PRE a POST en el grupo placebo?

De esta manera se puede averiguar si el tratamiento produjo un cambio dentro del grupo tratado, incluso si el efecto no fue suficientemente fuerte como para generar diferencias entre grupos.

PRUEBA DE WILCOXON PRE-POST PLACEBO-PROBIOTICO

Microorganismo	Grupo	N total	W (Estadístico de prueba)	Error estándar	Z estandarizado	p (bilateral)	Interpretación
<i>E. coli</i>	Placebo	23	122.500	32.863	-0.472	0.637	Sin diferencias significativas. Niveles estables.
	Probiótico	26	158.500	37.163	-0.108	0.914	Sin diferencias significativas tras la intervención.
<i>Bacteroides spp.</i>	Placebo	23	276.000	32.867	4.199	< 0.001	Aumento significativo tras el periodo en placebo.

	Probiótico	26	351.000	39.373	4.457	< 0.001	Aumento significativo tras la intervención probiótica.
<i>Bifidobacterium spp.</i>	Placebo	23	33.000	30.790	-3.037	0.002	Disminución significativa tras el periodo en placebo.
	Probiótico	26	40.000	32.877	-2.981	0.003	Disminución significativa tras la intervención.
<i>Lactobacillus spp.</i>	Placebo	23	137.500	30.796	+0.357	0.721	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	139.500	37.152	-0.619	0.536	Sin diferencias significativas tras la intervención.
<i>Lactobacillus H₂O₂⁺</i>	Placebo	23	90.500	22.946	+0.218	0.828	Sin cambios significativos.
	Probiótico	26	61.500	19.323	-0.336	0.737	Sin cambios significativos.
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Placebo	23	139.500	30.792	+0.422	0.673	Estable en el tiempo.
	Probiótico	26	109.500	32.867	-0.867	0.386	Sin efecto del probiótico.
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Placebo	23	148.500	28.762	1.147	0.251	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	166.500	37.158	+0.108	0.914	Estable tras la intervención.
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	Placebo	23	126.000	28.764	+0.365	0.715	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	123.500	34.993	-0.757	0.449	Sin efecto atribuible al tratamiento.
<i>Ruminococcus spp.</i>	Placebo	23	135.000	28.747	+0.678	0.498	Niveles estables.
	Probiótico	26	160.000	34.977	+0.286	0.775	Sin diferencias significativas.
<i>L. plantarum</i>	Placebo	23	18.000	12.743	-1.648	0.099	Tendencia a la disminución (no significativa).
	Probiótico	26	11.000	12.733	-2.199	0.028	Aumento significativo tras la intervención.
<i>E. coli biovare</i>	Placebo	23	79.000	14.296	2.343	0.019	Diferencia significativa (p < 0.05). Cambio en placebo.

	Probiótico	26	98.000	24.847	+0.121	0.904	Sin cambios significativos.
<i>Proteus spp.</i>	Placebo	23	1.000	0.500	1.000	0.317	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	1.000	1.118	-0.447	0.655	Sin diferencias significativas.
<i>Pseudomonas spp.</i>	Placebo	23	1.000	2.716	-1.473	0.141	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	11.000	4.757	+0.105	0.916	Sin cambios tras el probiótico.
<i>Clostridium spp.</i>	Placebo	23	7.000	2.739	+0.730	0.465	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	15.000	5.906	+0.169	0.866	Sin cambios tras la intervención.
<i>Candida albicans</i>	Placebo	23	25.000	9.792	-0.255	0.798	Sin diferencias significativas.
	Probiótico	26	52.500	14.287	+0.490	0.624	Sin diferencias significativas tras el tratamiento.
<i>Geotrichum candidum</i>	Placebo	23	4.000	5.292	-1.890	0.059	Tendencia a la disminución ($p \approx 0.06$).
	Probiótico	26	18.000	4.704	1.594	0.111	Sin diferencias significativas tras la intervención.

Resumen global de hallazgos

- **Cambios significativos ($p < 0.05$):**
 - *Bacteroides spp.* → aumento en ambos grupos.
 - *Bifidobacterium spp.* → disminución en ambos grupos.
 - *L. plantarum* → aumento en grupo probiótico.
 - *E. coli biovare* → cambio significativo solo en placebo.
- **Tendencias sin significación ($0.05 < p < 0.1$):**
 - *L. plantarum* (placebo) ↓
 - *Geotrichum candidum* (placebo) ↓
- **Sin cambios relevantes:** resto de especies bacterianas y fúngicas
 - *Escherichia coli*
 - *Lactobacillus spp.*
 - *Lactobacillus H₂O₂⁺*

- *Faecalibacterium prausnitzii*
- *Akkermansia muciniphila*
- *Bifidobacterium adolescentis*
- *Ruminococcus spp.*
- *Proteus spp.*
- *Pseudomonas spp.*
- *Clostridium spp.*
- ♦ Hongos:
- *Candida albicans*
- *Geotrichum candidum* (aunque mostró una leve tendencia a la disminución en placebo, $p \approx 0.06$, no alcanzó significación estadística)

El aumento de *L. plantarum* y *Bacteroides spp.* tras la intervención refleja una activación de bacterias beneficiosas implicadas en la producción de ácidos grasos de cadena corta, metabolitos asociados con mejor regulación intestinal y cognitiva

ANALISIS DEL TEST COGNITIVO

- El **test SENA (Sistema de Evaluación de Niños y Adolescentes)** se utilizó como herramienta estandarizada para evaluar los cambios cognitivos, emocionales y conductuales de los participantes antes y después de la intervención.
Este instrumento permite identificar de forma integral diversos indicadores del funcionamiento psicológico, agrupados en cuatro grandes dominios:
- **GLO:** funcionamiento global y adaptación,
- **EMO:** regulación emocional,
- **COND:** conducta y control de impulsos,
- **REC:** recursos cognitivos y estrategias de afrontamiento.

El análisis estadístico se realizó con **SPSS**, aplicando pruebas **paramétricas o no paramétricas** según la distribución de los datos. Para comprobar la normalidad de las variables se emplearon las **pruebas de Kolmogorov–Smirnov y Shapiro–Wilk**, complementadas con el análisis de **asimetría y curtosis tipificadas (z-scores)**. Se consideró normalidad cuando el valor de $p > 0.05$ y $|z| < 1.96$.

Índice	Grupo	PRE (Shapiro-Wilk, z-asim., z-curt.)	POST (Shapiro-Wilk, z-asim., z-curt.)	Interpretación general
GLOBAL (GLO)	Placebo	p = 0.124; z = -1.97 / 2.25	p = 0.012; z = -3.29 / 4.93	✗ No normal en POST
	Probiótico	p = 0.015; z = -2.92 / 4.92	p < 0.001; z = -4.67 / 8.43	✗ No normal (ambos momentos)
EMOCIONAL (EMO)	Placebo	p < 0.001; z = -5.40 / 9.86	p = 0.004; z = -3.57 / 5.95	✗ No normal
	Probiótico	p = 0.003; z = -2.27 / 6.17	p = 0.010; z = -3.20 / 5.62	✗ No normal
CONDUCTUAL (COND)	Placebo	p = 0.028; z = -0.44 / 2.52	p < 0.001; z = -2.64 / 6.76	✗ No normal
	Probiótico	p < 0.001; z = -2.48 / 6.74	p < 0.001; z = -5.04 / 10.51	✗ No normal severa
FUNCIÓN EJECUTIVA (FE)	Placebo	p = 0.516; z = -1.38 / 1.21	p = 0.003; z = -3.55 / 4.16	☑ Normal solo en PRE
	Probiótico	p < 0.001; z = -4.56 / 8.31	p = 0.001; z = -3.64 / 6.54	✗ No normal
RECURSOS (REC)	Placebo	p = 0.114; z = 0.86 / -1.18	p = 0.290; z = -0.10 / -0.83	☑ Normal en ambos
	Probiótico	p = 0.832; z = -0.75 / -0.35	p = 0.432; z = -0.81 / -0.46	☑ Normal en ambos

Interpretación general

El análisis de normalidad evidenció que los índices Global (GLO), Emocional (EMO), Conductual (COND) y Función Ejecutiva (FE) presentan distribuciones no normales, principalmente en el grupo probiótico y en el momento post-intervención. En consecuencia, estos dominios se analizarán mediante pruebas no paramétricas:

- **U de Mann-Whitney** para comparaciones entre grupos (placebo vs probiótico),

- **Wilcoxon** para comparaciones pre–post dentro de cada grupo.

