

Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León
Área de Conocimiento Ciencias Medicas
Área de Conocimiento Específica Bioanálisis Clínico



Monografía para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

**Antígenos histo-sanguíneos Lewis y la susceptibilidad a infecciones por
Escherichia coli enterotoxigénica en niños menores de 4 años que reciben
lactancia materna.**

Área de Investigación: Salud Pública, Enfermedades crónicas e infecciosas.

Línea de Investigación: Enfermedades infecciosas.

Elaborado por:

- **Br. Anthony Joseph Borge Lugo.** Carnet: 19-11513-0
- **Br. Claudia Dayane Soto Gómez.** Carnet: 18-00464-0
- **Br. Lisbeth María Morales López.** Carnet: 18-12536-0

Tutor:

Luis Fernando Duarte Sánchez, MSc.

Docente de la Carrera de Bioanálisis Clínico

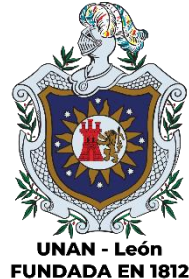
UNAN-León.

León, 2025.

2025: 46/19 ¡Siempre más allá, avanzando en la Revolución!



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León
Área de Conocimiento Ciencias Medicas
Área de Conocimiento Específica Bioanálisis Clínico



Monografía para optar al Título de Licenciatura en Bioanálisis Clínico

**Antígenos histo-sanguíneos Lewis y la susceptibilidad a infecciones por
Escherichia coli enterotoxigénica en niños y niñas menores de 4 años que
reciben lactancia materna.**

Área de Investigación: Salud Pública, Enfermedades crónicas e infecciosas.

Línea de Investigación: Enfermedades infecciosas.

Elaborado por:

- **Br. Anthony Joseph Borge Lugo.** Carnet: 19-11513-0
- **Br. Claudia Dayane Soto Gómez.** Carnet: 18-00464-0
- **Br. Lisbeth María Morales López.** Carnet: 18-12536-0

Tutor:

Luis Fernando Duarte Sánchez, MSc.

Docente de la Carrera de Bioanálisis Clínico

UNAN-León.

León, 2025.

2025: 46/19 ¡Siempre más allá, avanzando en la Revolución!



Agradecimientos

La culminación de esta tesis ha sido posible gracias al apoyo y esfuerzo de muchas personas a quienes queremos expresar nuestro más profundo agradecimiento. Este proyecto no solo representa el trabajo y dedicación de varios meses, sino también el reflejo del apoyo incondicional que recibimos de nuestros seres queridos, mentores y colegas. Nos sentimos profundamente bendecidos de haber tenido tanto apoyo en este camino.

En primer lugar, agradecemos a Dios, quien nos dio la fuerza y sabiduría para enfrentar cada desafío que surgió en el proceso. Su guía fue constante y su presencia, inquebrantable. Nos encomendamos a él en los momentos de duda, y su amor nos permitió mantenernos firmes hasta alcanzar este logro tan significativo.

Asimismo, queremos agradecer a nuestro tutor de tesis, Luis Fernando Duarte Sánchez, por su valiosa orientación, paciencia y consejos durante todo el proceso. Su experiencia y apoyo fueron claves para llevar a cabo este proyecto con éxito, y no podemos expresar lo suficiente nuestra gratitud por haber contado con él.

A nuestras familias, quienes estuvieron a nuestro lado en cada paso de este camino, brindándonos su amor, comprensión y motivación. Gracias por apoyarnos incondicionalmente, incluso en los momentos más difíciles. Sus palabras de aliento y su fe en nosotros fueron una fuente de fortaleza cuando más lo necesitábamos.

Finalmente, entre nosotros, como equipo de trabajo, queremos agradecer mutuamente el compromiso, la dedicación y la colaboración que cada uno ha puesto en este proyecto. Sin duda, hemos aprendido mucho de esta experiencia, y nos llevamos valiosas lecciones no solo en lo académico, sino también en lo personal. Este logro es el resultado de nuestro esfuerzo conjunto, y nos sentimos orgullosos de haber llegado hasta aquí como equipo.

¡Gracias a todos por formar parte de este logro tan especial!

Dedicatoria

A mis amados padres,

Su amor y apoyo inquebrantables han sido la fuerza detrás de cada paso en mi camino académico. Gracias por su fe en mí, por los sacrificios y cada palabra de aliento que hicieron que pudiera culminar esta carrera. Esta tesis es el resultado de su dedicación y esfuerzo, y con gratitud eterna, les dedico este logro que también es el suyo, quienes me enseñaron el valor del conocimiento y la perseverancia.

¡Gracias por ser mis pilares y mi mayor motivación!

Anthony Borge Lugo

Dedicatoria

A ti, querida hermana:

Que fuiste mi guía, mi apoyo incondicional y un pilar fundamental en mi vida.

Tu amor, sabiduría y constante aliento me ayudaron a descubrir mi verdadera vocación, mostrándome el camino incluso cuando no podía verlo por mí misma. No hay palabras suficientes para expresar lo agradecida que estoy por todo lo que hiciste por mí, por cada conversación, consejo y gesto de cariño.

Aunque ya no estés físicamente aquí, siento tu presencia en cada logro, y esta tesis es una prueba más del legado que dejaste en mí. Gracias por ser mi inspiración y por iluminar mi vida de tantas maneras. Esta etapa de mi vida te la dedico a ti, con todo mi amor y eterno agradecimiento.

Te extraño y te llevo siempre en mi corazón.

Claudia Soto Gómez

Dedicatoria

A mis queridos padres,

ustedes quienes han sido mi roca y mi inspiración en cada paso de este viaje. Su amor incondicional y su apoyo constante han iluminado mi camino, guiándome incluso en los momentos más difíciles.

son mi fuerza, mi motivación y la razón por la que siempre busca dar lo mejor de mí. Esta es una pequeña muestra de mi gratitud por todo lo que han hecho y continúan haciendo por mí.

Cada sacrificio que han hecho y cada palabra de aliento que me han ofrecido han dejado una huella imborrable en mi corazón.

A mis queridas hermanas,

Esta dedicatoria es para ustedes, que ocupan un lugar tan especial en mi corazón. A pesar de la distancia y los sacrificios que he hecho para dar lo mejor de mí, siempre las llevo conmigo en cada paso que doy.

Cada recuerdo compartido y cada risa resonando en mi mente me recuerdan la fortaleza de nuestro lazo. Gracias por estar siempre ahí, incluso cuando estamos lejos.

Lisbeth Morales López

RESUMEN

“Efecto de los grupos histo-sanguíneos y lactancia materna en la susceptibilidad a *Escherichia coli* enterotoxigénica en niños ≤ 3 años”

Autores: Br. Anthony Borge, Br. Claudia Soto, Br. Lisbeth Morales.

Tutor: Luis Fernando Duarte Sánchez, MSc.

Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC) es una de las principales causas de diarrea infecciosa en el mundo, afectando principalmente a niños menores de cinco años. Se estima que provoca 117 episodios de diarrea por cada 1,000 niños anualmente, con alrededor de 18,669 muertes en este grupo etario. En Nicaragua, la enfermedad diarreica aguda es la segunda causa de mortalidad infantil, siendo ETEC un agente etiológico importante.

Estudios previos han demostrado asociaciones entre el fenotipo del grupo sanguíneo Lewis, el estatus de secretor y la susceptibilidad a infecciones por ETEC. Por ejemplo, Svennerholm AM et al. observaron mayor susceptibilidad en niños con fenotipo Le(a+b-) ($P < 0,001$) mientras que Colston JM et al. reportaron un aumento del 38 % en el riesgo de diarrea en hijos de madres secretoras (HR = 1,38; intervalo de confianza (IC) del 95 %, 1,15–1,66).

Con base a estos antecedentes, se investigó la relación entre ETEC, el grupo sanguíneo Lewis, el estatus de secretor y la lactancia materna en niños menores de tres años en León, Nicaragua. Se analizaron 146 muestras de heces y saliva mediante qPCR y ELISA, y se evaluaron factores de riesgo usando razones de momios (OR).

De los participantes, 43 niños presentaron gastroenteritis aguda con detección de ETEC y 103 no presentaron síntomas. Se detectó ETEC en el 38.3% de las muestras, predominando en varones y en hogares con uso de letrina. Los casos clínicos se caracterizaron por diarrea de 5 días promedio y seis deposiciones diarias, sin necesidad de hospitalización en la mayoría.

Aunque se observaron tendencias de mayor riesgo en niños Lewis (a-b+) y secretor, así como en hijos de madres secretoras que lactaron menos de seis meses, no se hallaron asociaciones estadísticamente significativas con la infección por ETEC ($P > 0.05$).

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
2	ANTECEDENTES	2
3	JUSTIFICACIÓN	4
4	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
5	OBJETIVOS	6
5.1	OBJETIVO GENERAL	6
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
6	MARCO TEÓRICO	7
6.1	GENERALIDADES	7
6.2	EPIDEMIOLOGÍA	8
6.3	TRANSMISIÓN, RESERVORIO Y FUENTES	9
6.4	PATOGÉNESIS	10
6.5	FACTORES DE COLONIZACIÓN	11
6.6	TOXINA TERMO LÁBIL (LT)	12
6.7	TOXINA TERMO ESTABLE (ST)	12
6.8	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	13
6.9	COMPLICACIONES	13
6.10	DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	14
6.11	ANTÍGENOS DE HISTO-GRUPOS SANGUÍNEOS	14
6.12	SÍNTESIS DE LOS HISTO-GRUPOS SANGUÍNEO LEWIS, SECRETOR	15
6.13	VACUNAS EN DESARROLLO CONTRA ETEC	17
6.14	LACTANCIA MATERNA Y SU IMPLICACIÓN EN LAS INFECCIONES GASTROINTESTINALES	18
7	DISEÑO METODOLÓGICO	19
8	PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS	21
9	RESULTADOS	30
9.1	FACTORES DE RIESGO SOCIODEMOGRÁFICOS	30

9.2	CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DE LAS INFECCIONES POR ETEC.....	31
9.3	DETECCIÓN DE ETEC EN SEGÚN FENOTIPO LEWIS Y ESTATUS SECRETOR.....	32
9.4	RELACIÓN ENTRE LOS FENOTIPOS LEWIS Y LA DETECCIÓN DE ETEC. .	33
9.5	DETECCIÓN DE ETEC SEGÚN EL FENOTIPO LEWIS Y ESTATUS SECRETOR COMBINADO DEL INFANTE.	34
9.6	DETECCIÓN DE ETEC Y ESTATUS SECRETOR MATERNO.	36
9.7	PATRONES DE LACTANCIA Y ESTATUS SECRETOR MATERNO CON LAS INFECCIONES POR ETEC EN LACTANTES.....	36
10	DISCUSIÓN	38
11	CONCLUSIONES	41
12	RECOMENDACIONES	42
13	BIBLIOGRAFÍA	43
14	ANEXOS	47

1 INTRODUCCIÓN

Escherichia coli enterotoxigénica (ETEC) es una de las causas más comunes de diarrea bacteriana en niños menores de 5 años en países de bajo y mediano ingreso (LMICs por sus siglas en inglés). La transmisión de este microorganismo es a través de la ingesta de agua y/o alimentos contaminados; causa diarrea acuosa que puede durar varios días provocando deshidratación y desnutrición con efectos físicos y cognitivos en los niños a largo plazo. El mecanismo patogénico involucra brevemente la adhesión al epitelio del intestino delgado por medio de fimbrias, y posteriormente la producción de toxinas que alteran el balance metabólico intracelular induciendo diarrea acuosa.(1)

A parte de lo anterior, diferentes estudios han reportado que los antígenos de histo-grupo sanguíneo Lewis y el estatus secretor pueden ser determinantes dentro de los posibles factores de susceptibilidad del huésped ante agentes entéricos, puesto que pueden funcionar como correceptores para diferentes microorganismos como *Candida albicans*, *Helicobacter pylori*,(2) (3) *Rotavirus* y *Norovirus*(4) (5).

La lactancia materna proporciona protección contra la diarrea. En particular, los niños amamantados por madres no secretoras tienen una protección mejorada contra la diarrea, lo que sugiere que la lactancia materna puede mitigar el riesgo de infecciones entéricas en estos casos.(6)

Estos factores interactúan de manera compleja para influir en la susceptibilidad a las infecciones por ETEC en niños, y su comprensión puede ayudar a desarrollar estrategias de prevención más efectivas.

