

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**  
**CENTRO DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS**



**Tesis para optar al título de Máster en Microbiología Médica**

**Asociación entre los Antígenos Histo-sanguíneos y títulos de IgA fecal anti-rotavirus, en niños  $\leq$  2 meses, en la ciudad de León.**

Autora:

❖ Licda. Elohina Lindalyz Campos Laguna.

**Tutor:**

Lic. Fredman González. MSc.  
Departamento de Microbiología y Parasitología.  
Facultad de Ciencias Médicas  
UNAN-León.

**Co-tutor:**

Dr. Filemon Bucardo. PhD.  
Profesor titular Departamento de  
Microbiología y Parasitología.  
Facultad de Ciencias Médicas  
UNAN-León.

León, 2020

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	1
<b>DEDICATORIA</b>	2
<b>AGRADECIMIENTO</b>	3
<b>GLOSARIO</b>	4
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	5
<b>2. ANTECEDENTES</b>	7
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b>	9
<b>4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	10
<b>5. OBJETIVOS</b>	11
5.1 Objetivo General	11
5.2 Objetivos Específicos	11
<b>6. MARCO TEÓRICO</b>	12
6.1 Agente Infeccioso	12
6.2 Replicación del Virus	13
6.3 Patogenesis	15
6.4 Inmunidad	15
6.5 Vacunas	16
6.6 Sistema Histosanguíneo	20
6.6.1 Sistema ABO	20
6.6.2 Lewis y Gen Secretor	22
<b>7. MATERIAL Y MÉTODO</b>	24
<b>8. RESULTADOS</b>	28
<b>9. DISCUSIÓN</b>	33
<b>10. CONCLUSIONES</b>	37
<b>11. RECOMENDACIONES</b>	38
<b>12. REFERENCIAS</b>	39
<b>13. ANEXOS</b>	45

## RESUMEN

### **Asociación entre los Antígenos Histo-sanguíneos y títulos de IgA fecal anti-Rotavirus, en niños $\leq 2$ meses, en la ciudad de León.**

Campos Laguna, Elohina

El rotavirus (RV) es la causa más común de diarrea severa entre niños  $<5$  años de edad a nivel mundial. La inmunidad natural contra rotavirus se adquiere después de la exposición temprana al virus, basada en detección de anticuerpos de tipo IgA e IgG en suero. Sin embargo, factores del huésped, virales y entorno podrían disminuir la respuesta inmune ante la infección. Algunos estudios como el de Bucardo y colaboradores en el 2019, indicó que existe una menor susceptibilidad a la infección por RV P[8] en individuos con fenotipo  $Le^a$  y no secretor. No obstante, la evaluación de anticuerpos previos a la vacunación y su relación con los antígenos Histo-sanguíneos (HBGAs) no ha sido estudiado. En este estudio se investigó las infecciones naturales previas a la vacunación a través de la determinación de anticuerpos IgA fecales y su relación con los HBGAs. Se estudiaron 128 niños  $\leq 2$  meses provenientes de la ciudad de León, atendidos en el sector de salud del Perla María Norori, previo consentimiento paterno se procedió a obtener de los niños una muestra de heces para detectar IgA fecal mediante un ELISA in House, una muestra de saliva para determinar fenotipos Lewis y secretor y finalmente una muestra de sangre para identificar el tipo sanguíneo por medio de Hemaglutinación. En el estudio predominó el sexo masculino 77/128 y la edad promedio fue de 60 días. El 78.9% de tenían títulos de IgA anti-Rotavirus  $\geq 320$ , el 67.2% fueron tipo sanguíneo O y 85.9% Lewis positivo predominando  $Le^b$  77.3%, y el 86.7% fueron secretores, además se encontró una fuerte correlación entre los títulos de IgA y el tipo sanguíneo A (OR = 3.1), en contraste los niños  $Le^a$  tienen menor riesgo de presentar títulos de IgA  $\geq 320$ . El presente estudio evidencia la presencia de anticuerpos fecales de tipo IgA en los niños evaluados pudiendo ser un posible marcador de infecciones naturales con rotavirus antes de la vacunación.

## **DEDICATORIA**

**A mis Hijos, mi razón de seguir adelante.**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, porque los tiempos de él son perfectos.

Fredman González M.Sc., por brindarme el tiempo, el espacio, sus conocimientos y gran apoyo para la realización de este trabajo.

Filemón Bucardo PhD., por dedicar el tiempo necesario a este trabajo de investigación y brindarme los mejores consejos metodológicos y científicos para la culminación de este, con éxito.

Byron Flores Somarriba PhD., por su incondicional ayuda en los análisis estadísticos de este trabajo, por su paciencia y su gran vocación de enseñanza.

## **GLOSARIO**

**RV:** Rotavirus

**HBGA:** Antígenos del grupo Histo-sanguíneos

**IgA:** Inmunoglobulina A

**IgM:** Inmunoglobulina M

**ARN:** Ácido ribonucleico

**PBS:** Tampón Fosfato Salino (Phosphate Buffered Saline)

**EDTA:** Ácido etilendiaminotetraacético

**ABO:** Tipos sanguíneos

**ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)

**OD:** Densidad Óptica

**SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences (programa estadístico)

**X<sup>2</sup>:** Prueba chi-cuadrado

**SAGE:** Gastroenteritis por Sapovirus.

## 1. INTRODUCCIÓN

El rotavirus (RV) es la causa más común de diarrea severa entre niños <5 años de edad a nivel mundial<sup>(1)</sup>. Los estudios epidemiológicos del rotavirus han sugerido que la inmunidad natural se adquiere después de la exposición temprana al virus y que muchos niños adquieren la inmunidad solo después de varias infecciones<sup>(2)</sup>. Existen diferentes factores que influyen en la adquisición de una infección gastrointestinal como la causada por rotavirus entre ellas: nutrición, los factores genéticos del huésped y el daño fisiológico al intestino debido a infecciones previas o afecciones crónicas pueden contribuir a la susceptibilidad y la protección inmune débil en entornos de bajos recursos y alta carga<sup>(3)</sup>. Estos mismos factores pudieran también influir en la eficacia de las vacunas orales que se disponen contra RV las cuales deberían proteger a un bebé por el mismo mecanismo que la infección natural<sup>(2)</sup>.

Sin embargo, varios factores podrían disminuir la inmunogenicidad y la eficacia de las vacunas vivas contra el rotavirus en zonas subdesarrolladas, incluida la presencia de títulos altos de IgG transplacentaria o actividad neutralizante contra rotavirus en la leche materna entre otras<sup>(4)</sup>.

Recientemente, el papel de los antígenos del grupo histo-sanguíneo (HBGA) en la toma de vacunas contra rotavirus ha surgido como un tema importante, particularmente en el contexto de la susceptibilidad de diferentes poblaciones a diversas cepas de rotavirus. Esta susceptibilidad génica ha sido demostrada en el estudio de *Johan Nordgren y colaboradores*, en este estudio de Burkina Faso y Nicaragua indican que los RV P [8] infectaban exclusivamente a niños con Lewis y secretores positivos. En contraste, las cepas P [6] RV infectaron principalmente a niños negativos a Lewis, independientemente de su estado secretor<sup>(5)</sup>.

Como el rotavirus es un patógeno de la mucosa que infecta las células epiteliales de las vellosidades del intestino delgado, se podría esperar que los anticuerpos del intestino mucoso sean indicadores confiables de la respuesta inmune después de la infección natural por rotavirus o la vacunación contra rotavirus.

Se ha supuesto durante mucho tiempo que la IgA es un factor crítico en la protección de las mucosas contra las infecciones virales, dado que la IgA se produce en grandes cantidades en las superficies mucosa, incluido el tracto gastrointestinal. Muchos estudios en humanos correlacionan los aumentos en los niveles de IgA viral específicos en la superficie de la mucosa con el cese de la excreción del virus o la protección contra la infección. Este proceso tarda al menos 7-10 días después de la infección inicial del virus en el tracto gastrointestinal<sup>(6)</sup>.

Los anticuerpos contra el rotavirus aparecen rápidamente en el suero y en las secreciones de la mucosa (saliva, intestino delgado, heces) después del inicio de la infección. Los marcadores más sensibles de la infección por rotavirus son los anticuerpos IgA e IgM en el jugo duodenal<sup>(7)</sup>, y los niveles de IgA antirotavírico fecal se pueden usar para predecir la presencia de IgA duodenal<sup>(8)</sup>.

En Nicaragua hasta el momento no hay registros de infecciones adquiridas antes de la vacunación en niños por rotavirus que utilicen como criterio de infección la detección de los niveles de IgA fecal anti-rotavirus, ni tampoco se ha relacionado los títulos de IgA fecal anti-RV con la presencia de antígenos histo-sanguíneos.

## 2. ANTECEDENTES

En un estudio realizado por *Bishop y colaboradores* en 1996 en Australia con el título "Anticuerpos contra rotavirus en suero, heces y leche materna como indicadores de infección en pares madre-hijo" 78 parejas de madres e infantes fueron seguidas durante 12-17 meses después del nacimiento. Se recolectaron muestras diarias, desde el nacimiento hasta los 14 días y después en intervalos semanales durante el tiempo de seguimiento. Las infecciones por rotavirus en niños se detectaron por ELISA de antígenos fecales semanales y niveles de IgA anti-rotavirus, IgG anti-rotavirus sérico, e IgA anti-rotavirus y anticuerpos neutralizantes (AN) en muestras mensuales de leche materna. Se detectó infección primaria por rotavirus en 26 niños (en 15 [58%] por excreción fecal, 12 [46%] por seroconversión de IgG y 22 [85%] por elevaciones de anticuerpos anti-rotavirus IgA [coproconversión de IgA] en muestras fecales consecutivas) El "desafío" del rotavirus se detectó mediante aumentos en los niveles de AN en la leche materna en 9 (47%) de 19 madres, incluidas 5 (26%) de parejas en las que no había otra evidencia de infección por rotavirus. La coproconversión de IgA es la técnica más sensible para la detección de infección por rotavirus sintomática y asintomática en niños pequeños<sup>(8)</sup>.