Por el contrario, el dominio Recursos (REC) mostró una distribución normal tanto en el grupo placebo como en el grupo probiótico, en ambos momentos. Por tanto, se analizará mediante pruebas paramétricas, concretamente t-test pareado (comparación pre–post) y t-test independiente (comparación entre grupos).

Dominio (Índice)	Distribución	Comparación entre grupos (Placebo vs Probiótico)	Comparación dentro del grupo (PRE vs POST)
GLOBAL (GLO)	No normal	Mann–Whitney U	Wilcoxon
EMOCIONAL (EMO)	No normal	Mann–Whitney U	Wilcoxon
CONDUCTUAL (COND)	No normal	Mann–Whitney U	Wilcoxon
FUNCIÓN EJECUTIVA (FE)	No normal (excepto PRE placebo)	Mann–Whitney U	Wilcoxon
RECURSOS (REC)	Normal	t-test independiente	t-test pareado

Tipo de prueba que se llevaron a cabo

En este análisis, la prueba U de Mann–Whitney se aplicó para comparar los resultados de los índices cognitivos, emocionales, conductuales y ejecutivos del test SENA entre los grupos placebo y probiótico, tanto en el momento pre intervención como en el post intervención. Dado que la mayoría de los indicadores **no seguían una distribución normal** (según las pruebas de Kolmogorov–Smirnov y Shapiro–Wilk), esta prueba fue la más adecuada para evaluar posibles diferencias intergrupales sin violar los supuestos estadísticos.

La prueba U de Mann–Whitney cubre las diferencias *entre grupos* en cada dominio del SENA.

Dominio	Momento	U de Mann–Whitney	Z	p (bilateral)	Rango promedio Placebo	Rango promedio Probiótico	Interpretación
Índice Global	PRE	263	–0,925	0,355	27,26	23,43	Sin diferencias significativas

Índice Global	POST	334	0,458	0,647	24,63	26,52	Sin diferencias significativas
Índice Emocional	PRE	319,5	0,175	0,861	25,17	25,89	Sin diferencias significativas
Índice Emocional	POST	371	1,179	0,238	23,26	28,13	Tendencia no significativa a mejora en probiótico
Índice Conductual	PRE	217,5	-1,812	0,07	28,94	21,46	Tendencia (no sig.) a peor conducta en placebo
Índice Conductual	POST	324	0,263	0,792	25	26,09	Sin diferencias significativas
Índice Función Ejecutiva	PRE	285	-0,497	0,619	26,44	24,39	Sin diferencias significativas
Índice Función Ejecutiva	POST	324	0,263	0,792	25	26,09	Sin diferencias significativas

Conclusiones del análisis cognitivo (SENA)

Ausencia de diferencias significativas entre grupos.

Los resultados de la prueba U de Mann–Whitney mostraron que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos placebo y probiótico en ninguno de los dominios evaluados por el test SENA (funcionamiento global, regulación emocional, conducta y función ejecutiva), tanto en el momento pre como post intervención.

Homogeneidad basal entre los grupos.

Los valores del momento **PRE** confirman que ambos grupos partían de

condiciones cognitivas y emocionales comparables, lo que garantiza la validez de las comparaciones posteriores y la ausencia de sesgos iniciales en las capacidades evaluadas.

Efecto nulo o muy reducido de la intervención.

Tras la intervención, las diferencias entre grupos se mantuvieron **no significativas** ($p > 0,05$) y los tamaños del efecto fueron **muy pequeños** ($r < 0,2$), indicando que el **probiótico no produjo un cambio detectable** en las puntuaciones del SENA dentro del periodo de estudio.

Tendencias sin significación estadística.

Únicamente se observó una **tendencia leve** ($p = 0,070$) en el **Índice Conductual PRE**, con valores ligeramente más elevados en el grupo placebo, lo que podría reflejar una **diferencia basal mínima en la regulación conductual**, pero sin relevancia estadística ni práctica.

Interpretación global.

En conjunto, los resultados sugieren que la intervención probiótica **no modificó el perfil cognitivo, emocional o conductual** de los participantes en el corto plazo, aunque las pequeñas variaciones observadas podrían explorarse en futuros estudios con muestras más amplias o periodos de seguimiento prolongados.

Resultados del test SENA — Análisis intra-grupo (Wilcoxon)

Índice	Grupo	N	Estadístico Z	p (bilateral)	Conclusión
Índice Global	Placebo	27	-0.094	0.925	No hay cambios significativos tras la intervención.
	Probiotico	23	0.682	0.495	No se observan diferencias significativas pre-post.
Índice Emocional	Placebo	27	0.498	0.619	No hay variación significativa en regulación emocional.

	Probiotico	23	0.837	0.403	Tampoco se detectan cambios relevantes.
Índice Conductual	Placebo	27	-1.329	0.184	No hay diferencias significativas en conducta o control de impulsos.
	Probiotico	23	0.292	0.770	Sin cambios significativos tras la intervención.
Índice de Función Ejecutiva	Placebo	27	-0.336	0.737	No se observan diferencias significativas.
	Probiotico	23	0.731	0.465	No hay diferencias significativas pre-post.

En ninguno de los dominios analizados (global, emocional, conductual o función ejecutiva) se detectaron diferencias significativas entre los momentos PRE y POST dentro de los grupos placebo o probiótico (todos los valores de $p > 0.05$).

Esto sugiere que, a nivel intra-grupo, la intervención con el probiótico no produjo cambios estadísticamente significativos en los indicadores cognitivo-emocionales evaluados con el test SENA.

Los resultados también muestran una estabilidad de las puntuaciones en el grupo placebo, lo que refuerza que no hubo efecto atribuible al paso del tiempo o a factores externos.

RECURSOS PERSONALES

Para el análisis del índice de *Recursos Personales* se aplicaron pruebas t de Student, tanto en su versión pareada, para comparar los valores pre y post dentro de cada grupo, como en su versión independiente, para contrastar los cambios (Δ)

entre los grupos placebo y probiótico. Estas pruebas permiten evaluar si existen diferencias significativas en las medias antes y después de la intervención y entre ambos tratamientos.

T-TEST PAREADO (COMPARACIÓN PRE-POST DENTRO DE CADA GRUPO)

Grupo	N	Media PRE (± DE)	Media POST (± DE)	t(gl)	p (bilateral)	d de Cohen	Interpretación
Placebo	27	36.85 ± 15.65	40.37 ± 13.28	-0.884 (26)	0.385	-0.17	Sin diferencia significativa. Ligero aumento post, pero sin relevancia estadística ni práctica.
Probiótico	23	35.43 ± 16.15	39.96 ± 13.75	-1.193 (22)	0.246	-0.25	Sin diferencia significativa. Tendencia leve a aumento post, efecto pequeño.

Conclusión general

Ninguno de los grupos mostró cambios estadísticamente significativos en el Índice de Recursos Personales entre los momentos pre y post intervención.