2 ANTECEDENTES

Khalil I et al., (2018), analizaron la carga global de la diarrea por *Shigella* y *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) según la edad, el sexo, y la geografía, encontrando que ETEC fue la octava causa principal de mortalidad por diarrea en 2016 entre todos los grupos de edad a nivel mundial, lo que representa un estimado de 51,186 muertes (95% UI 26,757–83,064;). Adicionalmente, alrededor del 3.2% (1.8–4.7) de todas las muertes por diarrea fueron atribuibles a ETEC. El mayor número estimado de muertes de menores de 5 años debido a ETEC se registró en África subsahariana oriental (5,485 muertes, 2,889–8,941). ETEC se aisló 0,84 (0,71–0,98) veces más frecuentemente en pacientes hospitalizados por diarrea que en pacientes que no fueron hospitalizados por diarrea. Lo anterior sugiere que un bajo estatus económico, el inadecuado acceso agua potable y sistemas de saneamiento son factores de riesgo importantes para contraer infecciones por ETEC. Además que este microorganismo es causante de cuadros clínicos severos que requieren de hospitalización.(7)

Colston JM, et al., (2019), analizaron los efectos del antígeno del grupo histo-sanguíneo infantil y materno sobre las infecciones entéricas sintomáticas y asintomáticas en la primera infancia, encontrando que los hijos de madres secretoras (FUT2 positivas) tuvieron un aumento del 38 % en el riesgo de diarrea por todas las causas (HR = 1,38; intervalo de confianza (IC) del 95 %, 1,15–1,66). Además, encontraron una reducción del 19% en el riesgo de contraer diarrea por todas las causas en niños FUT2 y FUT3 positivos (HR = 0,81; IC 95 %, 0,71–0,93) y 17 % (HR = 0,83; IC 95 %, 0,74–0,92), respectivamente. Adicionalmente se encontró que existe una fuerte asociación entre los HBGA y diarreas infecciosas provocadas por patógenos específicos, en particular para norovirus, rotavirus, *Escherichia coli* enterotoxigénica y *Campylobacter jejuni / coli*. (8)

Svennerholm AM et al., (2009), reportan que los niños con el genotipo Le(a+b-) tenían incidencias significativamente más altas de diarrea causada por ETEC que expresan fimbrias del grupo CFA/I que los niños Le(a-b+), sugiriendo que estos eran más susceptibles a las infecciones por este patotipo de *E. coli*.(9)

Pérez J., (2019), determinó que niños leoneses menores de 5 años con fenotipo Le(a+b-) y no secretores tenían mayor riesgo de desarrollar infección por ETEC (OR =3.942; IC= 0.31-49.84 / OR =4.099; IC= 0.42-40.18), en comparación a niños Le(a-b+) y secretores. Asociación que es más marcada en los menores de 1 año (OR =4.761; IC=1.77-12.83) ($P=0.002$). (10)

3 JUSTIFICACIÓN

Se estima que *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), produce anualmente un aproximado de 116.8 episodios de diarrea por cada 1000 niños y ~ 18,669 muertes en menores de 5 años en todo el mundo.(7) Carga que es soportada predominantemente por niños en las regiones de ingresos bajos y medianos como Nicaragua. Las distintas consecuencias de las infecciones por ETEC además de diarrea son retraso en el crecimiento y desarrollo cognitivo, entre otras formas de desnutrición(2) (3) (4) (5). A lo anterior, Nicaragua no es la excepción puesto que diferentes investigaciones asocian a ETEC con la diarrea infantil. (2) (9)

A parte de lo anterior, diferentes estudios han reportado que el fenotipo Lewis y el estatus secretor del binomio madre e hijo pueden ser determinantes dentro de los posibles factores de susceptibilidad del huésped ante agentes entéricos. En ese sentido, la lactancia materna es clave puesto que diferentes oligosacáridos dependientes del estatus secretor materno pudiesen estar involucrados en la susceptibilidad a ETEC.

En Nicaragua, al igual que en muchos LMICs, actualmente se desconoce el rol que juegan los antígenos de histo-grupo sanguíneo y el estatus secretor del binomio madre e hijo en la susceptibilidad de la población pediátrica ante infecciones por ETEC. Así como también el impacto de estos sobre la eficacia de los candidatos propuestos de vacunas contra ETEC. Vacunas que tienen un estatus prioritario para mitigar no solo la enfermedad diarreica aguda, sino minimizar las manifestaciones de la enfermedad a largo plazo. Así, también en estos esfuerzos hay que considerar que individuos naturalmente no susceptibles pudiesen no desarrollar o montar una pobre respuesta inmune humoral posterior a la vacunación. Por lo tanto, comprender el rol de los Antígenos de Histo-Grupo sanguíneo (HBGA) del sistema Lewis, el Estatus Secretor y la lactancia materna en la susceptibilidad a infecciones por ETEC es prioritario.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es el efecto de los Antígenos de Histo-Grupo sanguíneo (HBGA) del sistema Lewis, el Estatus Secreter y la lactancia materna en la susceptibilidad a infecciones por ETEC en niños menores de 3 años de la ciudad de León?

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de los Antígenos de Histo-Grupo sanguíneo (HBGA) del sistema Lewis, el Estatus Secreto y la lactancia materna en la susceptibilidad a infecciones por ETEC en niños menores 3 años de la ciudad de León.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los factores de riesgo sociodemográficos asociados a las infecciones por ETEC en la población en estudio perteneciente a los sectores de salud Perla Maria Norori.
- Caracterizar la clínica de las infecciones causadas por *Escherichia coli* Enterotoxigénica en niños menores de 3 años.
- Identificar el riesgo asociado de los histo-grupos sanguíneos del sistema Lewis y estatus secreto en niños infectados por *Escherichia coli* Enterotoxigénica.
- Calcular la incidencia entre las infecciones causadas por *Escherichia coli* Enterotoxigénica, los patrones de lactancia materna y el estatus secreto de la madre en niños menores de 3 años.

6 MARCO TEÓRICO

6.1 GENERALIDADES

Es característico que *Escherichia coli* colonice habitualmente el tracto gastrointestinal de neonatos en las primeras horas posteriores al parto. De manera general, esta bacteria establece una relación simbiótica de larga duración con el huésped humano. Las cepas comensales de *E. coli*, en condiciones normales, exhiben una baja propensión a inducir patologías, salvo en individuos con compromiso inmunológico.(12)

Escherichia coli, un bacilo Gram negativo, lactosa positiva y oxidasa negativo, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, manifiesta la capacidad de desarrollarse tanto en ambientes aerobios como anaerobios, mostrando preferencia por la temperatura de 37°C. Esta bacteria puede presentar movilidad variable y, en algunos casos, exhibe flagelos peritricos .(13)

E. coli es reconocida por su capacidad para desencadenar diversas enfermedades, abarcando desde afecciones del tracto gastrointestinal hasta afectaciones en sitios extraintestinales, como las vías urinarias, el torrente sanguíneo y el sistema nervioso central. Dentro de los patógenos intestinales, se distinguen seis categorías: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y *E. coli* de adhesión difusa (DAEC). Las infecciones de las vías urinarias constituyen las manifestaciones más frecuentes de infecciones extraintestinales ocasionadas por *E. coli* uropatógena (UPEC).(12)

ETEC representa una causa de diarrea de gran relevancia, aunque subestimada, en regiones del mundo en desarrollo, caracterizadas por la falta de acceso a agua potable y condiciones sanitarias deficientes. En dichas áreas, se manifiesta como la causa bacteriana más prevalente de diarrea tanto en niños como en adultos, constituyendo también la etiología más frecuente de la diarrea del viajero. La incidencia de diarrea por ETEC es más prominente en la población infantil, sugiriendo el desarrollo de una

respuesta inmunitaria protectora con el transcurso de la edad. La patogenia de la diarrea inducida por ETEC comparte similitudes con la observada en el cólera, y los síntomas clínicos pueden variar desde formas leves hasta un cuadro clínico severo, análogo al cólera.(14)

Los factores de virulencia particulares, tales como las enterotoxinas y los factores de colonización, distinguen a la ETEC de otras categorías de *Escherichia coli* diarreogénica. La ETEC se clasifica en una familia heterogénea de *E. coli* fermentadora de lactosa, exhibiendo una diversidad significativa en los tipos antigénicos O. Estos microorganismos producen enterotoxinas, que pueden ser termolábiles y/o estables al calor, así como factores de colonización que facilitan la colonización del intestino delgado, dando lugar a la manifestación de la diarrea. (15)(16)(17)

6.2 EPIDEMIOLOGÍA

La primera sospecha sobre *Escherichia coli* como la agente causal de la diarrea infantil surgió en la década de 1940, cuando se identificó una asociación entre epidemias de diarrea severa en guarderías y serotipos específicos de *E. coli*. (18) Estos serotipos particulares, designados como *E. coli* enteropatógenos, fueron epidemiológicamente implicados como la causa subyacente de dichos brotes. Los estudios realizados en 1961 utilizando asas ileales de conejo con estas cepas evidenciaron una correlación limitada entre la acumulación de líquido y los serotipos de *E. coli* implicados, aunque los resultados no fueron concluyentes. (19) Posteriormente, experimentos llevados a cabo con voluntarios confirmaron que la ingesta de cantidades significativas de estos organismos inducía diarrea, y las cepas ingeridas se recuperaban posteriormente en las heces. (20)

Las infecciones diarreicas representan una de las principales causas de mortalidad en niños menores de 5 años en países subdesarrollados. De manera colectiva, se estima que los patógenos responsables de la diarrea están asociados con entre 1 y 2 millones de defunciones anuales. (21) Además de la amenaza mortal, las infecciones recurrentes y los episodios sintomáticos atribuibles a este patógeno pueden desencadenar o

intensificar el retraso en el crecimiento y otras manifestaciones de desnutrición, así como reducir la funcionalidad inmunológica. Asimismo, se ha observado que estas infecciones aumentan la propensión a enfermedades intestinales inflamatorias crónicas subsiguientes y pueden obstaculizar el desarrollo cognitivo. (2) (3) (4) (5)

En regiones subdesarrolladas, la detección de la *Escherichia coli* Enterotoxigénica (ETEC) no se incluye en los exámenes de rutina para niños que experimentan episodios de diarrea, lo que complica la determinación precisa de la incidencia de infecciones por ETEC. A pesar del aumento de casos relacionados con ETEC en América Latina y África, especialmente en el contexto de la diarrea del viajero, esta cepa continúa siendo el agente causal más identificado, contribuyendo al 30% de los casos. (22)

6.3 TRANSMISIÓN, RESERVORIO Y FUENTES

Las infecciones ocasionadas por la *Escherichia coli* Enterotoxigénica (ETEC) se propagan predominantemente a través de la ruta fecal-oral, siendo la exposición comúnmente vinculada al contacto con alimentos y agua potable contaminados. Ejemplos de alimentos susceptibles a la contaminación por patógenos incluyen aquellos que se mantienen a temperatura ambiente, frutas y productos distribuidos por vendedores ambulantes en zonas endémicas. (22) En paralelo, las aguas superficiales en países subdesarrollados pueden albergar este microorganismo y funcionar como una fuente significativa de contaminación durante el contacto con dicho tipo de agua. La contaminación de alimentos puede tener origen en la manipulación por parte de personas infectadas, portadores asintomáticos o en el riego de vegetales con agua no tratada.

Aunque la persistencia y la capacidad de la ETEC para sobrevivir en estos entornos aún no están completamente comprendidas, un estudio ha demostrado que esta bacteria puede subsistir por más de tres meses en agua fresca y formar biopelículas en fuentes de agua potable. La dosis infecciosa de la ETEC, en comparación con otros patotipos de *Escherichia coli*, es relativamente alta, situándose entre 10^6 y 10^8 ; sin embargo, es importante señalar que estas cifras se basan en cultivos de laboratorio y pueden diferir de las dosis infecciosas observadas en infecciones naturales. (23)

6.4 PATOGÉNESIS

Pasos de la patogenia molecular de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC).

Paso 1: Los ETEC se impulsan hacia la luz del intestino delgado a través de flagelos peritricos.

Paso 2: ETEC involucra la mucina que recubre las células del epitelio del intestino delgado, en parte mediada por el puente EtpA de los flagelos bacterianos con los glucanos presentes en la mucina.

Paso 3: Degradación de MUC2 y el uso de los antígenos de histocompatibilidad sanguínea de tipo Lewis como receptores permiten el acceso bacteriano a la superficie epitelial.

Pasos 4 y 5: ETEC involucra a los enterocitos a través de moléculas de factor de colonización codificadas por plásmidos además de EtpA, donde la administración de toxina termolábil (LT) activa la producción de monofosfato de adenosina cíclico celular (cAMP), que a su vez activa la proteína quinasa A (PKA). Las subunidades catalíticas de PKA fosforilan canales sodio (Na⁺) y cloruro (Cl⁻), lo que resulta en la exportación neta de sal y agua en el lumen intestinal y diarrea. La PKA también fosforila otras proteínas diana celulares y entra en el núcleo para alterar la transcripción a través de la proteína de unión al elemento de respuesta cAMP (CRE) (CREB).