En un estudio publicado en el 2011, por *Pengwei Huang y colaboradores*, plantean que los genotipos de Rotavirus P [1], P [2], P [3] y P [7] son sensibles a la sialidasa lo que plantea que los RV humanos P de pueden reconocer carbohidratos alternativos, como los antígenos de histo-grupo sanguíneo HBGA<sup>(9)</sup>.

Estudios in vitro recientes, que utilizan diversos ensayos de unión a glucano, han demostrado que los RV humanos más comunes reconocen los antígenos de grupo sanguíneo histo-humano (HBGA) de una manera específica del genotipo P, los investigadores determinaron que RV P [8] infectaban exclusivamente a niños con Lewis y secretores positivos. En contraste, las cepas P[6] RV infectaron principalmente a niños negativos a Lewis, independientemente de su estado secretor<sup>(10)</sup>.

Según *Raphael Bohm y colaboradores*, en un estudio hecho en el 2014, descubrieron que el HBGA de tipo A interactúa con el VP8\* de rotavirus P [4] y P [6] humanos. En

estos complejos, determinaron, por primera vez, una participación del resto fucosa con la superficie de la proteína. Este compromiso puede ayudar a explicar por qué A-tri (glicano) reduce la infección por el rotavirus P[6] RV-3 más sustancialmente que las cepas P[14] HAL1166 y P[9] K8. Sin embargo, como la reducción de la infecciosidad de DS-1 por A-tri fue similar a la de HAL1166 y K8, es probable que también intervengan otros factores, incluida la diferencia en el uso de otros receptores como las integrinas entre DS-1 y RV-3<sup>(11)</sup>.

En un estudio de casos y controles realizado por *Ting-An Yang y colaboradores* en el 2017, indican que todos los sujetos de casos y controles eran secretores débiles o secretores y que no se observaron no secretores. Sin embargo, como se menciona en los no secretores en la población caucásica, el secretor débil era un factor protector importante, y la mutación A385T en FUT2 que condujo a un cambio de aminoácidos de I129F se asoció con un riesgo reducido de aproximadamente 28 veces o protección del 96.5% contra las infecciones por rotavirus de moderadas a severas. Tomados en conjunto, los datos apoyan constantemente el papel esencial del fenotipo secretor en la mediación de la infección por rotavirus en distintas poblaciones étnicas<sup>(12)</sup>.

Un estudio reciente (2019) de *Bucardo y colaboradores*, indica que existe una menor susceptibilidad a la infección por rotavirus P[8] en individuos con fenotipo Le<sup>a</sup> y no secretor. Los estudios in vitro también han demostrado que el rotavirus P [8] no se une a Le<sup>a</sup> sino a antígenos secretores, como H tipo 1 y Le<sup>b</sup><sup>(13)</sup>.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Rotavirus es la causa más frecuente de enfermedad diarreica grave en niños pequeños de todo el mundo, por lo que todavía sigue siendo un problema de salud pública, en Nicaragua se reportan altas incidencias de RV y aunque se ha introducido la vacuna esta no fue cien por ciento efectiva, en nuestro país según la bibliografía tuvo una efectividad del 58% y existe una gran proporción de casi 50% de los niños que se siguen infectando por RV, para tratar de entender esta situación investigaremos la infecciones previa a la vacunación asociados a un factor genético que pueda favorecer a estas infecciones naturales, por lo tanto este estudio contribuirá a conocer las infecciones incidentes previa a la vacunación en niños menores o iguales a dos meses en la ciudad de León.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿Cuál es la asociación entre los Antígenos Histo-sanguíneos y títulos de IgA fecal anti-Rotavirus, en niños  $\leq 2$  meses, en la ciudad de León?

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo general**

Determinar la asociación entre los Antígenos Histo-sanguíneos y títulos de IgA fecal anti-Rotavirus, en niños  $\leq$  2 meses, en la ciudad de León.

### **5.2 Objetivos específicos**

1. Caracterizar a la población de estudio de acuerdo a las variables sociodemográficas.
2. Identificar los grupos Histo-sanguíneos Lewis, Secretor y ABO en la población de estudio.
3. Determinar los títulos de IgA fecal en niños previo a la vacunación contra Rotavirus.
4. Asociar los títulos de IgA fecal y el fenotipo Histo-sanguíneo de la población de estudio.

## 6. MARCO TEÓRICO

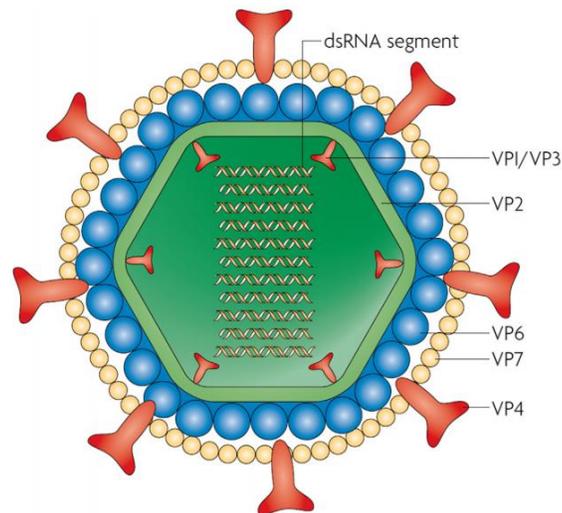
### 6.1 Agente Infeccioso

El género rotavirus pertenece a la familia *Reoviridae*. La partícula viral mide 60 a 80 nm de diámetro y está compuesta de tres capas proteicas concéntricas alrededor del genoma y tiene forma de rueda<sup>(14)</sup>. Es un virus de ARN de doble cadena (dsARN) no envueltos, en 11 segmentos, cada uno codifica una proteína única, excepto el segmento 11 que codifica 2 proteínas no estructurales diferentes (NSP5 y NSP6) en algunas cepas. Seis de los segmentos genéticos codifican proteínas estructurales virales (VP1 a VP4, VP6 y VP7), que están integradas en el virión, y 5 segmentos genéticos codifican proteínas no estructurales (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 y NSP5 / NSP6). La partícula infecciosa del rotavirus se compone de 3 capas concéntricas que encierran los 11 segmentos y se conocen como virus de triple capa<sup>(15)</sup>.

El virión consiste en una capa de proteína VP2 interna que rodea los segmentos de ARN y varias moléculas de proteínas VP1 y VP3, una cápside de proteína VP6 media y una capa externa que contiene picos de proteína VP4 incrustados en una cápside de VP7. Ambas proteínas externas de la cápside, VP7 y VP4, poseen antígenos de neutralización y juegan un papel importante en la entrada del virus y la infección de las células diana. La mayoría de la cápside externa está formada por las proteínas VP7, que forman el caparazón alrededor del virión. Las proteínas VP4 forman picos activados por la proteasa que se proyectan hacia afuera desde la cápside para su unión. En los intestinos, la presencia de proteasas similares a la tripsina escinde la proteína VP4 en 2 polipéptidos, VP8\* y VP5\*. El VP8\* forma la cabeza de la espiga VP4, mientras que el VP5\* forma el tallo y la base de la proteína. Ambas proteínas contienen epítomos neutralizantes secuenciales y epítomos neutralizantes expuestos a la superficie<sup>(16)</sup>.

Los rotavirus se dividen en siete grupos (A-G) basándose en las propiedades antigénicas de la proteína VP6. Los grupos A, B y C son patógenos humanos, siendo el grupo A, el causante de casi todos los brotes de diarrea asociada a rotavirus, tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. Estos grupos, a su vez, se dividen en

subgrupos y serotipos según las proteínas VP4 (serotipo P) y VP7 (serotipo G), esto le confiere una alta diversidad de cepas por la heterogenicidad que se puede producir<sup>(17)</sup>.



**Figura 1.** Estructura de una partícula viral de Rotavirus (*Tomada de Esona MD, Gautam R. Rotavirus. Clin Lab Med. junio de 2015;35(2):363–91*).