El tamaño del efecto fue pequeño en ambos grupos ($d < 0.3$), indicando una mejora leve pero sin relevancia práctica.

La comparación entre grupos confirmó que el probiótico no produjo una variación diferente respecto al placebo.

Prueba t de Student para muestras independientes (Δ REC)

Grupo	N	Media ($\pm$ DE)	t(gl)	p (bilateral)	d de Cohen	Interpretación
Placebo (0)	27	3.52 $\pm$ 20.69				
Probiótico (1)	23	4.52 $\pm$ 18.18	-0.181 (48)	0.857	-0.05	No existen diferencias significativas entre grupos. El tamaño del efecto es trivial, indicando que ambos grupos mostraron cambios similares en el índice de recursos personales (Δ REC).

Detalles del análisis

- Prueba de Levene: $p = 0.508 > 0.05 \rightarrow$ se asumen varianzas iguales.
- $t(48) = -0.181$, $p = 0.857 \rightarrow$ no hay diferencias estadísticamente significativas.
- Intervalo de confianza del 95%: $[-12.17, 10.17]$, abarca el 0 $\rightarrow$ confirma la ausencia de diferencias.
- $d = -0.05 \rightarrow$ tamaño de efecto prácticamente nulo.

Conclusión

El análisis indica que el cambio en el índice de recursos personales (Δ REC) no difiere entre los grupos placebo y probiótico. Ambos mostraron una variación similar antes y después de la intervención, sin diferencias significativas ($p > 0.05$) ni relevancia práctica ($d \approx 0$).

ANÁLISIS DE CORRELACIONES SENA-MICROBIOTA

El propósito de este análisis fue **explorar la relación entre los cambios cognitivos y conductuales** (evaluados mediante el test SENA) y los **cambios en la composición bacteriana intestinal** (determinados a través del análisis microbiológico). El objetivo consistió en comprobar si las variaciones en el rendimiento cognitivo o emocional de los niños se asociaban con modificaciones en determinadas bacterias o marcadores intestinales tras la intervención (probiótico vs placebo).

Para ello, se llevó a cabo una **correlación bivariada de Spearman (ρ)**, dado que las variables no seguían una distribución normal y se pretendía examinar si ambas cambiaban de forma conjunta sin asumir una relación lineal estricta.

El **coeficiente ρ (rho de Spearman)** mide la fuerza y dirección de la asociación entre dos variables, con valores comprendidos entre -1 y $+1$:

+1 indica una correlación positiva perfecta (ambas variables aumentan juntas), -1 una correlación negativa perfecta (una aumenta mientras la otra disminuye), y 0 ausencia de relación. Además, se calculó el **valor p**, que determina la significación estadística de la correlación ($p < 0.05$ considerada significativa).

En la matriz de correlaciones se incluyeron dos bloques de variables:

- **A. Variables del SENA (Δ):**

cambios pre–post en los índices globales o específicos:

Δ GLO (cambio global cognitivo), Δ EMO (cambio emocional), Δ CON (cambio conductual), Δ EJE (cambio en funciones ejecutivas) y Δ REC (cambio en recursos personales).

Estos valores indican el grado de mejora o empeoramiento individual en cada dominio.

- **B. Variables bacterianas (Δ):**

cambios pre–post en la abundancia relativa de bacterias intestinales (por ejemplo, *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Faecalibacterium spp.*, *Ruminococcus spp.*, *Clostridium spp.*, entre otras), así como marcadores funcionales intestinales como la **zonulina (Δ)** y el **número total de microorganismos (Δ)**.

El software SPSS devolvió una matriz de correlaciones donde cada celda contenía el valor de p (Spearman), el valor de significación bilateral (p) y el número de casos válidos (N). Los valores significativos se marcaron con asteriscos: $p < 0.05$ y $p < 0.01$.

Este análisis permitió identificar posibles patrones: una correlación positiva indicaba que el aumento de una variable (por ejemplo, una bacteria beneficiosa) se asociaba con la mejora cognitivo-emocional del participante, mientras que una correlación negativa sugería que el incremento de una bacteria potencialmente patógena se relacionaba con un empeoramiento conductual.

Finalmente, se empleó **Spearman** y no Pearson debido a que las variables microbiológicas presentan distribuciones no normales (valores extremos o ceros frecuentes). Este método ordena los valores y evalúa tendencias monotónicas, siendo más robusto en muestras biológicas pequeñas ($N \approx 49$).

En conjunto, este enfoque no pretende establecer causalidad, sino **detectar asociaciones significativas o tendencias** entre microbiota y función cognitivo-emocional, actuando como un análisis exploratorio y generador de hipótesis para estudios futuros.

v	Variable bacteriana o marcador	ρ (Spearman)	p	Interpretación
Δ EMO (Índice emocional)	Número total de microorganismos Δ	0.315	0.028	A mayor cambio en microbiota total, mayor mejora emocional.
E. coli Δ	Bacteroides Δ	0.283	0.049	Positiva débil: aumento conjunto de <i>E. coli</i> y <i>Bacteroides</i> .
E. coli Δ	Clostridium Δ	-0.298	0.038	Negativa débil: cuando sube <i>E. coli</i> , baja <i>Clostridium</i> .
E. coli Δ	Número total microorganismos Δ	0.293	0.041	Positiva débil: crecimiento global asociado a más <i>E. coli</i> .
H₂O₂ Lactobacillus Δ	Número total microorganismos Δ	0.306	0.033	Positiva débil: más <i>Lactobacillus</i> oxidativos, más microbiota total.
Faecalibacterium Δ	Número total microorganismos Δ	0.714	<0.001	Fuerte positiva: aumento conjunto, lo cual es beneficioso.
Ruminococcus Δ	Número total microorganismos Δ	0.671	<0.001	Fuerte positiva: coherente con una microbiota más diversa.

Otros microorganismos proteolíticos Δ	Número total microorganismos Δ	0.398	0.005	Moderada positiva: aumento conjunto.
<i>Clostridium</i> Δ	Número total microorganismos Δ	-0.352	0.013	Moderada negativa: más <i>Clostridium</i> , menos diversidad total.
<i>Geotrichum</i> Δ	Número total microorganismos Δ	-0.398	0.005	Moderada negativa: proliferación fúngica asociada a reducción bacteriana.
<i>Proteus</i> spp Δ	<i>Geotrichum</i> Δ	-0.323	0.024	Negativa: aumento de <i>Proteus</i> se asocia con menor crecimiento de <i>Geotrichum</i> .
<i>Pseudomonas</i> Δ	<i>Clostridium</i> Δ	0.304	0.034	Positiva débil.
<i>Candida albicans</i> Δ	<i>Ruminococcus</i> Δ	0.308	0.031	Positiva débil.

Conclusiones generales

No hay correlaciones directas significativas entre cambios cognitivos (SENA) y bacterias específicas, salvo la leve asociación de Δ Emocional (Δ EMO) con el número total de microorganismos.

Las correlaciones más fuertes aparecen entre bacterias entre sí, reflejando ecosistemas coordinados:

Faecalibacterium, *Ruminococcus* y *Lactobacillus* aumentan juntos.

Clostridium y *Geotrichum* muestran comportamientos opuestos a esos grupos beneficiosos.

Los marcadores de permeabilidad intestinal (Zonulina) no correlacionan significativamente con los cambios en microbiota ni con los índices cognitivos.

El aumento de diversidad bacteriana total ($\Delta N.^{\circ}$ total) parece asociarse a una mejor regulación emocional, posiblemente por mayor producción de metabolitos antiinflamatorios (butirato, propionato, que son ácidos grasos de cadena corta)

La presencia de *Clostridium* y *Geotrichum* en aumento podría representar una disbiosis leve, al correlacionarse negativamente con la diversidad y positivamente entre ellos.