Paso 6: La toxina estable al calor (ST) se une a la guanilato ciclasa C para provocar la producción de monofosfato de guanosina cíclico (cGMP), activando la proteína quinasa G (PKG), que fosforila las proteínas del canal iónico y otros objetivos. (1)

Aunque la capa de mucina secretada en el intestino delgado es relativamente delgada en comparación con la del colon, es probable que esto impida de manera eficaz la participación efectiva de las bacterias patógenas, incluida la ETEC y que la LT, como la toxina del cólera, puede inducir la producción y liberación de mucina de las células caliciformes. Los estudios han demostrado que el dominio pasajero secretado de EatA, que contiene tanto actividad de unión a mucina como la tríada catalítica de serina proteasa, degrada MUC2, la principal mucina secretada por las células caliciformes intestinales.(1)

MUC2 es una glicoproteína muy grande que se ha dimerizado en su extremo C-terminal y se cree que forma estructuras triméricas complejas en el extremo N-terminal de la molécula. Esto da como resultado matrices hexámeras de MUC2 dispuestas en láminas (24) que, en efecto, atrapan a las bacterias y evitan el compromiso patógeno-huésped. Los datos que surgen de la degradación de MUC2 mediada por EatA sugieren que esta proteasa conservada, así como SepA, una proteína homóloga de *Shigella flexneri*, funcionan escindiendo MUC2 para disolver eficazmente las láminas protectoras de mucina. Por lo tanto, ETEC equipado con EatA puede superar la barrera de la mucina, lo que permite que estos patógenos participen en interacciones productivas patógeno-huésped esenciales para la administración de toxinas.(25)

EtpA promueve estas interacciones al actuar como un puente molecular (26) entre las bacterias y los glucanos de la célula huésped presentes en las mucinas (27) y las células epiteliales intestinales. Debido a que los glucanos del grupo sanguíneo A también están presentes en el epitelio intestinal, la unión preferencial de EtpA puede explicar las observaciones de enfermedades más graves observadas entre las personas del grupo sanguíneo A+, incluidos los niños pequeños infectados de forma natural. (28)

6.5 FACTORES DE COLONIZACIÓN

Los CF de ETEC son llamados antígenos de superficie de *coli* (CS), sufijo con un número, excepto por el CFA/I. Son estructuras de superficie que se necesitan para la colonización y causar la enfermedad. Actualmente, se han caracterizado al menos 22 FC, sin embargo, entre el 30%-50% de los aislados de ETEC tienen CF indetectable; esto puede deberse a la ausencia de CF, pérdida de sus propiedades en el reaislamiento de las cepas o a la falta de herramientas adecuadas para su detección (14). Los CF se unen a diferentes receptores en las células huésped. Por ejemplo CS6 se une a fibronectina y sulfatida (SO3-3Galβ1 ceramida), un glicoesfingolípidos mayor (29) (30). También CFA/I se une a glicoproteínas y glicoesfingolípidos que se encuentran en la superficie de células del huésped del intestino delgado (31). Los CF tienen otras funciones además de adhesión a la células del huésped, longus (CS21, una fimbria tipo IV) ha demostrado estar relacionada en los cambios de motilidad y auto-agregación, la cual funciona como protectora contra los antibióticos in vitro (32). Otras proteínas adhesivas que se

encuentran en ETEC son codificadas en el locus tia y tib. Genes del locus tia (se encuentran también en cepas de EPEC, EAEC y *Salmonella sonnei*) pueden estar involucradas en la invasión y adherencia a células epiteliales e interactúan con los proteoglicanos de heparán sulfato; al igual que el locus tib (33). Se ha encontrado que TibA está involucrada en la auto-agregación y en la formación de biopelícula (34). La proteína EtpA contribuye a la adherencia de las células epiteliales y se piensa que actúa transitoriamente siendo expuesta en el extremo del flagelo para mediar la adhesión.(35)

6.6 TOXINA TERMO LÁBIL (LT)

La toxina termolábil, está relacionada con la toxina del cólera (CT), es una molécula heterohexamérica compuesta de la sub-unidad B (pentamérica) y una única sub-unidad A. La subunidad A consiste en dos dominios unidos por un puente disulfuro: A1, es la toxina activa, y A2 es una porción hélica que se une a la sub-unidad B. La unión de la sub-unidad B al gangliosido GM1 ubicados en las caveolas de la superficie celular del huésped provoca la endocitosis de la holotoxina. La porción A1 debe ser traslocada a ADP-ribosilato Gs α , a través de la membrana celular por factores ribosilantes de ADP (ARF). La inhibición de la actividad GTPasa Gs α lleva a la activación constitutiva de adenilato ciclasa. Posteriormente, el aumento de niveles de cAMP activa al canal de cloro, regulador transmembrana fibrosis cística (CFTR) seguido por la secreción neta de electrolitos y agua. Tanto CT y LT son secretadas a través de la membrana externa en un proceso de dos etapas. En el primer paso, los péptidos de señal N-terminal de las subunidades son cortada durante el transporte a través de la membrana interna al periplasma donde los monómeros se ensamblan en holotoxina. La secreción a través de la membrana externa se encarga un aparato de secreción tipo II conocido como vía de secreción general (GSP).(35)

6.7 TOXINA TERMO ESTABLE (ST)

La toxina termo-estable son pequeños péptidos ricos en cistina secretados por ETEC, que se unen al dominio extracelular de guanilil ciclasa C (GC-C) en el borde de cepillo en el epitelio intestinal. Estas interacciones activan el dominio catalítico intracelular de

guanilil ciclasa que lleva a la acumulación intracelular de cGMP. El incremento de cGMP en cambio activa la proteína cinasa II dependiente de cGMP llevando a la fosforilación del CFTR, llevando a la secreción de Cl e inhibición de la absorción de NaCl seguido de pérdida neta, a través de diarrea osmótica (28). Varios péptidos de ST han sido identificados en varias cepas de ETEC aisladas en humanos. Estas incluyen los péptidos STa (ST I) que se unen a GC-C, ST-Ia (ST-P) y ST-Ib (ST-H), ST-Ia (STP) esta típicamente relacionada con las cepas porcinas. Sin embargo, STb se une a diferentes receptores, no estimula la producción de nucleótidos cíclicos. Moléculas de ST I comparten un núcleo de aminoácidos que contienen 3 diferentes enlaces disulfídicos que son necesarios para su actividad biológicas.(35)

6.8 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La infección provocada por ETEC induce una forma de diarrea líquida que se clasifica en un espectro de moderada a severa, típicamente sin presencia de sangre. Esta entidad clínica comparte similitudes en su presentación con la diarrea asociada al cólera, caracterizándose por su capacidad para inducir rápidamente deshidratación. Además de la diarrea, los individuos afectados pueden experimentar síntomas adicionales, tales como dolor de cabeza, fiebre, calambres abdominales, náuseas y vómitos.

El inicio de la diarrea generalmente es rápido, con un periodo de incubación que puede ser tan breve como 5 horas, aunque en la mayoría de los casos se observa un promedio de 1-2 días después de la ingestión del patógeno. La duración de la diarrea varía, generalmente extendiéndose de 3 a 5 días, aunque en algunos casos puede prolongarse por más de una semana. Es crucial destacar que, si bien los índices de mortalidad son bajos cuando se proporciona un tratamiento adecuado. (36)

6.9 COMPLICACIONES

Una de las principales complicaciones clínicas más severas causada por ETEC es la deshidratación particularmente en niños menores de 5 años. El deterioro nutricional del lactante es un factor esencial para contraer diarrea por ETEC, además casos repetidos

de diarrea en la niñez se han asociado con el retraso en el crecimiento y otras formas de desnutrición, reducir la función inmunológica y aumentar la propensión a la enfermedad intestinal crónica inflamatoria subsiguiente, también puede dificultar el desarrollo cognitivo. (2) (3) (4) (5)

Estudios han demostrado que un pequeño porcentaje de personas que han padecido de diarrea del viajero desarrollan síntomas crónicos que pueden durar de meses a años. Cambios inflamatorios de bajo grado característico de la mucosa podrían sugerir una respuesta adversa en curso de la infección previa.(37)

6.10 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

ETEC se define como la presencia de una o ambas de sus enterotoxinas y por ende la identificación se realiza por la detección de las enterotoxinas ST, LT o ambas. Como la mayoría de los patotipos de *E. coli*, ETEC no puede ser distinguida en el medio de cultivo MacConkey de las *E. coli* comensales, y por lo tanto su detección se tiene q realizar a través de técnicas moleculares como el PCR.

6.11 ANTÍGENOS DE HISTO-GRUPOS SANGUÍNEOS

Sistema Lewis El Histo-grupo sanguíneo Lewis es único debido a que no están de manera intrínseca en los glóbulos rojos (GR), pero se absorben pasivamente sobre la membrana de GR del plasma. Hay una regla general que se aplica a los fenotipos de glóbulos rojos de personas de raza blanca y negra. Los adultos con un gen Le son Le (a-b+) o Le (a+b-); si son secretores de ABH, sus glóbulos rojos son Le (a-b+); si son no secretores son Le (a+b-). Las personas homocigotas con el gen le son Le (a-b-). Los glóbulos rojos de los fetos, muestras de cordón y neonatos generalmente son Le (a-b-). Los bebés pueden ser transitorios Le (a+b+) antes de convertirse en Le (a+b-). Las mujeres Lewis positivas pueden ser Le (a-b-) transitoriamente durante el embarazo. El fenotipo en glóbulos rojos Le (a+b+), es muy raro en adultos europeos, pero es común en Asia oriental y sudoriental, y en la región del Pacífico. Los antígenos de Lewis comienzan a aparecer en los glóbulos rojos poco después del nacimiento. Lewis A se desarrolla primero; Los glóbulos rojos de infantes con un gen Le generalmente se

convierten en Le(a+) durante los primeros meses de vida. En personas de raza blanca, a los 3 meses de edad, el 80% de los infantes son Le (a +), este número se reduce al nivel de adultos del 20% en 2 años. Durante este período, el fenotipo de glóbulos rojos Le (a+b+) no es infrecuente. A los 6 años de edad, la proporción de Le (b +) alcanza el nivel adulto.(38) (39)

6.12 SÍNTESIS DE LOS HISTO-GRUPOS SANGUÍNEO LEWIS, SECRETOR.

Los carbohidratos del histo-grupo sanguíneo, secretor y Lewis no son productos primarios de genes. Se sintetizan mediante glicosiltransferasas específicas codificadas por los genes FUT1, FUT2 y FUT3. Estas enzimas incorporan secuencialmente, unidades de monosacáridos a cadenas de precursores oligosacáridos lineales o ramificadas, modificando y creando nuevas especificidades antigénicas. Seis tipos de monosacáridos se encuentran en los carbohidratos de los grupos histo-sanguíneos +Lewis y secretore: β -D-glucosa (Glc), β -D-N-acetilglucosamina (GlcNAc), β -Dgalactosa (Gal), β -D-N-acetilgalactosamina (GalNAc), α -fucosa (Fuc) y D-manosa. La L-fucosa es el monosacárido inmunodominante presente en carbohidratos H, Lewis A y Lewis B, mientras que N-acetilgalactosamina (GalNAc) y galactosa (Gal) son los monosacáridos inmunodominantes presentes en carbohidratos "A" y "A Lewis B", y "B" y "B Lewis B", respectivamente. (39) (40)

Se han caracterizado seis tipos de cadenas de oligosacáridos precursoras. El tipo 1 se encuentra en el epitelio gastrointestinal, respiratorio, genitourinario y secreciones exocrinas. El tipo 2 es predominante en el tejido hematopoyético y en el endotelio vascular. El tipo 3 se puede encontrar vinculado a mucinas o como una extensión del carbohidrato "A" tipo 2 debido a la adición de una galactosa a la terminal N-acetilgalactosamina. El tipo 4 es abundante en el tejido renal. El tipo 5 es sintético y aún no se ha aislado de los tejidos humanos. El tipo 6 se encuentra en las células intestinales humanas. (40)

Las glicosiltransferasas para modificar y crear nuevas estructuras de carbohidratos de histo-grupos sanguíneos Lewis y secretor, compiten por el mismo precursor. Por lo tanto, la presencia, ausencia o combinación de estas glicosiltransferasas determinará la calidad

y la cantidad de carbohidratos expresados por individuos. Algunas glicosiltransferasas que actúan sobre la biosíntesis de carbohidratos de los histo-grupo sanguíneos tienen redundancia y degeneración. Se observa redundancia cuando dos enzimas separadas sintetizan el mismo antígeno. La fucosiltransferasa definida por el gen FUT3 es capaz de sintetizar al menos cuatro carbohidratos de diferentes grupos histo-sanguíneos (Lewis A, Lewis B, "A Lewis A", y "A Lewis B",) derivados del oligosacárido precursor tipo 1. (39)

Los carbohidratos del grupo histo-sanguíneo sintetizados a partir de los oligosacáridos precursores de tipo 2 son intrínsecos a la membrana de los glóbulos rojos. Sin embargo, aquellos sintetizados a partir del precursor oligosacárido tipo 1 (A, B, H, Lewis A y Lewis B) son extrínsecos ya que se originan en el hígado, páncreas, riñón e intestino delgado, se transportan desde su lugar de síntesis al plasma sanguíneo y luego se adsorben en los glóbulos rojos. (40)

FUT-3 crea una nueva especificidad antigénica y diversifica los carbohidratos anteriores mediante la síntesis de Lewis A, Lewis B, "A Lewis A", y "A Lewis B". Incorpora una molécula de fucosa mediante un enlace glicosídico α 1,4 al carbono 4 del Glc-NAc del oligosacárido precursor tipo 1 para formar el Lewis A. Por la misma reacción, FUT-3 forma Lewis B del antígeno H tipo 1. El papel del FUT-2 funcional es crucial para la acción de otras glicosiltransferasas del grupo histosanguíneo en la diversificación de los carbohidratos en secretores. En resumen, los niveles definidos de glicosilación en oligosacáridos precursores son responsables de la diversidad estructural de los carbohidratos y de los polimorfismos observados en estos sistemas antigénicos. El primer nivel, controlado por FUT-3, da como resultado la síntesis de Lewis A.