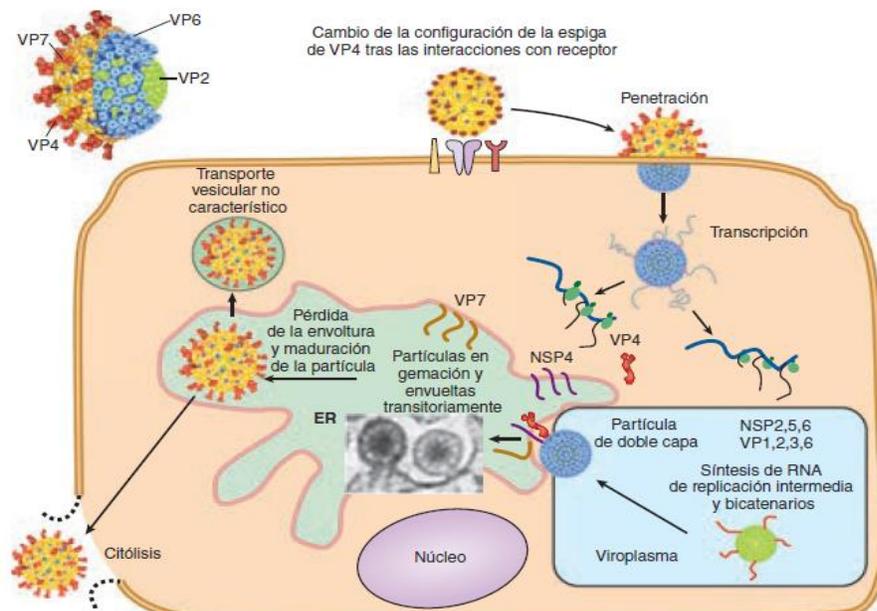
## 6.2 Replicación del virus

En el huésped, la replicación del rotavirus está restringida al intestino, específicamente en el citoplasma celular de la célula huésped, y ocurre dentro de cuerpos de inclusión citoplasmáticos (viroplasmas). Las capas proteicas de triple cápside las hacen resistentes al ambiente ácido del estómago y a las enzimas digestivas del intestino. Una vez en el intestino, los viriones de rotavirus infectan y entran a los enterocitos de las vellosidades del intestino delgado<sup>(16,18)</sup>.

La proteína de adherencia celular para los rotavirus es la hemaglutinina viral, un componente menor de la cápside externa. Tras la adherencia y penetración, ocurre la pérdida de la envoltura de las partículas virales en los lisosomas del citoplasma celular. Sólo se retira la cubierta externa del virus y se activa un ácido ribonucleico (ARN) transcriptasa relacionada con el centro. Esta transcriptasa transcribe moléculas de ARN mensajero (ARNm) de la tira negativa de cada segmento de ARN bicatenario del genoma que contiene el centro intacto. Las moléculas de ARNm funcional corresponden en

tamaño a los segmentos de genoma. La mayor parte de los segmentos de ARN codifican una sola proteína, aunque algunos codifican dos proteínas. Los centros de los rotavirus contienen todas las enzimas necesarias para la transcripción, la incorporación en la cápside y extrusión de los ARNm del centro, dejando en el interior segmentos de genoma de ARN bicatenario<sup>(14,18)</sup>.

Los ARNm son traducidos en productos génicos primarios. Algunos de los transcritos de longitud completa son incorporados en la cápside para formar partículas virales inmaduras. Una replicasa viral interviene en la síntesis de tiras de polaridad negativa para formar los segmentos de genoma bicatenarios. Esta replicación para formar ARN bicatenario se presenta en estructuras centrales parcialmente completadas. El reordenamiento del genoma ocurre rápidamente en células infectadas simultáneamente por diferentes virus del mismo subgrupo, lo que da origen a partículas virales que contienen segmentos de ARN de diferentes cepas progenitoras. Los polipéptidos virales probablemente se autoensamblan para formar las cápsides interna y externa. La citólisis produce la liberación de viriones de progenie<sup>(14,18)</sup>.



**Figura 2.**

Generalidades del ciclo de replicación del rotavirus (Tomada de Brooks G, Morse S, Carroll K, Mietzner T, Butel J. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. 25a ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores; 2010. 736 p.)

### **6.3 Patogénesis**

La infección por rotavirus puede provocar enfermedades sintomáticas o asintomáticas. El virus se une y se replica en las células epiteliales presentes en las vellosidades del intestino delgado proximal (enterocitos), si no es neutralizado por los jugos estomacales<sup>(19)</sup>. La patogénesis de la diarrea por rotavirus depende de varios factores tanto del huésped como del virus, y ambos afectan el resultado de la enfermedad. El factor huésped más evidente que afecta el resultado clínico de la enfermedad es la edad. Como resultado de la protección mediada principalmente por la transferencia transplacentaria de anticuerpos maternos, los niños menores o iguales a 3 meses de edad infectados con rotavirus rara vez tienen enfermedad sintomática, excepto en niños inmunocomprometidos. La reducción en el título de anticuerpos maternos corresponde a la edad de exposición máxima de niños a rotavirus entre las edades de 3 y 24 meses<sup>(16)</sup>. Independientemente del huésped o los factores virales asociados con la enfermedad, la capacidad inductora de diarrea por rotavirus se ha atribuido a varios mecanismos diferentes, incluida la malabsorción secundaria a la destrucción de los enterocitos o la interrupción de las funciones de absorción de los enterocitos y también la isquemia de las vellosidades, en las micrografías electrónicas de las vellosidades intestinales de un modelo animal sin (normal) y con (anormal) infección por rotavirus se puede observar la destrucción de las vellosidades responsables de la función de absorción. Otros mecanismos inductores son la actividad de enterotoxinas y la movilización de líquido intracelular (secreción de iones de calcio y cloruro) por NSP4, y la activación de los sistemas entérico, nervioso y vascular que estimulan la secreción indirecta<sup>(16,20)</sup>.

### **6.4 Inmunidad**

Un factor importante para la gravedad de la enfermedad por rotavirus es la edad del niño. Los niños más pequeños tienen un riesgo significativamente mayor de una infección primaria que conduce a una enfermedad grave, y la mayoría de los casos de diarrea severa y deshidratante se producen entre niños de 3 a 35 meses<sup>(21)</sup>. Sin embargo, los niños de 3 meses de edad y menores pueden no desarrollar síntomas de diarrea cuando están infectados con rotavirus porque tienen anticuerpos maternos transplacentarios para protegerlos en los primeros meses de vida. Por lo general, las primeras infecciones

son más graves y ocurren cuando la inmunoglobulina (Ig)G específica para rotavirus materno circulante está disminuyendo<sup>(22)</sup>.

Los virus gastrointestinales enteropatógenos como el rotavirus inducen la producción de IgA que funciona en la inmunidad protectora de la mucosa. La IgA es predominante en la luz intestinal y se sintetiza en cantidades que exceden ampliamente a cualquiera de los otros anticuerpos. La diferenciación de las células B virus-específicas en células secretoras de IgA (IgAs) es un proceso que toma de 3 a 5 días después del período de incubación (1-3 días). La IgA funciona en la unión a antígenos, toxinas, proteínas extrañas y microorganismos para inhibir la penetración del epitelio intestinal. La protección pasiva contra el rotavirus se ha demostrado en muchos sistemas de modelos animales y los primeros estudios indicaron que está mediada principalmente por la presencia de anticuerpos en el intestino y no en la circulación. En ratones, se demostró que la IgA es más potente que la IgG para proteger a las crías de la enfermedad por rotavirus, pero se observó protección con ambas inmunoglobulinas<sup>(23)</sup>.

En un estudio de cohorte realizado en Australia, se demostró que la infección frecuente de rotavirus en los niños parece estimular la producción de niveles sostenidos de IgA fecal, lo que se correlaciona con la protección contra la infección y la enfermedad<sup>(24)</sup>. Un hallazgo importante de ambos estudios fue que, aunque se pudo establecer una correlación entre la IgA en heces y la protección, hubo un número significativo de niños, con títulos elevados de IgA en heces previos a la infección, que se infectaron. Sin embargo, en los estudios de niños pequeños, algunas de las IgA en heces podrían haber sido de origen de leche materna, y tal vez esta IgA adquirida pasivamente podría tener una eficacia protectora menor porque no puede mediar la expulsión viral<sup>(25)</sup>.

## **6.5 Vacunas**

Dos vacunas vivas contra el rotavirus con administración por vía oral (Rotarix [RV1], GSK Biologicals; y RotaTeq [RV5], Merck) han sido ampliamente evaluadas y han demostrado su eficacia en la prevención de enfermedades graves y muerte en niños<sup>(26)</sup>.

**Rotarix** es una vacuna monovalente (P1A[8]G1), obtenida por atenuación mediante pases celulares sucesivos de una cepa de origen humano. Esta cepa fue aislada de un niño con diarrea en Cincinnati – Estados Unidos. La vacunación con esta cepa simula la infección natural, que induce protección contra la diarrea grave en ulteriores infecciones, tanto por la misma cepa (homotípica) como por cepas distintas (heterotípica), por que comparte epítopes neutralizantes contra la mayoría de los rotavirus humanos aislados en pacientes con gastroenteritis severa por rotavirus<sup>(27)</sup>.

Esta vacuna se administra por vía oral (1 ml), en 2 dosis comenzando a las 6 semanas de edad, debiendo respetarse un intervalo de 4 semanas entre las dosis. El esquema de vacunación debe haberse completado a las 24 semanas de edad. Es una vacuna liofilizada que se almacena a 2 - 8° C, y se reconstituye con buffer de Carbonato de calcio. Tiene replicación intestinal y el virus se elimina en la materia fecal del 15 y el 50% de los niños vacunados, durante aproximadamente 7 días<sup>(27)</sup>.

**RotaTaq** es una vacuna pentavalente (G1, G2, G3, G4 y P1[8]) obtenida por recombinación genética de rotavirus de una cepa de origen bovino y varias cepas humanas. La vacuna proporciona protección homotípica contra cada una de las cepas humanas incluidas en ella. G1, G2, G3, G4, y P 1[8]<sup>(28)</sup>.

Se administra por vía oral, en 3 dosis a partir del primer mes de vida con 1 o 2 meses de intervalos, no necesita ser reconstituida, contiene un buffer líquido para neutralizar la acidez estomacal. Se presenta en estado líquido y se almacena en temperaturas de 2 a 8° C<sup>(28)</sup>.

Todos los serotipos son un “reasociado” de genes humanos - bovinos (WC3), no tiene replicación intestinal, habiéndose observado eliminación por materia fecal en el 9% de los vacunados con la primera dosis, siendo despreciable con las dosis posteriores <sup>(28)</sup>.