El eje microbiota–cognición muestra tendencias, pero aún sin significación robusta ($p < 0.05$), lo que sugiere que el efecto del probiótico podría necesitar más tiempo o mayor dosis para observarse con claridad.

ANÁLISIS DE LA CONSISTENCIA DE LAS HECES

Objetivo

Evaluar si la consistencia de las heces (codificada del 1 = dura al 5 = acuosa) cambió tras la intervención y si dichas variaciones difieren entre los grupos placebo y probiótico.

PASO 1: Codificación de la variable

Se asignaron valores numéricos a las categorías descriptivas para poder realizar análisis estadístico:

Categoría	Código
Dura	1
Ligeramente pastosa	2
Pastosa	3
Viscosa	4
Acuosa	5

Se calcularon dos variables:

- INI_CONS → consistencia inicial
- FIN_CONS → consistencia final
y su diferencia:
- CAMBIO_CONS = FIN_CONS – INI_CONS

PASO 2: Prueba de Wilcoxon (pre-post total)

Se realizó una **prueba de rangos con signo de Wilcoxon para muestras relacionadas**, considerando las 49 observaciones (todos los participantes, independientemente del grupo).

PRUEBA DE WILCOXON	
Estadístico	Valor
N total	49
Estadístico Z	-2.035
p (bilateral)	0.042

Interpretación:

El valor de $p = 0.042$ indica una diferencia significativa entre la consistencia inicial y la final de las heces.

En general, hubo una mejora significativa de la consistencia fecal tras la intervención (las heces tendieron a ser más normales/pastosas).

Pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk)

Antes de comparar los grupos, se comprobó si los datos de la variable **CAMBIO_CONS** (diferencia entre la consistencia final e inicial de las heces) seguían una **distribución normal**, ya que este supuesto determina si deben aplicarse pruebas **paramétricas** o **no paramétricas**.

En SPSS se realizaron las pruebas de **Kolmogorov-Smirnov** y **Shapiro-Wilk**, siendo esta última más fiable para muestras pequeñas ($N < 50$)

Grupo	Shapiro-Wilk (p)	Interpretación
Placebo	< 0.001	No normal
Probiótico	0.005	No normal

Interpretación:

- En ambos grupos, el valor de significación (p) es menor de 0.05.
- Esto indica que **los datos se desvían significativamente de la normalidad**.
- En otras palabras, la distribución del cambio en la consistencia de las heces **no es simétrica ni normal**, sino que presenta cierta asimetría (por ejemplo, concentraciones de valores en torno a pocos niveles).

Conclusión:

Al no cumplirse el supuesto de normalidad, se optó por utilizar **pruebas no paramétricas**, que no requieren distribución normal y son más adecuadas para datos ordinales o con escalas discretas (como la consistencia fecal codificada del 1 al 5).

Prueba de Mann–Whitney (comparación entre grupos)

Dado que los datos no son normales, se aplicó la **prueba U de Mann–Whitney**, equivalente no paramétrica del *t-test* para muestras independientes.

Esta prueba compara si las **distribuciones de los valores de cambio** difieren entre los dos grupos (**placebo** y **probiótico**).

Prueba de Mann–Whitney (comparación entre grupos)

Estadístico	Valor
N total	49
U de Mann–Whitney	364.000
Z	1.401
p (bilateral)	0.161

Interpretación:

- El valor $p = 0.161$ es mayor que 0.05 → **no hay diferencias estadísticamente significativas** entre los grupos.
- Esto significa que, aunque ambos grupos muestran cierta **tendencia a la normalización** de la consistencia fecal tras la intervención, **el cambio medio no difiere de forma significativa** entre quienes recibieron probiótico y quienes recibieron placebo.

Conclusión:

El efecto observado en la consistencia fecal parece ser global y no específico del tratamiento probiótico.

Conclusión clínica

La intervención produjo una **mejora significativa en la consistencia de las heces**, reflejando una evolución hacia un tránsito intestinal más estable y fisiológico.

No obstante, la **mejoría fue similar en ambos grupos**, lo que sugiere que el efecto podría ser atribuible al conjunto de medidas implementadas y no específicamente al probiótico.

Clínicamente, esto indica una **tendencia a la normalización del patrón evacuatorio**, sin evidencia de alteraciones ni empeoramientos asociados al tratamiento.

Informe comparativo: Población rural vs urbana

Objetivo del análisis

El presente análisis tiene como finalidad comparar la composición microbiana intestinal basal entre dos poblaciones diferenciadas por su entorno de residencia:

- Población rural
- Población urbana

Aunque no se ha aplicado ninguna intervención o tratamiento, esta comparación es relevante para identificar diferencias ambientales y de estilo de vida que puedan influir en la microbiota. Factores como la dieta, el grado de industrialización, la exposición a microorganismos ambientales o el uso de antibióticos pueden modificar el equilibrio bacteriano intestinal.

El análisis estadístico se orientó a determinar si existen diferencias significativas en la abundancia relativa de distintos grupos bacterianos entre ambos entornos, controlando posibles efectos de variables demográficas (edad y sexo)

1. Metodología estadística

1.1. Evaluación de la normalidad

Cada variable bacteriana fue evaluada mediante los test de Kolmogorov–Smirnov y Shapiro–Wilk para determinar la distribución de los datos.

Las variables *Enterococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Ruminococcus bromii*, *Número total de microorganismos* y *Zonulina* mostraron una distribución normal ($p > 0.05$) en ambos grupos.

El resto de las variables presentó una distribución no normal ($p \leq 0.05$), por lo que se aplicaron pruebas no paramétricas para las comparaciones entre grupos.

Variable	p_Control (Shapiro–Wilk)	p_Probiotico (Shapiro–Wilk)	Normalidad
LOG_Ecoli	0,01	0,001	No normal
LOG_EnterococcusSpp	0,797	0,079	Normal
LOG_BacteroidesSpp	0,486	0,41	Normal
LOG_Bifidobacterium	0,001	0,254	Solo en Urbano
LOG_LactobacillusSpp	0,115	0,007	Solo en Rural
LOG_H2O2Lactobacillus	0,001	0,001	No normal

LOG_FaecalibacteriumPrausnitzii	0,023	0,001	No normal
LOG_AkkermansiaMuciniphila	0,081	0,017	Solo en Rural
LOG_BifidobacteriumAdolescentis	0,031	0,006	No normal
LOG_RuminococcusBromii	0,487	0,557	Normal
LOG_LactobacillusPlantarum	0,001	0,001	No normal
LOG_EcoliBiovare	0,001	0,001	No normal
LOG_ProteusSpp		0,001	No normal
LOG_PseudomonasSpp	0,001	0,001	No normal
LOG_OtrosMicroorganismosProteoliticos	0,001	0,001	No normal
LOG_ClostridiumSpp	0,001	0,001	No normal
LOG_CandidaAlbicans	0,001	0,001	No normal
LOG_Geotrichum	0,001	0,001	No normal
LOG_NumeroTotalMicroorganismos	0,388	0,295	Normal
LOG_pH	0,256	0,008	Solo en Rural
LOG_Zonulina	0,289	0,715	Normal

- Las **variables normales** se analizaron con **pruebas paramétricas (T-test y ANCOVA)**.
- Las **variables no normales** se evaluaron mediante la **prueba U de Mann–Whitney**.

2. Pruebas aplicadas

Tipo de variable	Prueba estadística	Finalidad
Distribución normal	T-test independiente y ANCOVA	Comparar medias entre grupos, ajustando por edad, sexo y valor basal
Distribución no normal	U de Mann–Whitney	Comparar distribuciones entre grupos independientes

3. Resultados: Análisis paramétrico (T-test y ANCOVA)

Comparación de bacterias con distribución normal entre población rural y urbana.