El segundo nivel, controlado por FUT-1 y FUT-2, da como resultado la expresión de carbohidratos H tipo 2 y H tipo 1, respectivamente. En el tercer nivel, controlado por FUT-3, el antígeno H tipo 1 se convierte en Lewis B. (39)

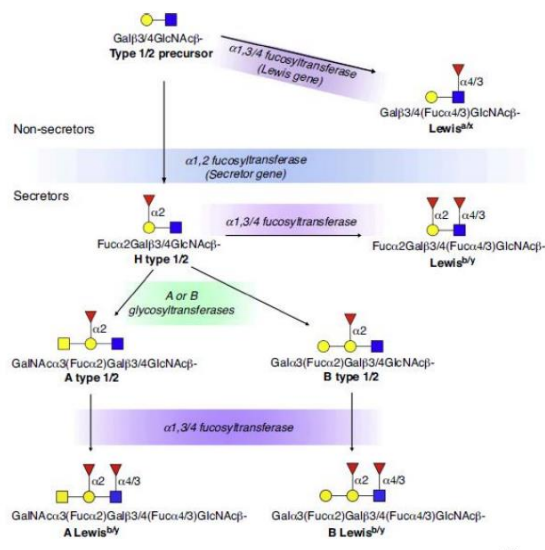


Imagen 1. Síntesis de los histo-grupos sanguíneo Lewis, secretor y ABO. (41)

6.13 VACUNAS EN DESARROLLO CONTRA ETEC

El acceso a agua potable, el saneamiento y la atención clínica adecuada son fundamentales para reducir la carga de ETEC. Sin embargo, estas intervenciones no siempre son prácticas y es posible que no logren una cobertura equitativa y sostenible. Una vacuna ETEC eficaz desempeñaría un papel fundamental en la prevención primaria de enfermedades y en la minimización de las manifestaciones agudas y crónicas de la infección por ETEC en áreas endémicas. Hay muchas vacunas diferentes que se están desarrollando para proteger contra la infección por ETEC principalmente, en varias etapas del desarrollo clínico(33). Las vacunas se pueden dividir en dos grupos: la primera es una vacuna viva atenuada que contiene cepas de ETEC genéticamente modificadas, no patógenas, o bacterias portadoras alternativas que expresan los importantes antígenos de ETEC, y la segunda vacuna inactivada que contiene células completas muertas, CF 19 purificada Antígenos o LT inactivados. (42)

6.14 LACTANCIA MATERNA Y SU IMPLICACIÓN EN LAS INFECCIONES GASTROINTESTINALES.

La lactancia materna es fundamental para la salud de los lactantes, especialmente en la prevención de infecciones gastrointestinales agudas. La evidencia científica respalda que la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida reduce significativamente el riesgo de infecciones gastrointestinales en los lactantes. (43)

El estudio de McCormick et al. en el MAL-ED Cohort Study demostró que la lactancia materna completa se asocia con una menor detección de patógenos entéricos como *Escherichia coli* y *Campylobacter* spp. en las heces de los lactantes durante los primeros seis meses de vida, además de retrasar la primera detección de algunos patógenos bacterianos y virales.(43)

La lactancia materna proporciona componentes bioactivos que modulan la función de la barrera intestinal, como las inmunoglobulinas y los oligosacáridos de la leche humana, que son cruciales para el desarrollo del sistema inmunológico y la microbiota intestinal del lactante.(44) Estos componentes ayudan a proteger la mucosa intestinal contra infecciones y promueven un desarrollo inmunológico equilibrado.(45)

En resumen, la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida es una estrategia eficaz para reducir el riesgo de infecciones gastrointestinales agudas en lactantes, lo que subraya la importancia de promover esta práctica para optimizar la salud temprana de los niños. (43,44)

7 DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Caso – Control anidado.

Área de estudio: Todos los sectores del puesto de salud Perla María Norori.

Población de Estudio: Los datos para esta investigación fueron obtenidos de la base de datos del centro de investigación de enfermedades infecciosas del Área de Conocimientos de Ciencias Médicas, UNAN-León.

Muestra de estudio: Está compuesta por 146 niños menores de 3 años y sus madres de la cohorte de SAGE.

Casos: Se seleccionaron 43 niños que experimentaron gastroenteritis con detección de ETEC en los primeros 3 años de vida.

Controles: Están compuestos por 103 niños que no experimentaron gastroenteritis en los primeros 3 años de vida.

Muestreo: No probabilístico por conveniencia.

Criterios de inclusión

- Binomios madre e hijos que se les haya podido determinar los antígenos de histogrupos sanguíneos.
- Niños con datos de lactancia completos de los primeros años de vida.

Criterios de exclusión

- Niños a los que no se pudo recolectar muestra de heces suficiente.
- Niños que no cumplieran con la edad establecida para el estudio.
- Niños que residan fuera de los sectores del puesto de salud Perla María Norori.

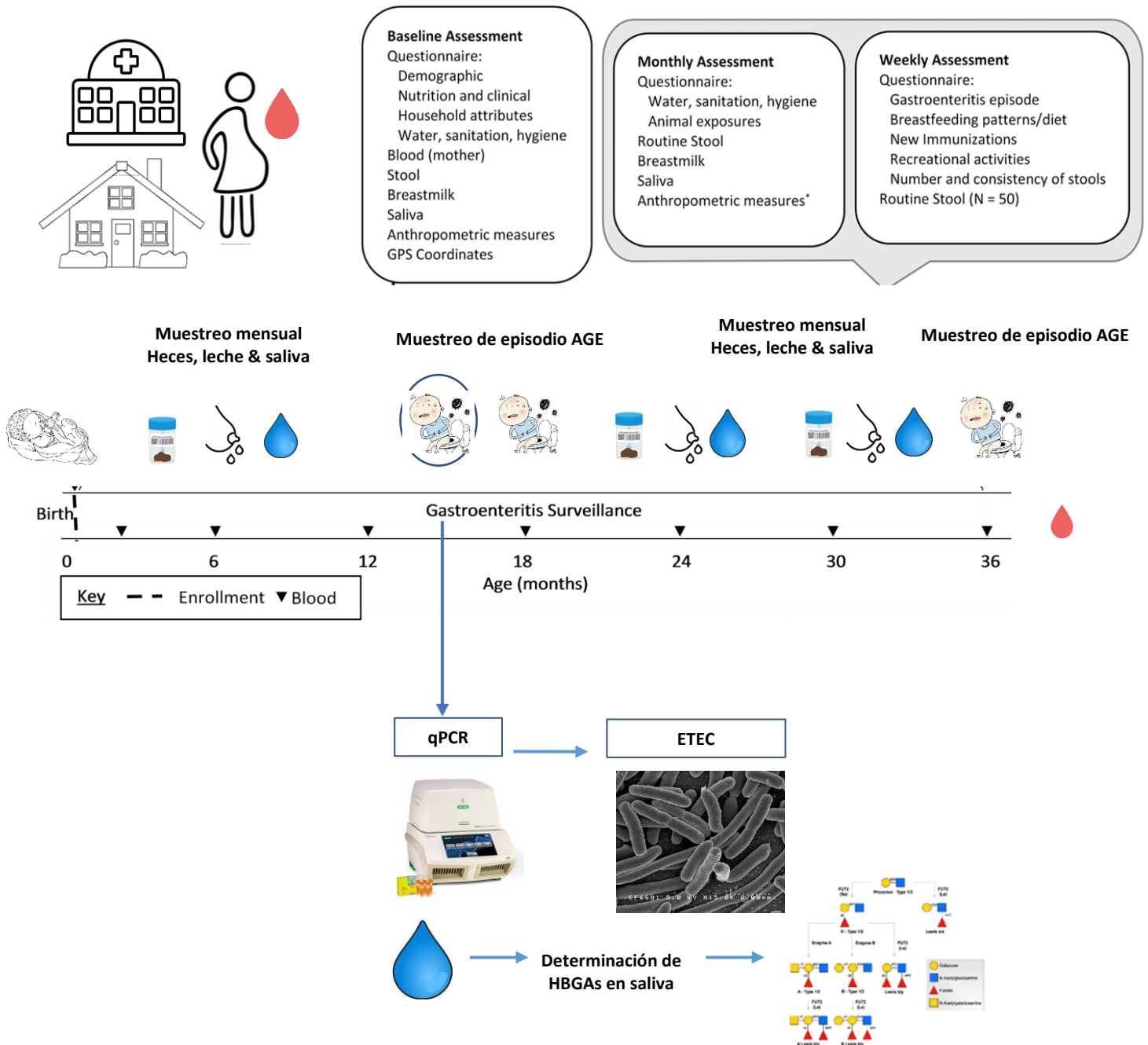
Fuente de información:

Primaria: Todos los datos de infecciones por ETEC tanto en casos como controles.

Secundaria: Datos de histogrupos sanguíneos del binomio madre e hijo, lactancia, sociodemográficos y manifestaciones clínicas.

Material y métodos.

Figura 1. Cohorte de Nacimiento junio 2017- Julio 2021.



8 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Recolección de las muestras de heces: Las muestras de heces fueron colectadas una vez cada mes, sin embargo, también se colectaron muestras de heces diarreicas de las visitas semanales, de los niños que padecían la afectación.

Recolección de información: Los datos clínicos y epidemiológicos de los niños fueron colectados durante las visitas semanales y mensuales. También se colectó una ficha adicional para los niños que tengan diarrea.

Transporte de la muestra: Las muestras fueron transportadas en el pañal desechable utilizado por cada niño, dentro de una bolsa ziplock estéril, dentro de un termo a 4°C aproximadamente, al Centro de Enfermedades Infecciosas (CEI) en el laboratorio de Microbiología y parasitología del campus médico de la UNAN – León.

Almacenamiento de la muestra: Las muestras de heces y las diarreicas se almacenaron en crioviales de 2.0 ml con PBS 1X y en crioviales de 2.0 ml sin PBS 1X a -20° C hasta su análisis. Al llegar el día de análisis fueron colocadas a -10° C y por último a 4° C antes de su procesamiento.

Extracción y purificación del ADN: Se utilizó el método de extracción QIAamp DNA Stool Mini Kit (Cat # 51604 para 50 análisis).

Se incorporaron las glass beads 212-300 µm a este método de extracción con el objetivo de facilitar un poco más la maceración de las muestras de heces.

1. Todas las muestras fueron colocadas en Coolrack antes de utilizarlas, con el fin de mantener las muestras a temperaturas óptimas de viabilidad.
2. Se agregaron 0.03 gramos de 212-300 µm glass beads en crioviales de 1.8 ml.
3. Posteriormente se pesó 180-220 mg de la muestra de heces y se añadieron en crioviales de 1.8 ml (colocar en gradilla para crioviales de 1.8 ml).

NOTA: A) En algunos casos las heces se encontraban re-suspendidas en PBS 1X, se extraían 200 µl de la suspensión y se añadían en crioviales de 1.8 ml (Que contienen el buffer InhibitEX y las glass beads).

4. Se añadió 1.0 ml de buffer InhibitEX a cada criovial con la muestra.
5. Se colocaron los crioviales con la suspensión, en Vortex BEAD MILL (Fisher) por 1 minutos.
6. Se calentaron la suspensión a 70°C por 5 minutos en baño maría.
7. Fueron mezcladas por BEAD MILL por 15 segundos y se centrifugaron la muestra a 14,000 rpm por 1 minutos.
8. Se añadieron 15 µL de Proteinasa K en un nuevo criovial de 1.8 ml y se agregaron 200 µL del sobrenadante obtenido en el paso 7.
9. Se adicionaron 200 µL de Buffer AL y se Vortea por 15 segundos.
10. Se incubaron a 70°C por 10 minutos en baño maría. Posteriormente se centrifugaron brevemente para eliminar gotas en el interior del tubo.
11. Se agregaron 200 µL de etanol (96-100%) al lisado y se mezclaron por vortex. Se centrifugaron brevemente para eliminar gotas en el interior del tubo.
12. Cuidadosamente se agregaron 600 µL del lisado obtenido en el paso 11 a la columna mini spin previamente. Se cerraron las columnas y se centrifugaron a 14,000 rpm por 1 minuto. Se colocaron las columnas en un nuevo tubo colector de 2 ml y se descartaron los tubos que contenían el filtrado.
13. Se abrieron cuidadosamente las columnas y se agregaron 500 µL de Buffer AW1. Se cerraron las columnas y se centrifugaron a 14,000 rpm por 1 minuto. Se colocaron las columnas en nuevos tubos colectores de 2 ml y se descartaron los tubos que contenía el filtrado.
14. Se abrieron cuidadosamente las columnas y agregar 500 µL de Buffer AW2. Se cerraron las columnas y se centrifugaron a 14,000 rpm por 3 minutos. Se colocaron las columnas en nuevos tubos colectores de 2 ml y descartaron los tubos que contenían el filtrado.
15. Se centrifugaron a 14,000 rpm por 3 minutos. Este paso ayudó a eliminar restos de Buffer AW2.