La eficacia de RV1 y RV5 ha variado en diferentes entornos con estudios que muestran una mayor eficacia en países desarrollados en comparación con países en vías de desarrollo. La Organización Mundial de la Salud recomienda la introducción de cualquiera de las vacunas contra rotavirus (Rotavirus Vaccines [RV]) para todos los

países del mundo, en particular aquellos con alta mortalidad infantil por diarrea<sup>(29)</sup>. La evidencia de la reducción de la diarrea severa por rotavirus que resulta en hospitalización o visita a la sala de emergencias después de la introducción de las RV es extensa, pero el impacto de la vacunación en la prevención de muertes se ha estudiado con menos profundidad<sup>(30)</sup>.

Algunos estudios han demostrado que los altos niveles de IgG sérica preexistente, incluida la IgG materna adquirida por vía transplacentaria, parecen tener un efecto inhibitorio sobre la inmunogenicidad de RV1 y RV5 entre los lactantes y pueden, en parte, contribuir a una menor eficacia de las vacunas RV en lugares de bajos recursos, aunque no está claro si estos bebés estarán protegidos mediante la inmunización activa de las dosis restantes<sup>(31,32)</sup>.

Se ha informado también que los niveles de IgA RV, IgA secretora (IgAs), lactoferrina y actividad neutralizante en la leche materna de las madres varían según la configuración, con títulos más altos encontrados entre las mujeres en países de bajos recursos en comparación con aquellas en países con altos recursos. Estos altos niveles de actividad neutralizante en la leche materna, junto con los anticuerpos maternos transferidos al bebé a través de la placenta, pueden tener un efecto inhibitorio sobre la infectividad de las vacunas virus vivos atenuados en el intestino y, por lo tanto, la capacidad de las vacunas para inducir una respuesta inmune robusta entre infantes<sup>(4,33,34)</sup>.

Ninguna cepa nueva o inesperada fue predominante en los años inmediatamente posteriores a la introducción de RV5 en Nicaragua. RV5 no parece haber alterado sustancialmente el patrón histórico de fluctuación estacional en los genotipos de rotavirus<sup>(22,35)</sup>.

	<b>Rotateq</b>	<b>Rotarix</b>
Manufacturadores	Merck Vaccine Division	Glaxo Smith Kline
Base genética	Rotavirus Bovino -WC3	Rotavirus Humano 89-12
Composición	5 serotipos humanos; bovino reordenado	Solo rotavirus humano
Genotipos	G1,2,3,4 and [P8]	G1 [P8]
Dosificación	3 dosis: 2, 4, y 6 meses de edad	2 dosis: 2 y 4 meses de edad
Administración	Oral	Oral
Presentación	Líquido	Liofilizado-reconstituido
Protección contra enfermedades severas.	85% (72–92)	95% (91–97)
Secreción del Virus	9%	50% o más

**Tabla 1.** Comparación de dos vacunas de rotavirus licenciadas (Tomada de Greenberg HB, Estes MK. Rotaviruses: from pathogenesis to vaccination. Gastroenterology. mayo de 2009;136(6):1939–51.)

## **Sistema Histo-sanguíneo**

La expresión "sistema histo-sanguíneo" se propuso por primera vez para el sistema ABO. Más tarde, se extendió a H, Lewis y sistemas secretores ya que sus carbohidratos también se expresan en otros tejidos y secreciones exocrinas. Estos sistemas de grupos histo-sanguíneos tienen fuertes relaciones a nivel genómico, enzimático, bioquímico, tisular e inmune. Conocer la variabilidad estructural de sus antígenos de carbohidratos nos permite comprender la importancia evolutiva y el papel biológico, especialmente en términos de enfermedades<sup>(36)</sup>.

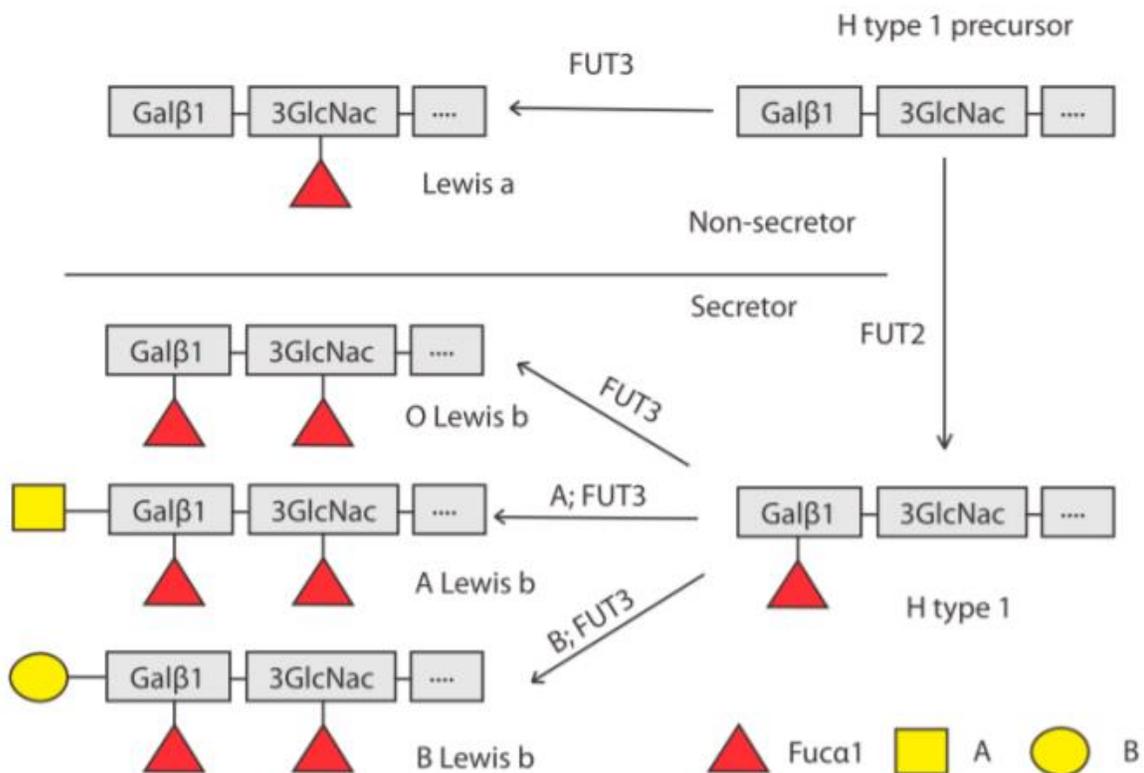
Los genes del sistema histo-sanguíneo ABO (ABO, 9q34.1), H (FUT1, 19q13.3), secretor (FUT2, 19q.13.3) y Lewis (FUT3: 19p13.3) controlan la expresión de parte del repertorio de carbohidratos presente en áreas ocupadas por microorganismos. Estos carbohidratos además de tener una gran diversidad estructural, actúan como receptores potenciales de microorganismos patógenos y no patógenos que influyen en la susceptibilidad y la resistencia a infecciones y enfermedades. Se cree que esta diversidad estructural es el resultado de la presión ambiental y juega un papel importante en la simbiosis, el comensalismo y el parasitismo continuo<sup>(36)</sup>.

## **Sistema ABO**

El sistema ABO del grupo histo-sanguíneo humano es crucial para la transfusión de sangre segura y el trasplante de células / tejidos / órganos. Este sistema consiste en antígenos de oligosacáridos A y B expresados en glóbulos rojos (glóbulos rojos) como glucoproteínas y glucolípidos y anticuerpos contra esos antígenos en suero. Los antígenos A y B también se expresan por las células epiteliales y endoteliales, y en los individuos tipo secretor también se expresan en las mucinas secretadas por las glándulas exocrinas. Las estructuras inmuno-dominantes de los antígenos A y B son GalNAc $\alpha$ 1->3 (Fuc $\alpha$ 1->2) Gal y Gal $\alpha$ 1->3 (Fuc $\alpha$ 1->2) Gal, respectivamente.

Los alelos A y B del locus genético ABO codifican las transferasas A y B, que transfieren respectivamente una N-acetil-D-galactosamina (GalNAc) o una D-galactosa (Gal) a sustancias H con un enlace glucosídico  $\alpha$ 1,3. Las sustancias H con la estructura Fuc $\alpha$ 1-

>2Gal- se sintetizan por fucosilación catalizada por  $\alpha$ 1,2-fucosiltransferasas ( $\alpha$ 1,2-FTs) codificadas por los genes FUT1 / FUT2 / SEC1. Los  $\alpha$ 1,2-FTs codificados por FUT1 y los  $\alpha$ 1,2-FT codificados por FUT2 / SEC1 exhiben una especificidad de sustrato aceptor distinta, y se expresan diferencialmente entre los tejidos. En humanos, SEC1 es un pseudogen y el gen FUT2 presenta alelos nulos frecuentes, de modo que aproximadamente el 20% de los individuos son incapaces de expresar antígenos H, A o B en las secreciones (tipo no secretor). En ausencia de  $\alpha$ 1,2-FT no se producen antígenos H. Por lo tanto, las transferasas A / B funcionan solo cuando al menos un  $\alpha$ 1,2-FT activo está presente simultáneamente<sup>(37)</sup>.