Se muestran las medias $\pm$ desviación estándar, el valor de significación (p), el estadístico F y el tamaño del efecto (η^2 parcial).

Las diferencias se consideran significativas cuando $p < 0.05$.

Bacteria	Tipo de análisis	Media (Rural / Urbana)	p (T-test)	F(1,65)	p (ANCOVA)	η^2p	Factores con efecto significativo
<i>Enterococcus spp.</i>	Paramétrico	5.95 $\pm$ 0.56 / 5.79 $\pm$ 0.84	0.363	0.028	0.868	0.000	Sexo ($p = 0.022$)
<i>Bifidobacterium spp.</i>	Paramétrico	8.62 $\pm$ 0.73 / 8.76 $\pm$ 0.60	0.421	0.072	0.789	0.001	—
<i>Ruminococcus bromii</i>	Paramétrico	7.76 $\pm$ 0.85 / 7.69 $\pm$ 0.61	0.741	0.038	0.845	0.001	Edad ($p = 0.055$, tendencia)
Número total de microorganismos	Paramétrico	10.97 $\pm$ 0.37 / 10.99 $\pm$ 0.46	0.398	0.724	0.398	0.011	—
Zonulina	Paramétrico	2.11 $\pm$ 0.26 / 2.05 $\pm$ 0.28	0.415	0.673	0.415	0.010	—

Comparación de las bacterias con distribución normal entre población rural y urbana mediante T-test y ANCOVA ajustada por edad y sexo. Se incluyen los factores covariantes que mostraron efectos significativos en el modelo. Las diferencias se consideran significativas con $p < 0.05$

Las bacterias con distribución normal no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre la población rural y urbana, tanto en el análisis bivariado (T-test) como en el modelo ajustado (ANCOVA). En la mayoría de los casos, las medias fueron comparables entre ambos grupos, lo que sugiere una **composición bacteriana basal similar** en las dos poblaciones analizadas.

El efecto de la edad y el sexo fue, en general, no significativo. Sin embargo, en el caso de *Enterococcus spp.*, el análisis ANCOVA reveló una influencia significativa

del sexo ($p = 0.022$), independientemente del grupo geográfico. Este hallazgo podría reflejar **diferencias en los patrones de colonización entre niños y niñas**, posiblemente relacionadas con **factores conductuales, ambientales o de exposición microbiana** (por ejemplo, diferencias en el tipo de juegos, contacto con superficies, hábitos de higiene o interacciones sociales).

Aunque el tamaño del efecto fue bajo ($\eta^2 p < 0.1$), el resultado sugiere una **tendencia leve pero consistente** que podría tener implicaciones en la maduración o estabilidad de la microbiota durante la infancia y adolescencia, y que merece ser explorada en estudios longitudinales con un mayor tamaño muestral

En cuanto a *Ruminococcus bromii*, tampoco se observaron diferencias significativas entre la población rural y urbana ($p = 0.741$ en el T-test; $p = 0.845$ en el ANCOVA). Las medias fueron prácticamente idénticas en ambos grupos, lo que indica que el entorno geográfico no influye de manera relevante en la abundancia de esta bacteria. El tamaño del efecto fue mínimo ($\eta^2 p = 0.001$), confirmando que no existe una variación significativa atribuible al lugar de residencia. Se detectó únicamente una tendencia relacionada con la edad ($p = 0.055$), que sugiere un posible incremento de *R. bromii* en niños de mayor edad; sin embargo, este efecto no alcanzó significación estadística y debe interpretarse con cautela. Dado que *R. bromii* es una bacteria clave en la degradación del almidón resistente y la producción de metabolitos beneficiosos, este patrón sugiere que la maduración de la microbiota sacrolítica infantil es relativamente homogénea entre ambos grupos poblacionales.

4. Resultados: Análisis no paramétrico (U de Mann–Whitney)

Bacterias sin distribución normal

Bacteria	Tipo de análisis	Rango promedio (Rural / Urbana)	p (bilateral)	Interpretación
<i>E. coli</i>	No paramétrico	37.65 / 33.92	0.482	No diferencias significativas entre grupos.
<i>Bifidobacterium spp.</i>	No paramétrico	18.68 / 41.66	<0.001	Diferencia significativa: mayores valores en población urbana .
<i>Lactobacillus spp.</i>	No paramétrico	33.65 / 35.55	0.720	No diferencias significativas.
<i>H₂O₂-Lactobacillus</i>	No paramétrico	30.13 / 36.99	0.143	No diferencias significativas.
<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	No paramétrico	33.05 / 35.80	0.605	No diferencias significativas.
<i>Akkermansia muciniphila</i>	No paramétrico	37.73 / 33.89	0.471	No diferencias significativas.

<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	No paramétrico	36.53 / 34.38	0.686	No diferencias significativas.
<i>Lactobacillus plantarum</i>	No paramétrico	34.48 / 35.21	0.876	No diferencias significativas.
<i>E. coli biovare</i>	No paramétrico	34.60 / 35.16	0.895	No diferencias significativas.
<i>Proteus spp.</i>	No paramétrico	34.40 / 35.45	0.523	No diferencias significativas.
<i>Pseudomonas spp.</i>	No paramétrico	31.48 / 36.61	0.142	No diferencias significativas.
<i>Otros microorganismos proteolíticos</i>	No paramétrico	30.42 / 36.94	0.046	Diferencia significativa: valores mayores en población urbana .
<i>Clostridium spp.</i>	No paramétrico	35.27 / 34.72	0.735	No diferencias significativas.
<i>Candida albicans</i>	No paramétrico	32.13 / 36.34	0.037	Diferencia significativa: valores mayores en población urbana .
<i>Geotrichum spp.</i>	No paramétrico	34.95 / 35.14	0.555	No diferencias significativas.

Interpretación de resultados no paramétricos

Se observaron diferencias significativas en tres microorganismos:

- **Bifidobacterium spp.** ($p < 0.001$)
- **Otros microorganismos proteolíticos** ($p = 0.046$)
- **Candida albicans** ($p = 0.037$)

En todos los casos, los valores fueron **más altos en la población urbana**, lo que podría reflejar un perfil microbiano influido por factores ambientales y dietéticos característicos del entorno urbano.

5. Interpretación global y conclusiones

El análisis conjunto sugiere que, aunque la estructura general de la microbiota intestinal es similar entre las poblaciones rural y urbana, ciertos taxones específicos presentan diferencias consistentes:

- **Bifidobacterium spp.** aumentó significativamente en la población urbana, posiblemente debido al mayor consumo de productos lácteos fermentados o probióticos industriales.

- La presencia más alta de ***Candida albicans*** y **microorganismos proteolíticos** en el grupo urbano podría asociarse a un estilo de vida más occidentalizado, con **mayor consumo de proteínas animales y menor ingesta de fibra**.
- No se detectaron diferencias significativas en las bacterias butirato-productoras como *Ruminococcus bromii* o *Faecalibacterium prausnitzii*, lo que sugiere una **base metabólica intestinal relativamente estable** entre entornos.

En conjunto, los resultados respaldan la hipótesis de que el **entorno ambiental y los hábitos urbanos** pueden modular selectivamente ciertos componentes de la microbiota intestinal, incluso en ausencia de intervención directa.

Análisis de la consistencia de las heces (poblaciones rural y urbana)

Objetivo

Evaluar si existen diferencias en la **consistencia fecal basal** entre niños de **población rural** y **población urbana**, con el fin de determinar si el entorno geográfico se asocia a un patrón de tránsito intestinal distinto.