16. Al finalizar se transfirieron las columnas de QIAamp a un tubo eppendorf de 1.5 ml previamente etiquetado. Se abrieron cuidadosamente las columnas y se añadieron 200 μ L de Buffer ATE directamente en la membrana. Se incubaron por 1 minuto a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugaron a 14,000 rpm por 1 minuto para eludir el ADN.

17. El ADN eludido fue guardado a -20 °C hasta su análisis.

qPCR para la identificación de ETEC

Para el análisis por el método de qPCR se utilizarán Primers y Sondas descritas a continuación:

Tabla 1. Descripción de Primers y Sondas

Gen	Primers y sondas	5' a 3'
LT	F:	F, TTCCCACCGGATCACCAA
	R:	R, CAACCTTGTGGTGCATGATGA
	P:	FAM- CTTGGAGAGAAGAACCCT-NFQ
ST	Fh:	GCTAAACCAGYAGRGTCTTCAAAA
	Fp:	TGAATCACTTGACTCTTCAAAA
	Rh:	CCCGGTACARGCAGGATTACAACA
	Rp:	GGCAGGATTACAACAAAGTT
	Ph:	FAM-TGGTCCTGAAAGCATGAA-NFQ
	Pp:	FAM-TGAACAACACATTTTACTGCT-NFQ

Los Primers fueron utilizados a concentración de trabajo de 10 μ M y el Probe a 5 μ M, para una concentración final de 0.4 μ M y 0.2 μ M respectivamente en un volumen final de reacción de 25 μ L.

Preparación del MasterMix y preparación del plato.

Se mezclaron los Primers, las sondas, el agua libre de nucleasas y el MasterMix 2.0 para obtener un volumen de 24 μ L para ETEC. Se homogenizó la mezcla y se centrifugó brevemente antes de agregar la muestra. Se siguieron las indicaciones a continuación:

- 1) En el cuarto blanco, se descongelaron los reactivos y se colocaron en coolrack.
- 2) Se centrifugaron brevemente los Primers y sondas para posteriormente colocarlos en el coolrack.
- 3) Se determinaron el número de reacciones (N) por ensayo. Fue necesario hacer reacciones extras para controles, mezcla y error de pipeteo (si el número de muestras incluyendo el control fue de 1 a 14, se sumó 1 reacción, si fue mayor de 15 se sumaron 2 reacciones).
- 4) Se prepararon las mezclas a como se indica en la tabla número 2.

Tabla 2. Mezcla para qPCR

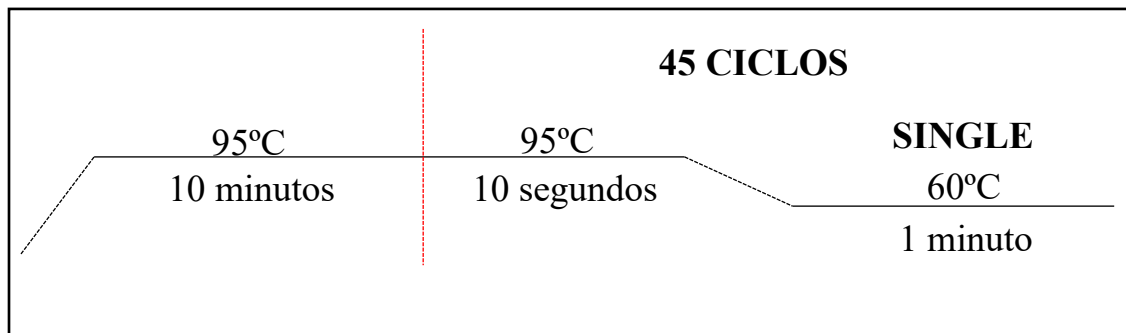
COMPONENTES	VOL (μL) / RXN.
Taq Environmental Master Mix 2.0	12.5
Mix Primer	1
Probe	1
Agua libre de nucleasas	9.5
ADN	1
Volumen total	25

Programa de amplificación.

Se utilizó el equipo para qPCR CFX96 de la compañía Bio-Rad para la amplificación y el análisis de las muestras. A como se describe a continuación:

- 1) 95°C por 10 minutos.
- 2) 45 ciclos a 95°C por 10 segundos y 60°C por 1 minuto.

Figura 2. Programa de amplificación



B) Detección de histo-grupos sanguíneos Lewis en saliva

Se determinó el fenotipo Lewis y secretor mediante la realización del ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) descrito por *Nordgren et al* modificado.

Fenotipo Lewis: Se sensibilizaron las placas de ELISA (Greiner Bio-One™ Microplacas ELISA Microlon™, Thermo Fisher Scientific, Roskilde, Denmark) con 100µL de saliva, diluida 1:500 en buffer carbonato (0.1 M buffer carbonato–bicarbonato, pH 9.6), la placa fue incubada a 4°C en cámara húmeda durante la noche. Al día siguiente se lavó 4 veces la placa con PBS – Tween20 al 0.05%, se agregó 50µL de anticuerpo anti-Lewis A (α-Lewis A seraclone Cypress Diagnosis), diluido 1:500 con BSA 3% PBS – Tween20 y serán incubados por 90 minutos a 37°C. Transcurrido el tiempo se lavó 4 veces con PBS – Tween20 al 0.05%, luego se agregaron 50µL de conjugado anti-Lewis (Goat anti-horse MTC BIORR) diluido 1:2000 con PBS y se incubó durante 90 minutos a 37°C. Seguidamente se lavó nuevamente 4 veces e inmediatamente después se agregó 50µl del sustrato TMB y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente en cámara oscura. Una vez transcurrido el tiempo, se detuvo la reacción enzimática con ácido sulfúrico 2N. Finalmente, se obtuvieron las lecturas de absorbancias a una longitud de onda de 450nm con un filtro diferencial de 630nm. Se consideraron como fenotipo Lewis A, si la densidad óptica ≥ 0.100 . En cada placa se utilizó saliva Lewis A, Lewis B y Lewis-Negativo previamente identificados como controles y además PBS para controlar el fondo. El

procedimiento aquí descrito se utilizó para determinar Lewis B, con la excepción que se utilizó el monoclonal anti-Lewis B (α -Lewis B seraclone Cypress Diagnosis).

Fenotipo Secreto: Las placas de ELISA se sensibilizaron con 100 μ L de saliva diluida 1:500 en PBS y se incubaron a 4°C durante la noche, en cámara húmeda. Al día siguiente se lavaron 4 veces con PBS – Tween20 al 0.05% y se bloqueó con BSA 3% PBS – Tween20 durante 90 minutos a 37°C, en cámara húmeda. Transcurrido el tiempo se lavó 4 veces con PBS-Tween20 al 0.5%, se agregaron 50 μ l de lectinperoxidasa (HRP-conjugated Ulex europaeus agglutinin (UEA-I, Sigma Aldrich, Sweden) diluido 1:3000 con PBS y se incubó durante 90 minutos a 37°C. Posteriormente se realizaron 4 lavados y se agregaron 50 μ l del sustrato TMB y se incubaron por 10 minutos a temperatura ambiente en cámara oscura. Una vez terminado el tiempo se detuvo la reacción enzimática con ácido sulfúrico 2N. Finalmente se obtuvieron las lecturas de absorbancias a una longitud de onda de 450nm con un filtro diferencial de 630nm. Se utilizó PBS para controlar el fondo y se agregaron los controles positivos y negativos respectivos. Las muestras fueron consideradas positivas si la densidad óptica ≥ 0.100 .

Tabla 3. Operacionalización de variables

Operacionalización de variables		
Variable	Definición conceptual	valor
Edad	Años cumplidos desde su nacimiento.	0-3 años
Sexo	Características biológicas y fisiológicas que definen al hombre y mujer.	Masculino
		Femenino
Disposición de heces	Habitos relacionados con el cuidado personal que inciden positivamente en la salud.	Presencia de inodoro.
		Presencia de letrina.
		Ninguna.
Niños que recibieron lactancia materna exclusiva	Alimentación que comienza en el nacimiento con leche producida en el seno materno.	Si
		No
		Otro tipo
Perfil de HBGA del niño	Caracteres heredados, localizados en estructuras polimórficas de la membrana del eritrocito.	Secretor positivo
		Secretor negativo
		Lewis positivo
		Lewis negativo
Perfil de HBGA de la madre	Caracteres heredados, localizados en estructuras polimórficas de la membrana del eritrocito.	Secretor positivo
		Secretor negativo
		Lewis positivo
		Lewis negativo
Vómito	Expulsión forzada del contenido estomacal a través de la boca, a menudo como respuesta a irritación, infección, o alguna otra condición médica.	No
		Si
Fiebre	Elevación anormal de la temperatura corporal, generalmente como respuesta a una infección u otra condición médica.	No
		Si

Sangre en heces	Presencia de sangre visible en las deposiciones, indicando posibles problemas gastrointestinales.	No
		Si
Recibio Zinc	Indica si el paciente ha recibido suplemento de zinc como parte del tratamiento.	No
		Si
Recibio Liquido Intravenoso	Se refiere a la administración de líquidos directamente en la vena para tratar la deshidratación u otros problemas médicos.	No
		Si
Recibio Medicamento para Vomito o Diarrea	indica si se administraron fármacos específicos para tratar los síntomas de vómito o diarrea.	No
		Si
Recibio Atención Primaria	Señala si el paciente recibió cuidados médicos básicos y atención en un entorno no hospitalario.	No
		Si
Recibio Atención Hospitalaria	Indica si el paciente fue tratado en un hospital por sus síntoma	No
		Si
Requirió Hospitalización	Se refiere a si el paciente necesitó ser ingresado en el hospital para recibir atención médica continua.	No
		Si
Dias de diarrea	cantidad de dias de diarrea	Número de dias de diarrea.

Plan de análisis

Se creó una base de datos utilizando el programa IBM SPSS® 21. Las frecuencias y porcentajes de cada una de las variables a estudiar se calcularon de forma separada para casos y controles. El grado de asociación entre el histo-grupo sanguíneo Lewis, estatus secretor, lactancia materna, las infecciones sintomáticas por ETEC y la significancia estadística se determinó con la prueba exacta Fisher y un valor de $P < 0.05$ considerado significativo, las variables numéricas se analizaron obteniendo la mediana con rangos intercuartílicos y evaluamos los factores de riesgo mediante el cálculo de Odd Ratio (OR).

La incidencia acumulada fue calculada en los grupos de interés de patrones de lactancia y estatus secretor materno. Las gráficas fueron realizadas mediante GraphPad Prism V8.

Consideraciones éticas

Este estudio fue aprobado por las Juntas de Revisión Institucional o Comités de ética de las Facultades de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN)-León (IRB #: 00003342).

Limitaciones

Una limitación importante para considerar es que, durante el desarrollo del presente trabajo, surgió el interés de incluir variables adicionales, como el estatus secretor infantil y relacionar el estatus secretor materno con la lactancia, dichas variables no formaban parte del planteamiento inicial del estudio. Estas variables fueron incorporadas progresivamente en la investigación por su relevancia potencial, lo que amplió y modificó parcialmente los objetivos previstos originalmente. Sin embargo, por motivos administrativos se mantuvo el título inicial, lo que generó cierta discordancia entre el enunciado del tema y los análisis finalmente realizados. Aunque este ajuste metodológico enriqueció los hallazgos, es importante señalar la falta de coherencia entre el título formal del proyecto y el contenido final del estudio.

9 RESULTADOS

9.1 FACTORES DE RIESGO SOCIODEMOGRÁFICOS.

El estudio incluyó un total de 146 niños menores de 3 años de los cuales el 38.3% (n=56) se les detectó ETEC. Dentro de las características sociodemográficos asociadas a ETEC se encontró que el género masculino levemente aumentado en ETEC positivo (53% vs 46.4%) $OR^{Femenino}=0.9$ (IC=0.46-1.76). El uso de letrinas fue una de las variables encontradas con mayor frecuencia dentro del grupo de ETEC positivo (39.3%) $OR=2$, (IC=0.97-4.1) (ver tabla 4). De igual manera, la edad (Mediana: 10 [5.9-17.8]) se encuentra ligeramente incrementada en los ETEC positivos. Por otro lado, el consumo de agua potable fue común en ambos grupos por lo que no se observan diferencias en ambos grupos $OR=0.7$, (IC=0.14 – 4.49).