**Figura 3.** Vía de biosíntesis de antígenos del grupo histo-sanguíneo (HBGA) mediante la adición gradual de monosacáridos a las estructuras precursoras. (Tomada de Nordgren, J., & Svensson, L. (2019). Genetic Susceptibility to Human Norovirus Infection: An Update. *Viruses*, 11(3), 226. doi:10.3390/v11030226)

## Lewis y Gen Secretor

Es un grupo sanguíneo tipo 1 relacionado con el grupo sanguíneo ABO. Al igual que el grupo sanguíneo ABO, el grupo sanguíneo Lewis refleja las acciones de dos glicosiltransferasas distintas, FUT2 / Secretor y Lewis / FUT3, una 1,3 / 4-fucosiltransferasa. La síntesis de Lewis está restringida en los tejidos, con una fuerte expresión en fluidos y tejidos respiratorios, gastrointestinales y genitourinarios. Los glicosilfosfolípidos (GSL) activos de Lewis se pueden encontrar en otros tejidos, como los glóbulos rojos, los linfocitos y el endotelio, que no sintetizan antígenos tipo 1. En estos tejidos, los antígenos de Lewis se adsorben pasivamente en las membranas celulares del GSL circulante en plasma<sup>(38)</sup>.

Hay dos antígenos de Lewis ( $Le^a$  y  $Le^b$ ) y cuatro fenotipos potenciales de glóbulos rojos de Lewis, aunque solo tres tipos se consideran comunes.  $Le^{(a+ b-)}$ ,  $Le^{(a- b+)}$  y  $Le^{(a- b-)}$  constituyen la mayoría de los tipos de Lewis y muestran variaciones étnicas y geográficas.  $Le^{(a+ b+)}$  se observa solo en niños muy pequeños y en algunas poblaciones asiáticas. Debido a que termina en un epítipo a Fuc1-2Gal $\beta$ 1-3GlcNAc,  $Le^b$  también se considera un antígeno H (O)-activo. En los individuos del grupo A y B,  $Le^b$  puede modificarse aún más para formar  $ALe^b$  y  $BLe^b$ . En los individuos  $A_1$ ,  $ALe^b$  es el antígeno predominante que se encuentra en el plasma. Esta interacción de ABO y Lewis puede tener implicaciones importantes para el reconocimiento microbiano, especialmente en el tejido gastrointestinal<sup>(38)</sup>.

La subunidad VP8 \* de VP4 se une a los antígenos del grupo histo-sanguíneo (HBGA) presentes en las superficies de los enterocitos, lo que sugiere un papel importante para los HBGA en la patogénesis de la infección por RV. Los HBGA son glucanos que se encuentran ubicuamente en las superficies mucosas y en las secreciones exocrinas, incluso en el intestino. La evidencia creciente sugiere que la susceptibilidad a la infección con genotipos específicos de RV P está asociada con HBGA determinados por el estado del secretor y el fenotipo de Lewis (Le), controlados por los genes FUT2 y FUT3, respectivamente<sup>(39)</sup>.

FUT2 codifica una  $\alpha$  [1,2] -fucosiltransferasa que modifica los oligosacáridos precursores para formar el antígeno de tipo H. Los individuos que expresan un alelo activo se

denominan secretores (Se), mientras que aquellos con un fenotipo nulo se denominan no secretores (se) y no pueden expresar antígenos de tipo H en el intestino. FUT3 codifica una  $\alpha$  [1,3 / 4] -fucosiltransferasa que modifica los oligosacáridos precursores o los antígenos de tipo H para formar los antígenos Lea o Leb, respectivamente. El fenotipo de Lewis está así determinado por la acción de FUT2 y FUT3<sup>(39)</sup>.

## **7. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **7.1 Tipo de estudio**

Fue descriptivo de corte transversal.

### **7.2 Área de estudio**

El estudio se realizó en el centro de salud Perla María Norori, incluyendo los puestos de salud: Antenor Sandino y Rubén Darío estos en la parte sur-este, en la ciudad de León.

### **7.3 Población**

La población consistió en todos los niños  $\leq 2$  meses de edad que acudieron al centro de salud Perla María Norori, puesto de salud Rubén Darío y Antenor Sandino antes de la vacunación de rotavirus.

### **7.4 Muestra**

Fue conformada por 128 niños con edad menor o igual a 2 meses cuyos padres o tutores aceptaron participar en el estudio y que facilitaron la muestra fecal previa, muestras de sangre y de saliva.

### **7.5 Muestreo**

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. Los niños fueron muestreados cuando llegaron al centro de salud a aplicarse la vacuna contra rotavirus, en este momento se abordó y solicitó su participación a los padres de familia. Las muestras fecales fueron obtenidas un día antes, el mismo día y un día después de la vacunación contra rotavirus, estas muestras representaron la inmunidad previa del niño antes de la vacunación.

## **7.6 Criterios de inclusión**

Niños < 2 meses de edad que no hayan sido vacunados.

Firma de consentimiento informado.

Llenado correcto de la ficha de recolección de información.

Disponibilidad para facilitar las muestras de heces fecales.

## **7.7 Criterios de exclusión**

Muestras fecales obtenidas 3 días después de la vacunación.

Niños de 2 meses que no pertenezcan al área de estudio.

Niños cuyos padres rechacen la participación en este estudio.

## **7.8 Fuentes de información**

Primaria a través de una ficha de recolección de datos.

## **7.9 Toma de muestra**

Las muestras de heces se recolectaron del pañal en recipientes de plástico estériles por las madres de los bebés en los plazos indicados y transportadas a 4 ° C a la UNAN-León. Al llegar al laboratorio, se preparó una suspensión de heces al 10% en peso / volumen y se almacenó en un congelador (-20 ° C) para la purificación del ARN.

Las muestras de saliva y sangre fueron recolectadas por una enfermera pediátrica. La saliva fue recogida utilizando un hisopo de algodón estéril se colocó en 500 µl de solución salina tamponada con fosfato (PBS, pH 7,2). Se recogieron muestras de sangre (aproximadamente 2 ml) en tubos de vidrio recubiertos con EDTA, respectivamente, etiquetados con el código del niño y la fecha de recolección. Las muestras se transportaron a 4 ° C al Departamento de Microbiología, UNAN-León, donde se realizó el fenotipo sanguíneo ABO el día de la recolección, mientras que las muestras de saliva se almacenaron a -20 ° C. Después de la centrifugación de la sangre (5.000 rpm durante 5 min).

## 7.10 Método diagnóstico

### 7.10.1 Detección de títulos IgA fecal por ELISA

Se realizó siguiendo el procedimiento previamente descrito por *Bucardo et al.* que consiste en las placas de microtitulación de 96 pocillos se recubrieron con anticuerpo de conejillos de india contra RV, se diluyen 1:500 en tampón de carbonato-bicarbonato (pH 9,6) y se incubaron durante la noche a 4°C. Después de 2 horas de bloqueo con PBS-BSA al 3%, se añadió la vacuna RV5 diluida 1:100 y se incubó a 37°C durante 1 hora. Se añadió un total de 100µL de heces diluidas en serie (1:20, 1:40, 1:80 y 1:160) y se incubó a 37°C durante 1h, seguido de la adición de IgA antihumana conjugada con peroxidasa diluida 1:2000, y se incubaron a 37°C durante 1h. La reacción se desarrolló durante 10 minutos con TMB y se detiene con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M. La densidad óptica (OD) se determinó a 450nm en cada pocillo. El recíproco de la mayor dilución de heces con OD ≥ 0.100 se consideró como título de muestra. Todos los experimentos incluyen control negativo (heces de recién nacidos) y PBS para monitoreo de fondo<sup>(40)</sup>.

### 7.10.2 Detección de antígenos Histo-sanguíneos

Estas se determinaron siguiendo el procedimiento de *Bucardo et al.* que se describe a continuación.

**Fenotipado sanguíneo:** La tipificación sanguínea ABO se realizó mediante prueba de hemaglutinación. En resumen, se mezclaron tres gotas de sangre por separado con anticuerpos monoclonales anti-A, anti-B y anti-AB (Cypress Diagnostics, Langdorp, Bélgica). El fenotipo sanguíneo ABO se asignó en base al examen visual de la hemaglutinación con un anticuerpo dado<sup>(5)</sup>.

**Lewis y el fenotipo de secretor:** Los antígenos Le<sup>a</sup>, Le<sup>b</sup> y secretores se detectaron utilizando un ELISA interno a base de saliva como se describió previamente. El valor de corte se definió como un cambio de 2 veces en el valor de absorbancia en comparación con la saliva de control previamente caracterizada obtenida de individuos con fenotipo Le<sup>a-b-</sup> y no secretor<sup>(5)</sup>.

### **7.11 Análisis Estadísticos**

Los datos obtenidos se introdujeron a una base de datos gestionada con el programa estadístico SPSS versión 22. Las frecuencias de cada una de las variables estudiadas fueron calculadas de forma separada. Se realizaron asociaciones bivariados, aplicando las pruebas de  $X^2$  y Fisher, por último, se realizó un análisis multivariado utilizando un modelo de regresión logística asociando todas las variables estudiadas.

### **7.12 Consideraciones éticas**

El protocolo y el cuestionario que se utilizó en este estudio son parte del proyecto SAGE, estos fueron revisados y aprobados por el Comité Ético para la Investigación Biomédica de la UNAN-León (Acta No. 18, 2012) y los métodos se realizaron de acuerdo con las directrices y regulaciones. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres de todos los niños incluidos en este estudio.