1. Codificación de la variable

La consistencia de las heces fue evaluada mediante una escala ordinal de cinco niveles, adaptada del *Bristol Stool Form Scale*, y codificada de la siguiente forma:

Categoría	Código
Dura	1
Ligeramente pastosa	2
Pastosa	3
Viscosa	4
Acuosa	5

El valor más cercano a **3 (pastosa)** indica una consistencia fisiológica y equilibrada, mientras que valores extremos (1 o 5) reflejan tendencia al estreñimiento o diarrea, respectivamente.

Análisis de la normalidad de la consistencia fecal

1. Descripción general de los datos

Grupo	N	Media $\pm$ DE	Mediana	Mín-Máx	Asimetría	Curtosis
Rural	20	2.40 $\pm$ 0.88	3.00	1-3	-0.939	-1.046
Urbana	49	2.88 $\pm$ 0.95	3.00	1-5	-0.356	1.256

Interpretación descriptiva:

- En ambos grupos, la mediana es 3 (“pastosa”), que representa una consistencia normal.
- La dispersión es mayor en la población urbana (rango 1-5), lo que sugiere una mayor variabilidad en el tránsito intestinal.
- La asimetría negativa en el grupo rural indica ligera tendencia a consistencias más duras, mientras que el grupo urbano presenta una distribución más equilibrada.

2. Pruebas de normalidad

Grupo	Kolmogorov-Smirnov (p)	Shapiro-Wilk (p)	Interpretación
Rural (Control)	< 0.001	< 0.001	No normal
Urbano (Probiótico)	< 0.001	< 0.001	No normal

Interpretación:

- En ambos grupos, los valores de $p < 0.001$ en el test de Shapiro-Wilk indican que la variable **CONSISTENCIA_NUM** no sigue una distribución normal.
- Dado que se trata de una variable **ordinal (escala 1-5)** y los valores se concentran en pocos niveles discretos, este resultado es esperable.
- Por tanto, el análisis comparativo entre grupos debe realizarse mediante la **prueba no paramétrica U de Mann-Whitney**.

3. Comparación entre grupos: Prueba U de Mann-Whitney

Estadístico	Valor
N total	69
U de Mann-Whitney	616.000
Z	2.054
Sig. asintótica (bilateral)	0.040

4. Interpretación estadística

El valor de $p = 0.040$ (< 0.05) indica una diferencia estadísticamente significativa en la consistencia fecal entre la población rural y urbana. La población urbana presenta rangos promedio más altos, lo que sugiere una tendencia hacia consistencias más blandas o menos formadas en comparación con el grupo rural.

5. Interpretación clínica

Aunque la mayoría de los participantes de ambos grupos presentan una consistencia pastosa y fisiológica, la población urbana mostró una mayor dispersión de valores, con algunos casos de consistencia viscosa o acuosa. Esta diferencia podría reflejar la influencia de factores ambientales y de estilo de vida asociados al entorno urbano, como:

- Menor consumo de fibra y mayor ingesta de alimentos procesados,
- Diferencias en la hidratación, actividad física y exposición microbiana,
- Cambios dietéticos vinculados a la industrialización alimentaria.

No obstante, la magnitud del efecto es leve y no sugiere patología ni alteraciones intestinales relevantes, sino una modulación funcional del tránsito intestinal asociada al contexto geográfico y dietético.

Conclusión

La consistencia fecal difiere significativamente entre las poblaciones rural y urbana ($p = 0.040$), con una tendencia hacia heces más blandas en el entorno urbano. Este hallazgo, aunque leve, refuerza la hipótesis de que el entorno y los hábitos alimentarios pueden influir en parámetros funcionales intestinales incluso en ausencia de enfermedad o intervención.

ANÁLISIS DE OUTLIERS EN LA MICROBIOTA ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO

INTRODUCCIÓN DEL ANÁLISIS REALIZADO

En el presente informe se llevó a cabo un análisis detallado de la evolución de la microbiota intestinal en una cohorte de niños con trastornos del neurodesarrollo y síndromes genéticos, comparando dos grupos de intervención: placebo y probiótico.

El objetivo principal fue identificar patrones individuales de disbiosis y evaluar si la administración del probiótico generaba cambios clínicamente significativos en el perfil microbiano, especialmente en los niños con condiciones neurológicas o metabólicas más complejas.

Para ello se analizaron, de forma separada y combinada, los valores PRE (antes de la intervención) y POST (después de la intervención) de cada una de las familias bacterianas incluidas en el estudio (bacterias inmunomoduladoras, protectoras, muconutritivas, sacarolíticas, neuroactivas, proteolíticas), así como hongos y el marcador de permeabilidad intestinal Zonulina. **Con el fin de detectar perfiles anómalos o extremos, se identificaron outliers a nivel individual en cada variable, utilizando el procedimiento de exploración estadística de SPSS.**

Posteriormente, los datos microbiológicos se integraron con la información clínica de cada niño, basada en su diagnóstico confirmado (parálisis cerebral, síndromes genéticos, TEA, encefalopatías, epilepsia, enfermedades metabólicas, etc.). Esto permitió construir una matriz completa en la que se relacionan directamente:

- Grupo al que pertenece el niño (placebo/probiótico)
- Diagnóstico clínico específico
- Outliers PRE
- Outliers POST
- Interpretación clínica-microbiológica individual

Finalmente, se generó una tabla estructurada en formato Excel, que permite visualizar de forma clara qué niños presentaron los perfiles microbianos más alterados, cuáles mantuvieron una disbiosis estable y cuáles mostraron mejoría real tras la intervención con probiótico.

Este enfoque permite no solo evaluar la eficacia del probiótico en el conjunto de la muestra, sino también identificar patrones individuales de respuesta, lo cual es especialmente relevante en poblaciones con alta heterogeneidad clínica y biológica, como los niños con trastornos del neurodesarrollo.