Tabla 4. Factores de riesgo sociodemográficos asociados a las infecciones por ETEC.

				Crudo		Ajustado ¥		
Variables		n (%)		p	OR	IC95%	OR	IC95%
		ETEC (+)	ETEC (-)					
Sexo	Femenino	26 (46.4%)	44 (48.9%)	0.77	0.9	0.46-1.76	–	–
	Masculino	30 (53.6%)	46 (51.1%)					
deposición de Heces	Letrina	22 (39.3%)	22 (24.4%)	0.05	2	0.97-4.1	1.5	0.71-3.21
	Inodoro	34 (60.7%)	68 (75.6%)					
Agua	Pozo	2 (3.6%)	4 (4.4%)	0.79	0.7	0.14-4.49	0.5	0.05-4.37
	Potable	54 (96.4%)	86 (95.6%)					
Edad en Meses		10* (5.9-17.8)	3.25* (1.6-5.1)	–	–	–		

* Mediana (Rango intercuartílico), ETEC (*Escherichia coli* enterotoxigénica)

9.2 CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DE LAS INFECCIONES POR ETEC.

El cuadro clínico de las infecciones por ETEC (n=43) se caracterizó por una diarrea con promedio de 5 días de duración que por lo general no requirió de atención primaria en salud ni hospitalaria (74.4%, 88.4% respectivamente); a su vez, no ameritó recibir líquido intravenoso (97.7%) y no tuvieron sintomatologías como vómito (79.1%), fiebre (74.4%), ni presencia de sangre en heces (97.7%). (ver tabla 5)

**Tabla 5. Caracterización clínica de las infecciones por ETEC.
(n=43 casos)**

Variables		Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Vómito	No	34	79.1%
	Si	9	20.9%
Fiebre	No	32	74.4%
	Si	11	25.6%
Sangre en heces	No	42	97.7%
	Si	1	2.3%
Recibió Zinc	No	31	72.1%
	Si	12	27.9%
Recibió Líquido Intravenoso	No	42	97.7%
	Si	1	2.3%
Recibió Medicamento para Vómito o Diarrea	No	27	62.8%
	Si	16	37.2%
Recibió Atención Primaria	No	32	74.4%
	Si	11	25.6%
Recibió Atención Hospitalaria	No	38	88.4%
	Si	5	11.6%
Requirió Hospitalización	No	42	97.7%
	Si	1	2.3%
Días Diarrea		5 (3-8) *	
Deposición de Heces por día		6 (4-7) *	

* Mediana (Rango intercuartílico), ETEC (*Escherichia coli* enterotoxigénica)

9.3 DETECCIÓN DE ETEC SEGÚN FENOTIPO LEWIS Y ESTATUS SECRETOR.

La población en estudio está conformada en su mayoría por niños Lewis (a+b-/a-b+) (80.40%) y secretores (90.10%), al analizar el grado de asociación entre el histo-grupo sanguíneo y las infecciones por ETEC, encontramos que el odds de detectar ETEC es 58% menos en los niños con fenotipo no secretor ETEC $OR=0.42$ ($IC=0.35-1.60$, $p = 0.83$) en comparación de los niños secretores, y que el odds de detectar ETEC en el grupo Lewis (a-b-) es 9% menor en comparación con Lewis (a+b-/a-b+), $OR=0.91$ ($IC=0.56-1.59$; $p = 0.42$). (ver gráfico 1).

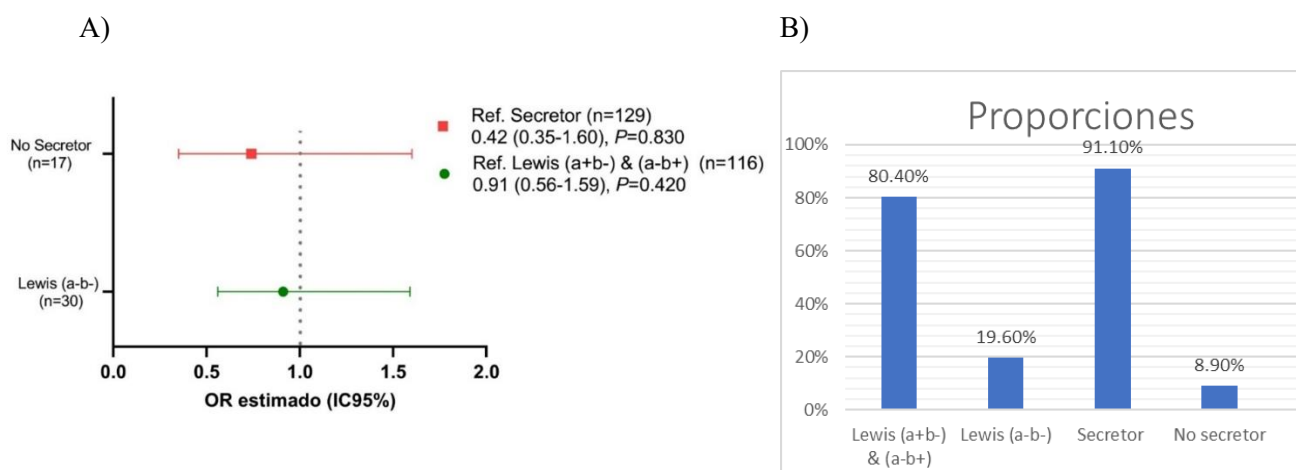


Gráfico 1. Probabilidad y proporción de detectar ETEC según fenotipo Lewis & estatus secretor del infante (n=146). A) Probabilidades de detección de ETEC según estatus secretor (línea roja) y fenotipo Lewis (línea verde). Los grupos de referencias fueron seleccionados de acuerdo a poder estadístico. B) Proporción de detección de ETEC dentro de los grupos Lewis y el estatus secretor.

9.4 RELACIÓN ENTRE LOS FENOTIPOS LEWIS Y LA DETECCIÓN DE ETEC.

Continuando con la línea de investigación anterior en este gráfico analizamos el grado de asociación entre el histo-grupo sanguíneo Lewis y las infecciones por ETEC separándolos en 3 grupos Lewis a+b- (5.4%), Lewis a-b+(75%) y Lewis a-b- (19.6%), obtuvimos que en la comparación entre el fenotipo Lewis (a-b-) con Lewis (a+b-) los resultados sugieren que el fenotipo Lewis (a+b-) tiene 37% menor de probabilidad de detectar por ETEC comparado a los Lewis (a-b-) OR=0.63 (IC=0.21-1.89, p=0.38); al comparar Lewis (a-b-) versus Lewis (a-b+) obtuvimos que el fenotipo Lewis (a-b-) tiene un 10% menos probabilidad de detectar una infección por ETEC comparado al Lewis (a-b+) OR=0.90 (IC=0.53-1.52, p=0.69). Por otro lado, al comparar Lewis (a+b-) con Lewis (a-b+) como grupo de referencia, se encontró que Lewis (a+b-) tiene 43% menos probabilidad en comparación con el fenotipo Lewis (a-b+) OR=0.57 (IC=0.20-1.57, p=0.22) (ver gráfico 2).

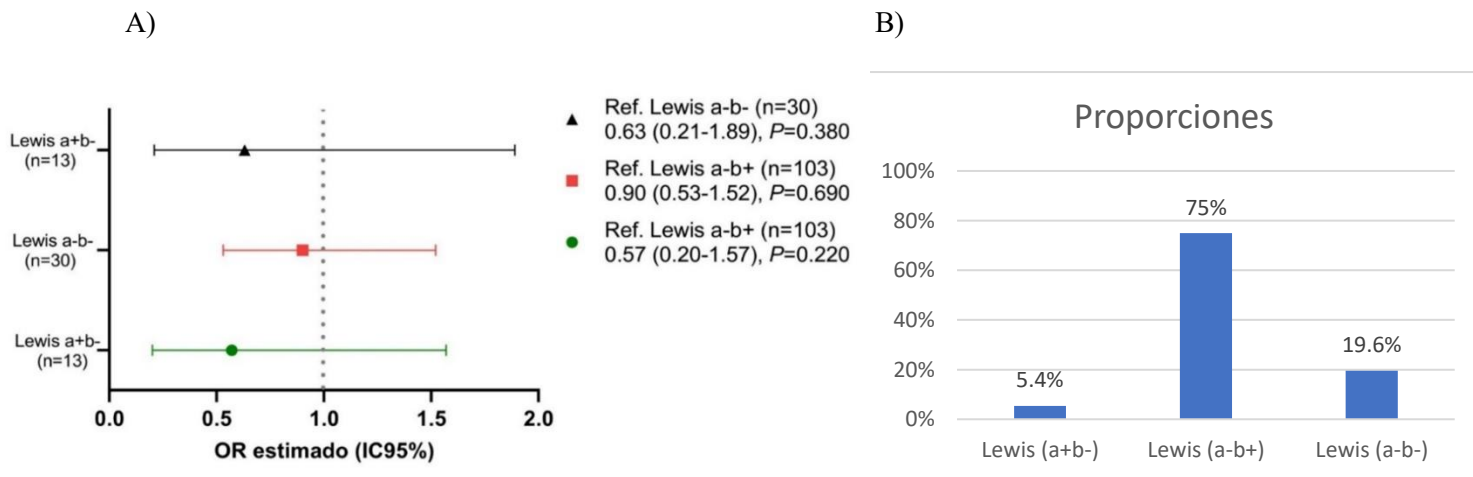


Gráfico 2. Probabilidad y proporción de detectar ETEC según fenotipo Lewis del infante (n=146). A) Probabilidades de detección de ETEC según los fenotipos Lewis: Lewis (a-b-) versus Lewis (a+b-) (línea negra), Lewis (a-b-) versus Lewis (a-b+) (línea roja), Lewis (a+b-) con Lewis (a-b+) (línea verde). Los grupos de referencias fueron seleccionados de acuerdo a poder estadístico. B) Proporción de detección de ETEC dentro de los grupos Lewis.

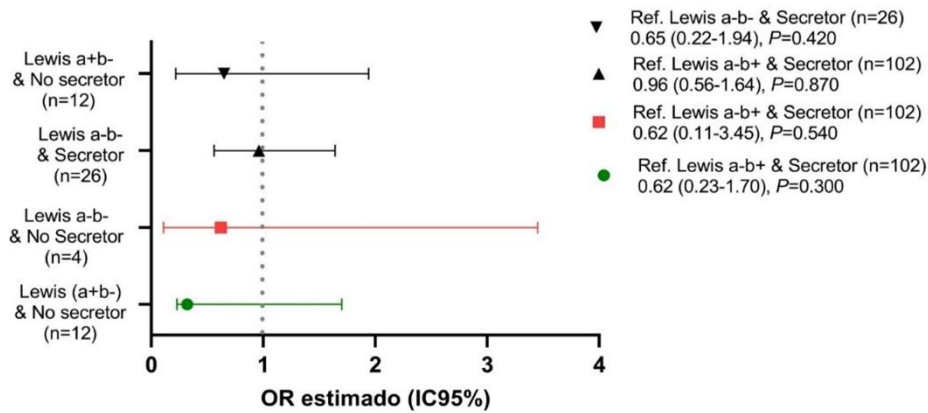
9.5 DETECCIÓN DE ETEC SEGÚN EL FENOTIPO LEWIS Y ESTATUS SECRETOR COMBINADO DEL INFANTE.

Para profundizar en los resultados, se realizó un análisis adicional considerando tanto el fenotipo Lewis como el estatus de secretor, agrupándolo de la siguiente manera; Lewis (a+b-) No Secretor (8.3%), Lewis (a-b-) Secretor (18.1%), Lewis (a-b+) Secretor (70.8%) Lewis (a-b-) No Secretor (2.8%). Al compararlos entre si encontramos ciertas tendencias; entre Lewis (a+b-) No Secretor y Lewis (a-b-) Secretor la susceptibilidad recae en el grupo Lewis (a-b-) Secretor, ya que Lewis (a+b-) No Secretor tiene un 35% menos de probabilidad de presentar infección por ETEC $OR=0.65$ ($IC=0.22-1.94$; $p=0.42$).

Al comparar a los niños Lewis (a-b-) Secretor versus Lewis (a-b+) Secretor, el resultado sugiere que existe un ligero aumento en la probabilidad de detectar ETEC en el grupo Lewis (a-b+) Secretor, ya que Lewis (a-b-) Secretor tiene un 4% menor probabilidad $OR=0.96$ ($IC=0.56-1.64$; $p=0.87$); de igual manera, al comparar Lewis (a-b-) No secretores versus Lewis (a-b+) Secretores, encontramos que los Lewis (a-b-) No secretores tienen un 38% menos de susceptibilidad en la detección de dichas infecciones $OR=0.62$ ($IC=0.11-3.45$, $p=0.54$).