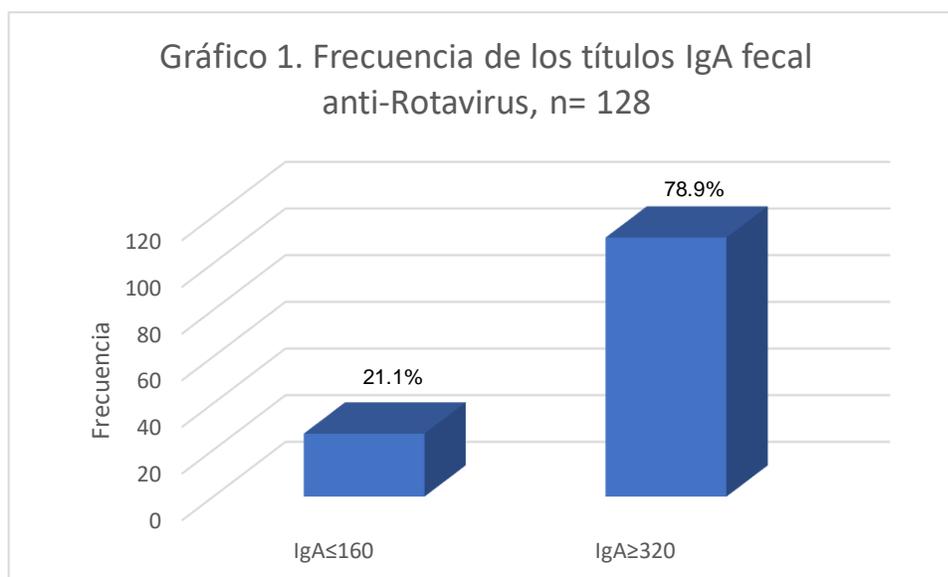
## 8. RESULTADOS

**8.1 Características Sociodemográficas de la población de estudio.** El estudio incluyó un total de 123 niños  $\leq$  2 meses, de los cuales 60.2% (n=77) fueron masculinos, con respecto a la procedencia, el 93% (n=119) eran del sector urbano, la edad promedio de los niños estudiados fue de 59.73 días; entre un rango de 30 a 74 días, el 86% (n=110) de los niños recibieron una alimentación mixta (leche materna + fórmula) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Características Sociodemográficas de la población de estudio

Indicador	Frecuencia (n=128)	%
<b>Sexo</b>		
Femenino	51	39.8
Masculino	77	60.2
<b>Edad en días</b>		
<60	36	28.1
$\geq$ 60	92	71.9
<b>Procedencia</b>		
Rural	9	7
Urbana	119	93
<b>Lactancia Materna</b>		
Exclusivo	18	14.1
Mixto	110	85.9

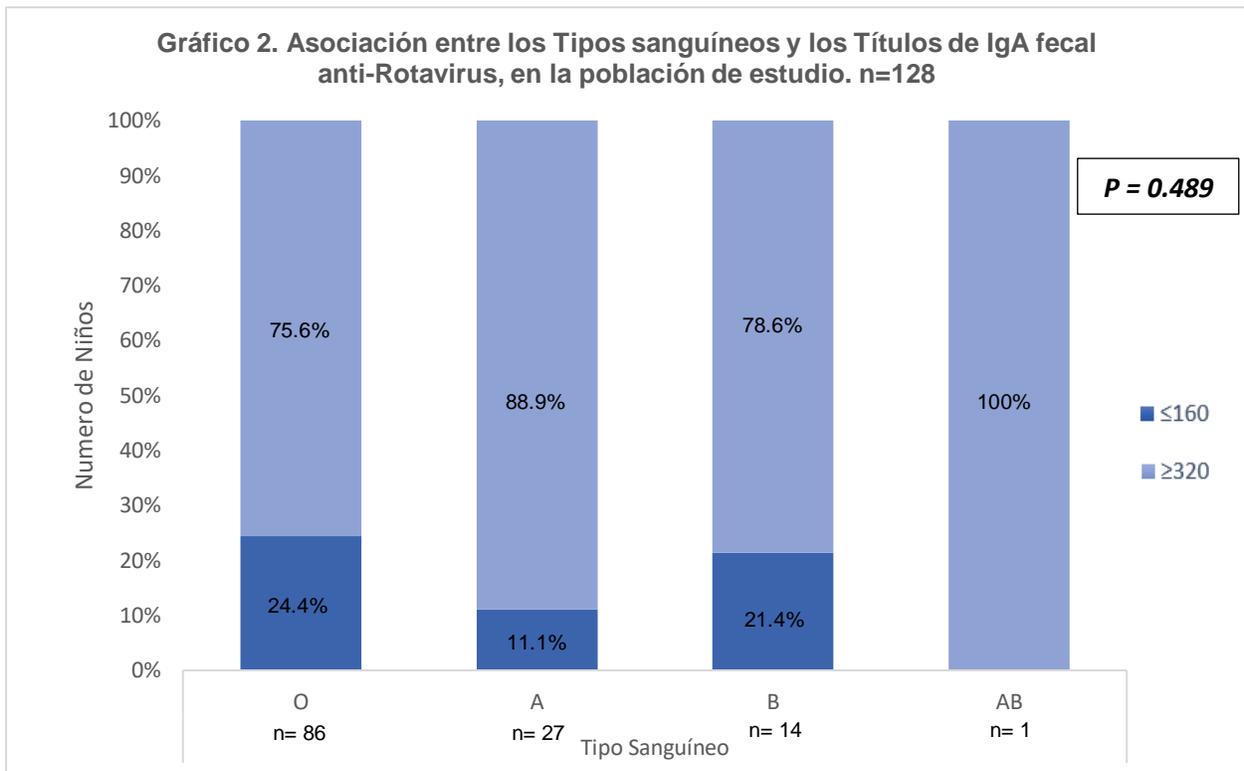
**8.2 La mayoría de los niños tenían IgA fecal anti-Rotavirus.** El 78.9% (n=101) de los niños estudiados tenían títulos  $\geq$  320 y solamente el 21.1% (n=27) tenían títulos  $\leq$  160; cabe mencionar que la mayoría de los niños (n=64) tenían títulos  $\geq$  640 (Gráfico 1). La IgA fecal anti-Rotavirus también fue analizado en relación al sexo ( $p = 0.378$ ), procedencia ( $p = 1.000$ ), Lactancia materna ( $p = 0.533$ ), pero no se observaron diferencias significativas (Tabla 3).



**Tabla 3.** Asociación entre variables sociodemográficas y títulos IgA fecal anti-Rotavirus

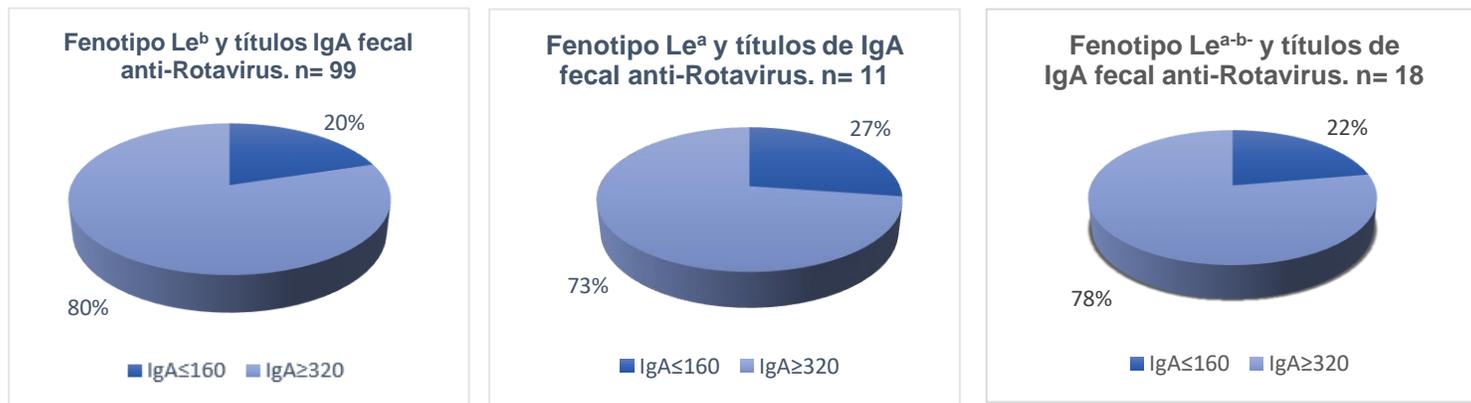
	Total n=128 (100)	Títulos IgA fecal anti-Rotavirus n (%)		OR (IC 95%)	p
		≤160 (21)	≥320 (79)		
<b>Sexo</b>					
Femenino	51	13 (25.50)	38 (74.50)	1.539 (0.654 - 3.622)	<i>p</i> =0.378
Masculino	77	14 (18.20)	63 (81.80)		
<b>Edad en días</b>					
<60	36	7 (19.4)	29 (80.6)	0.869 (0.332 - 2.275)	<i>p</i> =0.816
≥60	92	20 (21.7)	72 (78.3)		
<b>Procedencia</b>					
Rural	9	2 (22.2)	7 (77.8)	1.074 (0.210 - 5.495)	<i>p</i> =1.000
Urbano	119	25 (21.0)	94 (79.0)		
<b>Lactancia Materna</b>					
Exclusivo	18	5 (27.8)	13 (72.2)	1.538 (0.496 - 4.773)	<i>p</i> =0.533
Mixto	110	22 (20.0)	88 (80.0)		

**8.3 El tipo sanguíneo ABO no afecta los títulos de IgA fecal anti-Rotavirus.** Con respecto a la frecuencia de los tipos sanguíneos de los niños estudiados se encontró que el 67.2% (n=86) eran tipo O, 21.1% (n=27) eran A, 10.9% (n=14) eran B y 0.8% (n=1) fue AB (Gráfico 2). Al relacionar los títulos de anticuerpos IgA Anti-rotavirus con los tipos sanguíneos ABO no se encontró que eran estadísticamente significativos ( $p = 0.489$ ).