Cod	Grupo	Diagnóstico	Outliers_PRE	Outliers_POST	Interpretación
Cod_046	Placebo	PCI tetraparesia espástica por CMV	Mínimos globales: E.coli, Enterococcus, Bacteroides, Lactobacillus, Faecali, Akkermansia, Bifidobacterias, Clostridium, Candida, Nº total	Mínimos mantenidos	Perfil más hipobiótico del estudio. Disbiosis severa estable.
Cod_074	Placebo	Síndrome de Raynaud	Bajos moderados en protectoras y anaerobias	Bajos mantenidos	Microbiota inestable por disfunción autonómica.
Cod_071	Placebo	Síndrome Okur-Chung	Bajos en Lactobacillus, H2O2-Lacto, Faecali, Clostridium	Bajos mantenidos	Disbiosis marcada típica de síndrome neurogenético.
Cod_038	Placebo	Allan-Herndon-Dudley	Bajos en proteolíticos y anaerobios	Persistente	Enfermedad metabólica → disbiosis profunda.
Cod_035	Placebo	Enfermedad genética no definida	Perfil variable: algunos altos	Perfil variable	Heterogeneidad típica de enfermedades raras.
Cod_030	Placebo	Esclerosis tuberosa + epilepsia	Variabilidad extrema	Igual de variable	AEDs alteran flora → patrón inestable.
Cod_008	Placebo	Síndrome X-frágil (deleción XQ27-28)	Zonulina PRE normal	Zonulina POST muy baja (outlier real)	Permeabilidad conservada; disbiosis leve.
Cod_012	Placebo	TEA	1–2 valores extremos	1 valor extremo	Disbiosis leve y estable.
Cod_025	Placebo	TEA + síntomas psicóticos	2 valores extremos	Similares	Alteración leve del eje intestino-cerebro.
Cod_054	Placebo	TEA + TDHA	Outlier aislado	Igual	Disbiosis leve.
Cod_027	Placebo	Parálisis cerebral	Alteraciones moderadas	Estables	Compatible con inmovilidad.
Cod_039	Placebo	Parálisis cerebral	Bajos moderados	Igual	Disbiosis ligera.
Cod_042	Placebo	Parálisis cerebral	Outlier aislado	Igual	Sin relevancia clínica.
Cod_020	Placebo	Encefalopatía mitocondrial	Bajo en proteolíticos	Igual	Metabolopatía → flora alterada basal.
Cod_049	Probiótico	Hipoplasia pontocerebelosa	Mínimos globales	Mínimos mantenidos	NO respondedor. Disbiosis estructural grave.
Cod_047	Probiótico	Lisencefalia + epilepsia	Bajos en Enterococcus, Lactobacillus, Bifido, Clostridium	Bajos mantenidos	No respuesta clara al probiótico.
Cod_050	Probiótico	Encefalopatía hipóxico-isquémica severa	Disbiosis severa	Igual	Microbiota resistente a modulación.
Cod_078	Probiótico	Síndrome X-frágil	Bajos en hongos y proteolíticos	Leve aumento de protectoras	Posible pequeña respuesta.
Cod_079	Probiótico	Síndrome Dias-Logan	Bajos múltiples	Bajos mantenidos	No respondedor.
Cod_080	Probiótico	Epilepsia parcial compleja	Bajos moderados	Estables	Probiótico no genera gran cambio.
Cod_057	Probiótico	PC tetraparesia distónica	Bajos moderados	Ligerísima mejoría	Posible respuesta parcial.
Cod_035	Probiótico	Enfermedad genética no definida	Perfil mixto PRE	Más estable POST	El probiótico suaviza la variabilidad.
Cod_028	Probiótico	SYNGAP 1 (pendiente confirmación)	Bajos en protectoras	Ligeros aumentos	Mejoría discreta.
Cod_065	Probiótico	Síndrome Bain-Bridge-Ropers	Bajos moderados	Ligeros aumentos	Posible pequeña respuesta.
Cod_056	Probiótico	Síndrome de Alport	Leve disbiosis	Mejoría mínima	Tendencia positiva.
Cod_063	Probiótico	Sin diagnóstico	Outlier leve	Normalización	Buena respuesta al probiótico.
Cod_066	Probiótico	Sin diagnóstico	1 outlier	0 outliers	Respuesta clara al probiótico.

Cod_031	Probiótico	Sin diagnóstico	1–2 bajos	Estables	Equilibrio mantenido.
Cod_040	Probiótico	18p menos	Bajo puntual	Sin outliers	Disbiosis leve.
Cod_042	Probiótico	Parálisis cerebral	Bajo puntual	Estable	Sin cambio relevante.
Cod_043	Probiótico	Sin diagnóstico	1 outlier	0 outliers	Mejora leve.

RESULTADOS

1. Análisis general de outliers y variabilidad interindividual

El análisis exploratorio de la microbiota mostró una alta variabilidad interindividual, coherente con la diversidad de diagnósticos neurológicos y genéticos presentes en la cohorte. La identificación de valores atípicos (outliers) en cada bacteria permitió detectar perfiles individuales de disbiosis, tanto en el momento basal (PRE) como tras la intervención (POST).

El análisis PRE reveló que un número importante de niños iniciaban el estudio con microbiota reducida o desequilibrada, especialmente en familias bacterianas clave:

- Inmunomoduladoras (*E. coli*, *Enterococcus*),
- Protectoras (*Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*),
- Muconutritivas (*Faecalibacterium*, *Akkermansia*),
- Neuroactivas,
- Proteolíticas,
- Recuento total de microorganismos.

Esto es coherente con la literatura que describe una relación estrecha entre disfunción neurológica severa, dependencia funcional, medicación crónica e hipobiosis intestinal.

2. Grupo Placebo: estabilidad de la disbiosis basal

En el grupo placebo, la mayoría de los participantes mantuvieron su patrón de outliers desde el PRE al POST, sin cambios apreciables. Esto confirma que las alteraciones observadas se corresponden con su situación clínica de base y no con el efecto de la intervención.

Los niños con mayores alteraciones en este grupo fueron los que presentaban diagnósticos neurológicos complejos, tales como:

- PCI tetraparesia espástica por CMV (Cod_046)
- Síndrome de Raynaud con disautonomía (Cod_074)
- Síndrome Okur-Chung (Cod_071)
- Allan-Herndon-Dudley (Cod_038)
- Esclerosis tuberosa con epilepsia (Cod_030)

En estos casos, la disbiosis fue marcada y estable, reflejando un perfil microbiológico profundamente condicionado por:

- alteraciones metabólicas
- polimedicación
- patologías genéticas de base

Un hallazgo notable fue el caso Cod_008 (X-frágil), que presentó un outlier real de zonulina muy baja en POST, indicativo de permeabilidad intestinal conservada. Como estaba en el grupo placebo, este cambio no se atribuye al tratamiento.

En general, ningún niño del grupo placebo mostró mejoría significativa, lo cual refuerza la validez de la comparación con el grupo probiótico.

3. Grupo Probiótico: respuesta heterogénea en función del diagnóstico

El análisis del grupo probiótico mostró un patrón claramente diferenciado:

3.1. No respondedores (disbiosis estructural severa)

Niños con diagnósticos neurológicos o estructurales de extrema gravedad:

- Hipoplasia pontocerebelosa (Cod_049)
- Lisencefalia + epilepsia (Cod_047)
- Encefalopatía hipóxico-isquémica severa (Cod_050)
- Síndrome Dias-Logan (Cod_079)

Estos mostraron mantenimiento de los outliers en POST, sin evidencias de mejora. Esto sugiere que, en patologías con afectación neurológica masiva, la microbiota se comporta como un sistema resistente a la modulación probiótica, probablemente por:

- escasa motilidad intestinal,
- escasa ingesta de fibra,

- medicación,
- metabolismo alterado,
- bajo tono vagal (en términos clínicos, un tono vagal bajo suele reflejar una capacidad limitada de relajación, mayor reactividad fisiológica y emocional, y una menor eficiencia en los mecanismos de autorregulación del cuerpo.)
- y/o escasa diversidad basal.

3.2. Respuesta parcial

Algunos niños mostraron ligeras mejoras en especies protectoras o neuroactivas, aunque sin una normalización completa:

- Cod_078 (X-frágil): aumento modesto de flora protectora.
- Cod_057 (PC distónica): discreta mejoría en POST.
- Cod_035 (enfermedad genética no definida): estabilización del perfil.
- Cod_028 (SYNGAP) y Cod_065 (Bain-Bridge-Ropers): incrementos leves en protectoras.

Estas respuestas parciales son coherentes con diagnósticos complejos, pero no extremadamente severos, donde la microbiota conserva cierto grado de plasticidad.

3.3. Respondedores claros al probiótico

Los cambios más favorables se observaron en niños con diagnósticos leves o sin diagnóstico definido:

- Cod_063 (sin diagnóstico): normalización completa en POST.
- Cod_066 (sin diagnóstico): desaparición de outliers en POST.
- Cod_043, Cod_040, Cod_031: estabilización y reducción de alteraciones.

En estos casos, el probiótico sí parece haber tenido un efecto regulador, reduciendo la variabilidad y favoreciendo un perfil más equilibrado.

4. Relación entre diagnóstico y grado de disbiosis

El análisis integrado mostró una relación clara:

✓ A mayor severidad neuro genética o estructural → mayor disbiosis → menor respuesta al probiótico.

✓ Diagnósticos moderados → respuesta parcial.

✓ Diagnósticos leves o sin afectación neurológica profunda → mejores respondedores.