Finalmente, se comparó el grupo Lewis (a+b-) No Secretor con Lewis (a-b+) Secretor, encontrando que el grupo Lewis (a-b+) Secretor es más susceptible ante infecciones entéricas por este patotipo, ya que Lewis (a+b-) No Secretor tuvo 38% menos probabilidad en la detección $OR=0.62$ ($IC=0.23-1.70$, $p=0.30$). (ver gráficos 3).

A)



B)

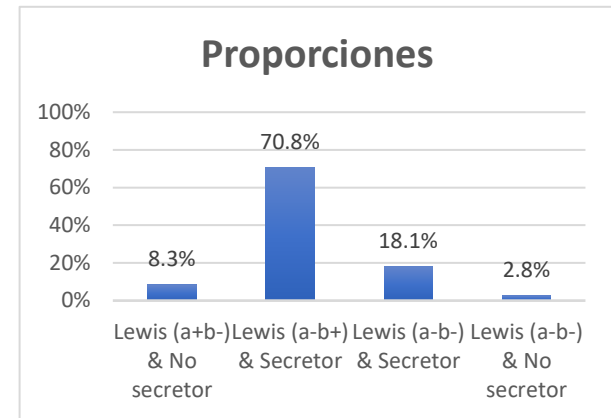


Gráfico 3. Probabilidad y proporción de detectar ETEC según fenotipo Lewis y Estatus Secretor combinado del infante (n=146). A) Probabilidades de detección de ETEC según los fenotipos Lewis y **Estatus Secretor combinado**: Lewis (a+b-) No Secretor y Lewis (a-b-) Secretor (línea negra ▼), Lewis (a-b-) Secretor versus Lewis (a-b+) Secretor (línea negra ▲), Lewis (a-b-) No secretores versus Lewis (a-b+) Secretores (color rojo), Lewis (a+b-) No Secretor con Lewis (a-b+) Secretor (línea verde). Los grupos de referencias fueron seleccionados de acuerdo a poder estadístico. B) Proporción de detección de ETEC dentro de los grupos Lewis y estatus Secretor combinado.

9.6 DETECCIÓN DE ETEC Y ESTATUS SECRETOR MATERNO.

El estatus secretor materno lo podemos observar como un posible factor de riesgo que influye en la susceptibilidad a infecciones por ETEC en los primeros años de vida. Nuestros resultados sugieren que los hijos de madres no secretoras podrían tener un 23% menos de probabilidad de presentar infecciones por ETEC en comparación con los hijos de madres secretoras OR de 0.77 (IC=0.25 - 2.38, P=0.65). (ver gráfico 4).

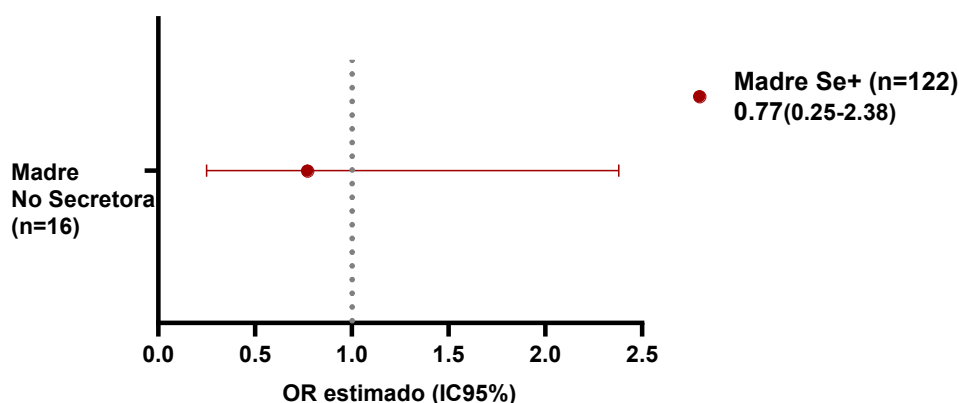


Gráfico 4. Probabilidad de detectar ETEC según estatus secretor materno (n=138).

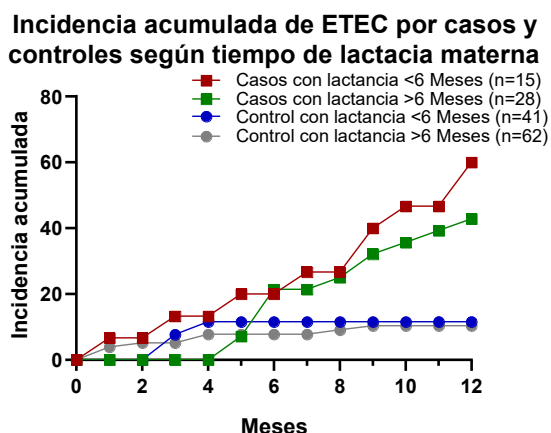
Estatus secretor materno (línea roja). El grupo de referencia fue seleccionado de acuerdo a poder estadístico.

9.7 PATRONES DE LACTANCIA Y ESTATUS SECRETOR MATERNO CON LAS INFECCIONES POR ETEC EN LACTANTES.

Del total de 138 madres que participaron en el estudio, 16 (11.5%) tuvieron fenotipo no secretor y 122 (88.5%) un fenotipo secretor. Se analizó la incidencia acumulada (IA) a los 12 meses de edad en las infecciones por ETEC en los niños, tanto en los casos, como en los controles, y dentro de cada grupo se analizó de acuerdo con el periodo de lactancia, separándolos en niños con lactancia materna menor o igual a 6 meses y niños con lactancia materna superior a 6 meses. En los casos, encontramos que los niños que

lactaron menos 6 meses tuvieron la mayor IA al cumplir el primer año de vida con un 60%, mientras que los niños que lactaron por más de 6 meses la IA fue del 42.85%. De manera similar, en los controles encontramos que los niños que lactaron menos 6 meses tuvieron mayor IA que los niños que lactaron por más de 6 meses con IA del 11.54% y 10.40%, respectivamente (Ver gráfico 5A). Finalmente, comparamos el tiempo de lactancia materna y el estatus secretor con IA en la detección de ETEC. Donde encontramos que, en los casos, los hijos de madres secretoras que lactaron menos de 6 meses en casos tuvieron IA del 70%, y los niños que lactaron más de 6 meses una IA del 45.83%. En los controles, los niños que lactaron menos de 6 meses tuvieron una IA del 10% y los niños que lactaron más de 6 meses tuvieron una IA del 13.24% (Ver gráfico 5B).

A)



B)

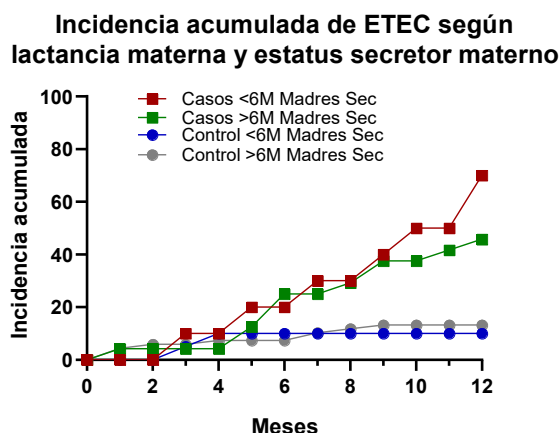


Gráfico 5. patrones de lactancia materna y el estatus secretor materno con las infecciones por ETEC en lactantes A) Incidencia acumulada en casos y controles según lactancia mayor o menor de seis meses. B) Incidencia acumulada en casos y controles según lactancia mayor o menor de seis meses según estatus secretor materno.

10 DISCUSIÓN

En este estudio se emplearon datos de la cohorte de nacimiento SAGE para identificar factores de riesgo potenciales de infección por ETEC (fenotipo Lewis, estatus secretor y tiempo de lactancia materna). Sobre esa base, se diseñó un estudio de caso–control que incluyó 146 lactantes menores de 3 años procedentes de la ciudad de León, con el fin de evaluar la asociación de estas variables con la presencia de ETEC en heces.

El análisis reveló un leve predominio de casos en niños de sexo masculino. Además, el uso de letrinas se observó con mayor frecuencia en los niños ETEC positivos, lo que sugiere que las condiciones de saneamiento inadecuadas podrían facilitar la transmisión de este patógeno, lo cual se relaciona con otras investigaciones como las de Khalil et al. Que han demostrado que el bajo estatus económico y el inadecuado acceso a sistemas de saneamiento son factores de riesgo importantes para contraer infecciones por ETEC(7). Estos hallazgos refuerzan la necesidad de implementar intervenciones dirigidas a mejorar las condiciones higiénico–sanitarias en poblaciones vulnerables.

De acuerdo con la caracterización clínica, los casos de diarreas con detección de ETEC produjeron una diarrea que comúnmente no requirió de atención primaria ni hospitalaria y tampoco tuvieron sintomatologías como vómito, fiebre y presencia de sangre en heces, lo cual se alinea con estudios como el de *Haque et al.* de la cohorte de nacimiento MAL-ED que encontró altas tasas de infección asintomática por ETEC, con tasas de incidencia en algunas regiones que superaban los 45 casos por cada 100 niños(46), aunque las infecciones asintomáticas por ETEC suelen ser altas, no son inofensivas, ya que estas se asocian con consecuencias negativas para la salud, como retraso del crecimiento, debilidad y bajo peso infantil.(28,46).

En los últimos años, se ha considerado que los grupos histo-sanguíneos podrían jugar un rol importante en la patogénesis de ETEC, de acuerdo con estudios como el de *Svennerholm AM et al.* los cuales reportan que los niños con genotipo Le(a+b-) tenían incidencias significativamente más altas de diarrea causada por ETEC que expresan fimbrias del grupo CFA/I que los niños Le(a-b+), sugiriendo que estos eran más

susceptibles a las infecciones por este patotipo de *E. coli* (46). Datos similares han sido reportados por *Pérez J.*(10). En nuestro estudio encontramos que al comparar los fenotipos Lewis obtuvimos que el fenotipo Lewis (a-b+) tiene mayor riesgo de contraer esta infección, aunque estos resultados no son estadísticamente significativos, existen una tendencia a que el fenotipo Lewis (a-b+) sea más susceptible a las infecciones por dicho microorganismo, pero cabe recalcar que lo cual podría deberse a las proporciones desiguales en el tamaño de la muestra.

Por otro lado, el fenotipo secretor, determinado por la actividad de FUT2 en mucosas, modula la expresión de antígenos ABO(H) y Lewis. Mottram et al. describen que los no secretores presentan mayor riesgo de diarrea sintomática por ETEC (48), pero en nuestro estudio los niños secretores mostraron una ligera predisposición a la colonización por este patógeno, aunque no fue estadísticamente significativo. Es posible que otros factores genéticos, nutricionales u otros aún no caracterizados estén influyendo en esta relación. Al analizar el fenotipo Lewis y secretor de manera simultánea, encontramos que Le(a-b+) Secretor tiene mayor probabilidad de detección ante infecciones entéricas por este patotipo. Nuestros resultados difieren con los de otros estudios como el de *Svennerholm AM et al.* los cuales reportan que los niños con genotipo Le(a+b-) tenían incidencias significativamente más altas de diarrea causada por ETEC que expresan fimbrias del grupo CFA/I que los niños Le(a-b+), sugiriendo que estos eran más susceptibles a las infecciones por este patotipo de *E. coli* (46). Sin embargo, en este estudio, posiblemente debido al número limitado de muestras de las que pudimos realizar PCR, solo pudimos encontrar una tendencia, pero no una relación significativa. Además, el estudio de *Svennerholm AM et al.* Incluyó ETEC que expresan fimbrias del grupo CFA/I, mecanismo patogénico que no fue incluido en el presente estudio.

En otra instancia la lactancia materna se ha postulado como un posible modulador que afecta la susceptibilidad a infecciones por ETEC en los primeros años de vida. Nuestros resultados sugieren que los niños con lactancia materna por más de 6 meses disminuyen la incidencia de la infección al primer año de vida, y que los hijos de madres no secretoras

podrían tener un 23% menos de probabilidad de presentar infecciones por ETEC en comparación con los hijos de madres secretoras; esto relaciona con el estudio de *Colston JM* en el que encontraron que los hijos de madres secretoras (FUT2 positivas) tuvieron un aumento del 38% en el riesgo de padecer diarrea por todas las causas (HR = 1,38; IC =1,15–1,66) (8).

La principal limitación de nuestro estudio radica en el tamaño y la distribución desigual de los fenotipos Lewis y estatus secretor, lo que reduce la potencia estadística para detectar asociaciones pequeñas. Asimismo, la falta de datos sobre variables ambientales y nutricionales impide ajustar completamente el modelo. Futuras investigaciones deberían ampliar la muestra, incluir análisis multivariantes y explorar mecanismos moleculares que expliquen estas tendencias.