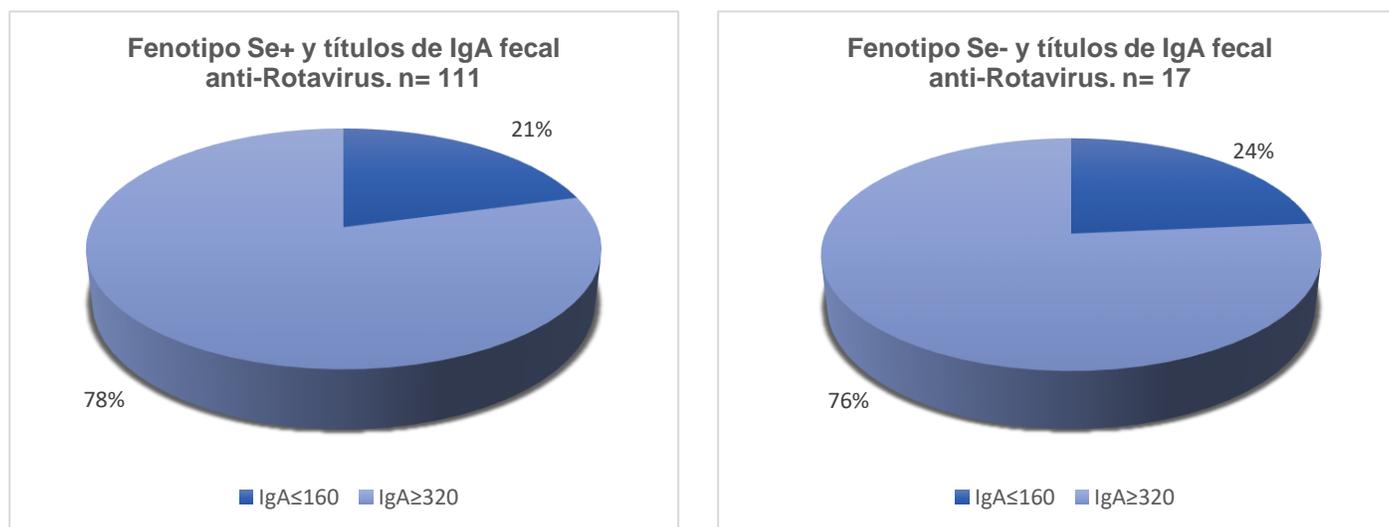


**8.4 Los títulos de IgA anti-Rotavirus fueron mayores en niños Le<sup>b</sup>, al igual que en los secretores.** El 85.9% de los 128 niños estudiados presentaron el antígeno Lewis. El 77.3% (n=99) fueron encontrados con Le<sup>b</sup> y 8.6% (n=11) era Le<sup>a</sup>; el 14.1% (n=18) de los niños no presentaron el antígeno Lewis, por lo que fueron definidos como Le<sup>a-b-</sup> (o Lewis-negativo). Los títulos de IgA fecal anti-Rotavirus fueron similares en los fenotipos Lewis y no encontrando significancia estadística entre ellos ( $p = 0.802$ ) ver gráfico 3. De acuerdo con ser o no secretor, el 86.7% (n=111) de los niños de la población de estudio fueron secretores y 13.3% (n=17) fueron no secretores. Al igual que el fenotipo Lewis, el ser secretor o no-secretor no es estadísticamente significativo ( $p = 1.000$ ) ver gráfico 4.

**Gráfico 3. Asociación entre Fenotipo Lewis y títulos de IgA fecal anti-Rotavirus, con un valor de  $p= 0.802$ . n= 128**



**Gráfico 4. Asociación entre Fenotipo Secretor y títulos de IgA fecal anti-Rotavirus, con un valor de  $p= 1.000$ . n= 128**



**8.5 Análisis multivariado de los antígenos Histo-sanguíneos y los títulos IgA fecal anti-Rotavirus.** Al análisis multivariado se observa que el riesgo de tener una IgA positiva contra rotavirus en heces fecales es de 1.09 a 1.67 veces mayor en el sexo masculino, que son del área urbana, que tienen una lactancia materna mixta y que son secretores positivos. El tipo sanguíneo A tiene un OR 3.12 veces mayor al comparado con los otros tipos sanguíneos. Ver tabla 4

**Tabla 4.** Análisis de regresión Logística multivariada de los Títulos IgA fecal anti-Rotavirus.

		Total	OR	I.C. 95%		p
				Inferior	Superior	
<b>Sexo</b>						
	Femenino	51				
	Masculino	77	1.671	0.669	4.173	0.272
<b>Procedencia</b>						
	Rural	9				
	Urbano	119	1.234	0.215	7.085	0.814
<b>Edad en días</b>						
	<60	36				
	≥60	92	0.917	0.332	2.53	0.867
<b>Lactancia Materna</b>						
	Exclusiva	18				
	Mixta	110	1.480	0.426	5.138	0.537
<b>Lewis</b>						
	Leb	99			Ref.	
	Lea-b-	18	0.935	0.209	4.181	0.930
	Lea	11	0.618	0.029	13.06	0.758
<b>Secretor</b>						
	Se+	111				
	Se-	17	1.097	0.079	15.206	0.945
<b>Tipo Sanguíneo</b>						
	O	86			Ref.	
	A	27	3.128	0.814	12.021	0.097
	B	14	1.217	0.287	5.156	0.790
	AB	1	-	-	-	1.000

## 9. DISCUSIÓN

En este estudio se encontró altos títulos de IgA fecal anti-Rotavirus en los niños estudiados. La observación de títulos elevados de IgA fecal anti-Rotavirus a los 2 meses de edad parece ser un fenómeno común a través del tiempo en los niños de Nicaragua, *Espinoza et al.* demostraron mediante identificación de la particular viral y estudios de seroconversión que > 50% de los bebés tenían evidencia de infección previa por rotavirus a la edad de 2 meses (25), lo que indica que los niños que llegan a administrarse la vacuna por primera vez ya tienen IgA intestinal y eso puede explicar la baja efectividad de la vacuna. La infección neonatal por rotavirus es un fenómeno muy estudiado en Australia, la India y México, en dichos estudios han encontrado que las cepas de rotavirus P6 y P11 tienen preferencia de infección en neonatos<sup>(41)</sup>.

Otra observación relevante es que los niños Le<sup>a</sup> tienen un menor riesgo de tener títulos elevados de IgA fecal (OR 0.618), en comparación con los niños Le<sup>b</sup> y Le<sup>a-b-</sup>, en contraste los niños que tiene tipo sanguíneo A tienen mayor riesgo de tener títulos elevados de IgA fecal (OR 3.128), en comparación con los tipos sanguíneos O y B. Al mismo tiempo el tener una lactancia materna mixta y ser del sexo masculino incrementa el riesgo de presentar títulos altos de IgA fecal. Estos resultados indican que estos grupos de niños son más susceptibles a la infección por Rotavirus; sin embargo, no se encontró asociación estadísticamente significativa.

El papel esencial de HBGA en la infección por rotavirus se ha demostrado en estudios recientes. En el presente estudio la distribución del fenotipo O, A, B y AB son similares a los reportados por *Bucardo et al.*, 2017, en un estudio en Nicaragua. Este mismo estudio menciona que la tasa de seroconversión fue significativamente menor en los niños con fenotipo secretor con sangre tipo B en comparación con aquellos con los tipos O y A. Concuerda con este estudio al decir que el efecto del tipo sanguíneo AB no se pudo evaluar debido a la baja prevalencia (n = 1); siendo el tipo de sangre AB es raro en América Latina<sup>(5)</sup>.

*Ting-An Yang et al.*, 2017<sup>(12)</sup> y *Bucardo et al.* 2019<sup>(13)</sup>, al igual que este estudio concuerdan al mencionar que el tipo de sangre ABO no estaba relacionado o no presenta asociación con infecciones por rotavirus.

Estudios previos han demostrado que los individuos con el fenotipo Le<sup>a</sup> y no secretor son menos susceptibles a la infección natural con cepas de rotavirus P[8]<sup>(10)</sup>. Además, los estudios in vitro han demostrado que el rotavirus P[8] no se une a Le<sup>a</sup> sino a antígenos secretores, como H tipo 1 y Le<sup>b(9)</sup>. Se ha observado que los individuos Le<sup>a</sup> no se seroconvierten a la vacunación contra rotavirus RV1 o rotavirus RV5, este último estudio de *Huang, P. et al.* concuerda con el presente estudio que sugiere que los títulos de IgA anti-Rotavirus fueron mayores en niños Le<sup>b</sup>.

En un estudio realizado por *Bucardo et al.*, en el 2017, menciona que las tasas de seroconversión entre los no secretores fueron más bajas que las de los secretores. Además, aquellos niños no secretores que se seroconvirtieron presentaban un fenotipo Le<sup>a-b</sup>. El fenotipo no secretor y Le<sup>a-b</sup> es poco frecuente en todo el mundo, y su efecto sobre la toma de vacunas y / o la susceptibilidad natural justifica estudios adicionales con muestras de mayor tamaño<sup>(5)</sup>. Lo antes mencionado concuerda con este estudio, que los títulos de IgA anti-Rotavirus fue mayor en los niños secretores que en los no secretores. Otro estudio que se relaciona con el actual estudio es el de *Colston et al.*, el cual demostró que los niños con el fenotipo Le<sup>b</sup> y secretores positivos tenían un riesgo menor a desarrollar diarrea, en comparación con los Le<sup>a</sup> y no secretores<sup>(42)</sup>.