Esta asociación sugiere que la función neuromotora, la inmunorregulación, el estado nutricional y el nivel de dependencia son determinantes del perfil microbiano y de la capacidad de modulación terapéutica.

5. Integración PRE-POST

En conjunto:

- El grupo placebo se mantuvo estable, sin signos de cambio.
- En probiótico, solo algunos niños mostraron mejora real, especialmente aquellos sin patologías neurológicas severas.
- En los casos más graves, la disbiosis se comportó como crónica y persistente.

Estos resultados permiten avanzar hacia una estratificación clínica para determinar qué subgrupos podrían beneficiarse realmente de intervenciones probióticas.

RESULTADOS ANALISIS NUTRICIONAL

Con cuestionario nutricional: 61 niños: 46 URBANOS; 15 RURALES

Objetivo del análisis de frecuencia de consumo

Evaluar y comparar la frecuencia semanal de consumo de los distintos grupos de alimentos entre los niños que viven en entorno rural y entorno urbano, con el fin de identificar posibles diferencias en los patrones dietéticos asociados al lugar de residencia.

Descripción del análisis realizado

Para este bloque se utilizaron las variables de frecuencia semanal de consumo de cada alimento, recodificadas en una escala ordinal de 1 a 3:

- 1 = consumo bajo (0–5 veces/semana)
- 2 = consumo medio (6–10 veces/semana)
- 3 = consumo alto (>10 veces/semana)

El entorno de residencia se codificó como ENTORNO_rec (0 = rural, 1 = urbano).

Patrones descriptivos de frecuencia de consumo según entorno

Las variables de frecuencia de consumo de alimentos se recodificaron en una escala ordinal de 1 a 3 (1 = consumo bajo, 2 = consumo medio, 3 = consumo alto). En general, tanto en el entorno rural como en el urbano, la mayoría de los alimentos presentan medianas iguales a 1, lo que indica un consumo semanal bajo (0–5 veces/semana) para la mayor parte de los grupos analizados. Las varianzas son moderadas y las distribuciones muestran, en muchos casos, asimetría positiva y alta curtosis, reflejando que la mayoría de los niños se concentra en la categoría de menor consumo, con pocos casos de consumo muy elevado.

En el bloque de lácteos, el alimento con mayor frecuencia de consumo es la leche, especialmente en el grupo rural (mediana = 3 frente a 2 en urbano), mientras que el consumo de yogur es similar entre entornos (mediana = 2 en ambos grupos). Otros productos lácteos (queso fresco, otros quesos, natillas/flan/requesón) se consumen en general con baja frecuencia (mediana = 1 en ambos entornos).

En los productos de desayuno y bollería (cereales de desayuno, galletas, magdalenas/bizcochos, donuts/croissants, chocolate), las medianas se sitúan en 1 en los dos grupos, indicando consumos principalmente ocasionales. Algo similar ocurre con la mayor parte de carnes, pescados y platos preparados (carne roja, carne picada/hamburguesa, pollo/pavo, sopas/cremas, croquetas/pizza), donde la mediana también es 1 tanto en rural como en urbano.

En el grupo de frutas y verduras, las medianas se sitúan entre 1 y 2. Las otras frutas y las frutas cítricas presentan medianas de 2 en ambos entornos, lo que sugiere un consumo algo más frecuente que en otros grupos de alimentos. Las verduras verdes muestran una mediana de 1 en el entorno rural y de 2 en el entorno urbano, lo que apunta a un consumo algo más habitual de este tipo de verduras en los niños que viven en zonas urbanas.

Por último, los snacks, dulces y bebidas azucaradas o light (golosinas, helados, bolsas de aperitivos, bebidas azucaradas y light) se caracterizan casi siempre por una mediana de 1 en ambos grupos, indicando que su consumo reportado es bajo u ocasional en la muestra estudiada.

En conjunto, los descriptivos muestran que el patrón global de consumo es bastante similar entre entorno rural y urbano, con diferencias puntuales (por ejemplo, mayor frecuencia de consumo de leche en el entorno rural y de verduras verdes en el entorno

urbano), mientras que la mayoría de los alimentos procesados

y azucarados se consumen de forma esporádica en ambos contextos

Ejemplos principales	Patrón entorno rural	Patrón entorno urbano	Comentario general
Leche, yogur, quesos, natillas/flan	Leche con consumo más alto (mediana ≈ 3); resto de lácteos con consumo bajo (mediana = 1–2)	Leche con consumo moderado (mediana ≈ 2); resto de lácteos también bajos (mediana = 1–2)	Mayor consumo de leche en rural; resto de lácteos similares entre entornos.
Cereales desayuno, galletas, magdalenas/bizcochos, donuts, chocolate	Consumo mayoritariamente bajo (mediana = 1)	Consumo mayoritariamente bajo (mediana = 1)	Bollería y productos de desayuno procesados se consumen de forma ocasional en ambos grupos.
Frutas cítricas/otras, ensalada, verduras verdes y de guarnición	Frutas con consumo moderado (mediana = 2); verduras en general bajas (mediana = 1)	Frutas también moderadas (mediana = 2); verduras verdes algo más frecuentes (mediana = 2)	Patrón similar, con ligero mayor consumo de verduras verdes en urbano.
Carne roja, carne picada/hamburguesa, pollo/pavo, pescado blanco/azul, sopas/cremas, croquetas/pizza	Consumo bajo-moderado (mediana = 1 en la mayoría)	Consumo bajo-moderado (mediana = 1 en la mayoría)	No se observan grandes diferencias entre entornos.
Golosinas, helados, bolsas de aperitivos, bebidas azucaradas y light	Consumo bajo (mediana = 1)	Consumo bajo (mediana = 1)	Los productos claramente “no saludables” se consumen sobre todo de forma ocasional en ambos grupos.

Resumen descriptivo del patrón de consumo alimentario en función del entorno geográfico (0 = rural; 1 = urbano). Las variables fueron recodificadas en una escala ordinal de 1 a 3, donde 1 = consumo bajo u ocasional, 2 = consumo moderado y 3 = consumo frecuente. La tabla sintetiza las tendencias generales observadas en cada grupo para facilitar la interpretación global del perfil dietético

Análisis comparativo entre entorno rural y urbano (prueba de Mann-Whitney).

Con el objetivo de evaluar diferencias significativas en la frecuencia de consumo alimentario entre los participantes procedentes del entorno rural y urbano, se aplicó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, adecuada para variables ordinales y distribuciones no normales.

Se analizaron 41 ítems de frecuencia alimentaria recodificados en una escala ordinal (1–3).

Los resultados muestran que solo tres variables presentaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos:

- Frecuencia de consumo de leche: mayor en el grupo rural (**$p < 0,001$**).
- Frecuencia de consumo de galletas tipo María: mayor en el grupo rural (**$p = 0,015$**).

- Frecuencia de consumo de verduras verdes: mayor en el grupo urbano (**p = 0,022**).

En el resto de las variables (38/41), no se identificaron diferencias significativas entre los dos entornos ($p > 0,05$), lo que indica patrones de consumo similares entre ambos grupos para la mayoría de los alimentos evaluados.

CONCLUSIÓN

En conjunto, estos resultados sugieren que, aunque el patrón alimentario global es comparable entre entornos rurales y urbanos, existen algunas diferencias puntuales asociadas a hábitos específicos (mayor consumo de leche y galletas simples en el medio rural, y mayor consumo de verduras verdes en el medio urbano). El análisis muestra que la dieta de los niños es **altamente homogénea** entre entornos, con consumos bajos y muy similares para la mayoría de los alimentos. La escasa variabilidad en las respuestas —probablemente debida al carácter simplificado del cuestionario y a patrones dietéticos similares— limita la capacidad de identificar perfiles dietéticos diferenciados mediante técnicas avanzadas.