11 CONCLUSIONES

- En cuanto a las características sociodemográficas las infecciones por ETEC predominaron en niños del género masculino y aquellos que hacían uso de letrina.
- El cuadro clínico de las diarreas con detección de ETEC se caracterizó por diarrea con un promedio de 5 días y 6 deposiciones diarias. La mayoría de los casos no requirieron de hospitalización ni líquidos intravenosos.
- No se encontró asociación estadísticamente significativa entre el Histo-grupo sanguíneo Lewis y estatus secretor e infecciones por ETEC. Sin embargo, niños con el fenotipo Lewis(a-b+) y ser secretor tienden a ser más susceptibles ante infecciones por ETEC.
- Los hijos de madres secretoras que lactaron menos de 6 meses presentaron mayor incidencia a padecer infecciones por ETEC a lo largo del primer año de vida en comparación con aquellos que lactaron más de 6 meses.

12 RECOMENDACIONES

- Investigar el impacto de las infecciones por ETEC en el desarrollo físico y cognitivo de los infantes.
- Realizar el estudio con un mayor número muestral, para incrementar la potencia estadística del mismo.
- Explorar con mayor profundidad el papel del estatus secretor materno en la lactancia para futuras investigaciones sobre los mecanismos inmunológicos en el primer año de vida.

13 BIBLIOGRAFÍA

1. Fleckenstein JM, Sheikh A. Emerging Themes in the Molecular Pathogenesis of Enterotoxigenic Escherichia coli. J Infect Dis. 17 de julio de 2021;224(Suppl 7):S813-20.
2. Troeger C, Colombara DV, Rao PC, Khalil IA, Brown A, Brewer TG, et al. Global disability-adjusted life-year estimates of long-term health burden and undernutrition attributable to diarrhoeal diseases in children younger than 5 years. Lancet Glob Health. marzo de 2018;6(3):e255-69.
3. Colombara DV, Khalil IA messih, Rao PC, Troeger C, Forouzanfar MH, Riddle MS, et al. Chronic Health Consequences of Acute Enteric Infections in the Developing World. Am J Gastroenterol Suppl. 2016;3(2):4-11.
4. Guerrant RL, Oriá RB, Moore SR, Oriá MOB, Lima AAM. Malnutrition as an enteric infectious disease with long-term effects on child development. Nutr Rev. septiembre de 2008;66(9):487-505.
5. Guerrant RL, DeBoer MD, Moore SR, Scharf RJ, Lima AAM. The impoverished gut--a triple burden of diarrhoea, stunting and chronic disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. abril de 2013;10(4):220-9.
6. Muthumuni D, Miliku K, Wade KH, Timpson NJ, Azad MB. Enhanced Protection Against Diarrhea Among Breastfed Infants of Nonsecretor Mothers. Pediatr Infect Dis J. 1 de marzo de 2021;40(3):260-3.
7. Khalil IA, Troeger C, Blacker BF, Rao PC, Brown A, Atherly DE, et al. Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic Escherichia coli diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990-2016. Lancet Infect Dis. noviembre de 2018;18(11):1229-40.
8. Colston JM, Francois R, Pisanic N, Peñataro Yori P, McCormick BJJ, Olortegui MP, et al. Effects of Child and Maternal Histo-Blood Group Antigen Status on Symptomatic and Asymptomatic Enteric Infections in Early Childhood. J Infect Dis. 1 de julio de 2019;220(1):151-62.
9. Ahmed T, Lundgren A, Arifuzzaman M, Qadri F, Teneberg S, Svennerholm AM. Children with the Le(a+b-) Blood Group Have Increased Susceptibility to Diarrhea Caused by Enterotoxigenic Escherichia coli Expressing Colonization Factor I Group Fimbriae. Infect Immun. mayo de 2009;77(5):2059-64.
10. Perez J. Infecciones sintomáticas por Escherichia coli Enterotoxigénica en niños ≤ 5 años de León y su correlación con los fenotipos Lewis y secretor. [Leon]: UNAN LEON; 2019.
11. Vilchez S, Reyes D, Paniagua M, Bucardo F, Möllby R, Weintraub A. Prevalence of

- diarrhoeagenic *Escherichia coli* in children from León, Nicaragua. *J Med Microbiol*. mayo de 2009;58(Pt 5):630-7.
12. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. febrero de 2004;2(2):123-40.
 13. ES Elsevier Health [Internet]. [citado 1 de junio de 2022]. Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica - 9788491134992. Disponible en: <https://tienda.elsevier.es/mandell-douglas-y-bennett-enfermedades-infecciosas-principios-y-practica-9788491134992.html>
 14. Qadri F, Svennerholm AM, Faruque ASG, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev*. julio de 2005;18(3):465-83.
 15. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. enero de 1998;11(1):142-201.
 16. Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: Identification and Characterization. *J Infect Dis*. 1 de agosto de 1980;142(2):279-86.
 17. Wolf MK. Occurrence, distribution, and associations of O and H serogroups, colonization factor antigens, and toxins of enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. octubre de 1997;10(4):569-84.
 18. Bray J. Isolation of Antigenically Homogeneous Strains of *Bact. coli neapolitanum* from Summer Diarrhoea of Infants. *J Pathol Bacteriol*. 1945;57(2):239-47.
 19. Taylor J, Wilkins MP, Payne JM. Relation of Rabbit Gut Reaction to Enteropathogenic *Escherichia coli*. *Br J Exp Pathol*. febrero de 1961;42(1):43-52.
 20. Levine MM, Bergquist EJ, Nalin DR, Waterman DH, Hornick RB, Young CR, et al. *Escherichia coli* strains that cause diarrhoea but do not produce heat-labile or heat-stable enterotoxins and are non-invasive. *Lancet Lond Engl*. 27 de mayo de 1978;1(8074):1119-22.
 21. Boschi-Pinto C, Velebit L, Shibuya K. Estimating child mortality due to diarrhoea in developing countries. *Bull World Health Organ*. septiembre de 2008;86(9):710-7.
 22. Zaidi D, Wine E. An update on travelers' diarrhea. *Curr Opin Gastroenterol*. enero de 2015;31(1):7-13.
 23. Hara-Kudo Y, Takatori K. Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiol Infect*. octubre de 2011;139(10):1505-10.
 24. Johansson MEV, Sjövall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. junio de 2013;10(6):352-61.

25. EatA, an Immunogenic Protective Antigen of Enterotoxigenic *Escherichia coli*, Degrades Intestinal Mucin - PMC [Internet]. [citado 18 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3911389/>
26. Roy K, Hilliard GM, Hamilton DJ, Luo J, Ostmann MM, Fleckenstein JM. Enterotoxigenic *Escherichia coli* EtpA mediates adhesion between flagella and host cells. *Nature*. 29 de enero de 2009;457(7229):594-8.
27. Kumar P, Kuhlmann FM, Bhullar K, Yang H, Vallance BA, Xia L, et al. Dynamic Interactions of a Conserved Enterotoxigenic *Escherichia coli* Adhesin with Intestinal Mucins Govern Epithelium Engagement and Toxin Delivery. *Infect Immun*. 18 de noviembre de 2016;84(12):3608-17.
28. Qadri F, Saha A, Ahmed T, Al Tarique A, Begum YA, Svennerholm AM. Disease Burden Due to Enterotoxigenic *Escherichia coli* in the First 2 Years of Life in an Urban Community in Bangladesh. *Infect Immun*. agosto de 2007;75(8):3961-8.
29. Caracterización y estudios de la interacción celular del factor de colonización nativo CS6 purificado a partir de un aislado clínico de *Escherichia coli* enterotoxigénica | Infección e inmunidad [Internet]. [citado 18 de junio de 2022]. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/IAI.01397-08>
30. Jansson L, Tobias J, Jarefjäll C, Lebens M, Svennerholm AM, Teneberg S. Sulfatide Recognition by Colonization Factor Antigen CS6 from Enterotoxigenic *Escherichia coli*. *PLOS ONE*. 16 de febrero de 2009;4(2):e4487.
31. Jansson L, Tobias J, Lebens M, Svennerholm AM, Teneberg S. The major subunit, CfaB, of colonization factor antigen i from enterotoxigenic *Escherichia coli* is a glycosphingolipid binding protein. *Infect Immun*. junio de 2006;74(6):3488-97.
32. Mazariego-Espinosa K, Cruz A, Ledesma MA, Ochoa SA, Xicohtencatl-Cortes J. Longus, a type IV pilus of enterotoxigenic *Escherichia coli*, is involved in adherence to intestinal epithelial cells. *J Bacteriol*. junio de 2010;192(11):2791-800.
33. Fleckenstein JM, Holland JT, Hasty DL. Interaction of an Outer Membrane Protein of Enterotoxigenic *Escherichia coli* with Cell Surface Heparan Sulfate Proteoglycans. *Infect Immun*. marzo de 2002;70(3):1530-7.
34. Jp C, M M. Structure-function analysis of the TibA self-associating autotransporter reveals a modular organization. *Infect Immun* [Internet]. mayo de 2011 [citado 18 de junio de 2022];79(5). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21343356/>
35. Fleckenstein JM, Hardwidge PR, Munson GP, Rasko DA, Sommerfelt H, Steinsland H. Molecular mechanisms of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *Microbes Infect*. febrero de 2010;12(2):89-98.
36. Lindenthal C, Elsinghorst EA. Enterotoxigenic *Escherichia coli* TibA Glycoprotein Adheres to Human Intestine Epithelial Cells. *Infect Immun*. enero de 2001;69(1):52-

7.

37. Connor BA, Riddle MS. Post-infectious sequelae of travelers' diarrhea. *J Travel Med.* octubre de 2013;20(5):303-12.
38. Modern Blood Banking & Transfusion Practices - F.A. Davis Company [Internet]. [citado 18 de junio de 2022]. Disponible en: <https://www.fadavis.com/product/modern-blood-banking-transfusion-practices-harmening>
39. de Mattos LC. Structural diversity and biological importance of ABO, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Rev Bras Hematol E Hemoter.* diciembre de 2016;38(4):331-40.
40. Cooling L. Blood Groups in Infection and Host Susceptibility. *Clin Microbiol Rev.* julio de 2015;28(3):801-70.
41. Heggelund JE, Varrot A, Imberty A, Krengel U. Histo-blood group antigens as mediators of infections. *Curr Opin Struct Biol.* junio de 2017;44:190-200.
42. Donta ST, Smith DM. Stimulation of steroidogenesis in tissue culture by enterotoxigenic *Escherichia coli* and its neutralization by specific antiserum. *Infect Immun.* marzo de 1974;9(3):500-5.
43. McCormick BJJ, Richard SA, Murray-Kolb LE, Kang G, Lima AAM, Mduma E, et al. Full breastfeeding protection against common enteric bacteria and viruses: results from the MAL-ED cohort study. *Am J Clin Nutr.* 4 de marzo de 2022;115(3):759-69.
44. Wells JM, Gao Y, de Groot N, Vonk MM, Ulfman L, van Neerven RJJ. Babies, Bugs, and Barriers: Dietary Modulation of Intestinal Barrier Function in Early Life. *Annu Rev Nutr.* 22 de agosto de 2022;42:165-200.
45. Donovan SM. The Role of Lactoferrin in Gastrointestinal and Immune Development and Function: A Preclinical Perspective. *J Pediatr.* junio de 2016;173 Suppl:S16-28.
46. Haque MA, Nasrin S, Palit P, Das R, Wahid BZ, Gazi MA, et al. Site-Specific Analysis of the Incidence Rate of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Infection Elucidates an Association with Childhood Stunting, Wasting, and Being Underweight: A Secondary Analysis of the MAL-ED Birth Cohort. *Am J Trop Med Hyg.* 7 de junio de 2023;108(6):1192-200.
47. Ahmed T, Lundgren A, Arifuzzaman M, Qadri F, Teneberg S, Svennerholm AM. Children with the Le(a+b-) Blood Group Have Increased Susceptibility to Diarrhea Caused by Enterotoxigenic *Escherichia coli* Expressing Colonization Factor I Group Fimbriae. *Infect Immun.* mayo de 2009;77(5):2059-64.

14 ANEXOS

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

1. Información del Paciente:

- Sexo: ☐ Masculino ☐ Femenino
- Edad: _____

2. Condiciones Generales:

- Deposición de Heces: ☐ inodoro ☐ letrina
- Agua: ☐ potable ☐ pozo

3. Síntomas:

- Vómito: ☐ Sí ☐ No
- Fiebre: ☐ Sí ☐ No
- Sangre en Heces: ☐ Sí ☐ No

4. Tratamiento:

- Recibió Zinc: ☐ Sí ☐ No
- Recibió Líquido Intravenoso: ☐ Sí ☐ No
- Recibió Medicamento para Vómito o Diarrea: ☐ Sí ☐ No

5. Atención Médica:

- Recibió Atención Primaria: ☐ Sí ☐ No
- Recibió Atención Hospitalaria: ☐ Sí ☐ No
- Requirió Hospitalización: ☐ Sí ☐ No

6. Detalles Adicionales:

- Días con Diarrea: _____
- Deposición de Heces por Día: _____