En un país subdesarrollado como Nicaragua, con altas prevalencias de gastroenteritis, rotavirus es la principal causa de infecciones virales en niños menores de cinco años. El hecho de que las infecciones naturales por rotavirus ocurran temprano en la vida en Nicaragua, aumenta significativamente el riesgo de infección por rotavirus natural durante el curso de la vacunación y podría enmascarar la respuesta serológica correcta de la vacuna<sup>(5)</sup>. En el presente estudio se investigó si existía asociación entre los Antígenos Histo-sanguíneos y los títulos de IgA fecal anti-rotavirus, en niños menores o iguales a dos meses antes de recibir la primera dosis de la vacunación.

*Bishop et al.*, en un estudio llevado a cabo en Australia, demuestra que neonatos infectados con rotavirus durante el primer mes de la vida, son protegidos contra la enfermedad severa, aunque no así contra reinfecciones<sup>(43)</sup>. Un estudio de *Bucardo et al.*, 2013, indica que la mayoría de los niños de ese estudio presentaban infecciones por rotavirus de tipo G12; no obstante, todos estos niños tenían anticuerpos IgA fecal anti-

RV previos en sus heces antes de este brote, lo que puede indicar que los títulos de anticuerpos no fueron protectores<sup>(40)</sup>.

Este escenario puede ser similar al que se planteó en el presente estudio donde la mayoría de los niños tienen altos títulos de anticuerpos (79%) y que pudiesen neutralizar la vacuna; por lo tanto, no tendríamos el efecto esperado de esta. *Bucardo et al.*, 2017, afirma lo anteriormente mencionada, ya que refiere en su estudio que la seropositividad al rotavirus previo a la vacunación influyera significativamente en la toma de la vacuna, lo que sugiere que las vacunas no son potenciadas ni neutralizadas por la IgA específica del rotavirus previo a la vacunación.

En otra estancia la lactancia materna se ha postulado como un posible factor que podría afectar el rendimiento de la vacuna contra el rotavirus<sup>(44)</sup>, ya que los anticuerpos maternos podrían neutralizar la vacuna. En este estudio se demostró que los títulos de IgA en los niños con lactancia mixta tienen mayor frecuencia a títulos  $\geq 320$ , lo que sugiere que esos niños son expuestos más temprano en la vida.

Sorprendentemente este estudio muestra una alta proporción de niños IgA rotavirus positivo en heces, es posible que la inmunidad de la madre influya en la detección de esta inmunoglobulina en las heces del niño, estos datos son consistentes con la literatura donde indica que la madre transfiere inmunidad a los niños a través de la lactancia, *Becker-Dreps et al.*, menciona que las concentraciones de lactoferrina y lactadherina se correlacionaron moderadamente con los títulos de anticuerpos neutralizantes en la leche materna, esto sugiere que pueden desempeñar un papel en la protección del bebé contra la infección natural por rotavirus<sup>(45)</sup>.

También una alternativa para el estudio de la fuente de la IgA fecal en heces puede ser el realizar estudios futuros donde se investiguen niños que no lacten.

Probablemente podemos suponer que estos niños con esas altas proporciones de anticuerpos IgA fecal a rotavirus, es debido a la circulación de cepas salvajes la cual infecta a cualquier niño independiente de los antígenos histo-sanguíneos, cabría la posibilidad de evaluar las variantes genéticas que estaban circulando en esa población de estudio en ese año.

Algunas limitaciones del estudio fueron, el tamaño de la muestra fue relativamente pequeño, lo que puede comprometer las estimaciones precisas de los títulos de IgA fecal anti-Rotavirus y las asociaciones entre HBGA, no obstante, el estudio es revelador en mostrar alta proporción de anticuerpos IgA. Segundo, el método de detección para IgA fecal anti-Rotavirus puede no ser el ideal para saber si el niño tuvo o no RV antes, pero la motivación de utilizarlo era tener un instrumento o método diagnóstico que no sea invasivo; dada la dificultad de una toma de muestra y la colaboración de los padres en el estudio, por lo que este se usó como una alternativa.

## 10. CONCLUSIONES

1. El estudio incluyó un total de 128 niños  $\leq 2$  meses, 60.2% eran masculinos, 93% eran del sector urbano, 71.9% eran niños  $\geq 60$  días, el 14.1% de los niños recibieron lactancia materna exclusiva y el 85.9% recibieron una lactancia mixta (leche materna más fórmula).
2. La mayoría de los participantes resultaron ser tipo sanguíneo O 67.2%, Le<sup>b</sup> 77.3% y secretores positivos 86.7%.
3. La mayoría de los niños 78.9% tenían títulos de IgA fecal anti-Rotavirus  $\geq 320$ , lo que evidencia presencia de anticuerpos IgA fecal anti-rotavirus en la población de estudio.
4. En niños con títulos de IgA anti-rotavirus  $\geq 320$ , se encontró una fuerte correlación entre los títulos de IgA y el tipo sanguíneo A (OR = 3.1), en contraste los niños Le<sup>a</sup> tiene menor riesgo de presentar títulos de IgA  $\geq 320$ .

## **11.RECOMENDACIONES**

1. Realizar el estudio con un mayor número de individuos, para incrementar la potencia de este.
2. Incluir otros factores como los títulos de IgA de la leche materna y su correlación con los títulos de IgA fecal.
3. Realizar estudio de niños que no reciben lactancia materna para identificar o determinar infecciones incidentes previo a la vacunación con rotavirus.
4. Utilizar un método de detección para IgA fecal anti-Rotavirus más efectivo, como los Anticuerpos Neutralizantes para saber si en realidad esa IgA es protectora o no en la población de estudio.

## 12. REFERENCIAS

1. J. E. Tate, A. H. Burton, C. Boschi-Pinto, and U. D. Parashar; Global, Regional, and National Estimates of Rotavirus Mortality in Children. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 62, Issue suppl\_2, May 2016, Pages S96–S105, <https://doi.org/10.1093/cid/civ1013>.
2. Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, et al. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med*. 1996;335:1022-8.
3. Lewnard, J. A., Lopman, B. A., Parashar, U. D., Bar-Zeev, N., Samuel, P., Guerrero, M. L., ... Pitzer, V. E. (2017). Naturally Acquired Immunity Against Rotavirus Infection and Gastroenteritis in Children: Paired Reanalyses of Birth Cohort Studies. *The Journal of infectious diseases*, 216(3), 317–326. doi:10.1093/infdis/jix310
4. Bautista-Marquez A, Velasquez DE, Esparza-Aguilar M, Luna-Cruz M, Ruiz-Moran T, Sugata K, et al. Breastfeeding linked to the reduction of both rotavirus shedding and IgA levels after Rotarix® immunization in Mexican infants. *Vaccine*. el 17 de octubre de 2016;34(44):5284–9.
5. Bucardo, F., Nordgren, J., Reyes, Y., Gonzalez, F., Sharma, S., & Svensson, L. (2018). The Lewis A phenotype is a restriction factor for Rotateq and Rotarix vaccine-take in Nicaraguan children. *Scientific reports*, 8(1), 1502. doi:10.1038/s41598-018-19718-y.
6. Blutt SE, Conner ME. The Gastrointestinal Frontier: IgA and Viruses. *Front Immunol* [Internet]. el 28 de noviembre de 2013 [citado el 9 de septiembre de 2019];4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842584/>
7. Bishop RF, Bugg HC, Masendycz PJ, Lund JS, Gorrell RJ, Barnes GL. Serum, Fecal, And Breast Milk Rotavirus Antibodies As Indices Of Infection In Mother-Infant Pairs. *J Infect Dis*. el 1 de septiembre de 1996;174(Supplement 1):S22–9.
8. Coulson BS, Grimwood K, Masendycz PJ, Lund JS, Mermelstein N, Bishop RF, et al. Comparison of rotavirus immunoglobulin A coproconversion with other indices of rotavirus infection in a longitudinal study in childhood. *J Clin Microbiol*. junio de 1990;28(6):1367–74.

9. Huang, P., Xia, M., Tan, M., Zhong, W., Wei, C., Wang, L., ... Jiang, X. (2012). Spike protein VP8\* of human rotavirus recognizes histo-blood group antigens in a type-specific manner. *Journal of virology*, 86(9), 4833–4843. doi:10.1128/JVI.05507-11
10. Nordgren, J., Sharma, S., Bucardo, F., Nasir, W., Günaydin, G., Ouermi, D., ... Svensson, L. (2014). Both Lewis and secretor status mediate susceptibility to rotavirus infections in a rotavirus genotype-dependent manner. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 59(11), 1567–1573. doi:10.1093/cid/ciu633.
11. Böhm, R. *et al.* Revisiting the role of histo-blood group antigens in rotavirus host-cell invasion. *Nat. Commun.* 6:5907 doi: 10.1038/ncomms6907 (2015).
12. Yang, T. A., Hou, J. Y., Huang, Y. C., & Chen, C. J. (2017). Genetic Susceptibility to Rotavirus Gastroenteritis and Vaccine Effectiveness in Taiwanese Children. *Scientific reports*, 7(1), 6412. doi:10.1038/s41598-017-06686-y
13. Bucardo, F., Reyes, Y., Rönnelid, Y., González, F., Sharma, S., Svensson, L., & Nordgren, J. (2019). Histo-blood group antigens and rotavirus vaccine shedding in Nicaraguan infants. *Scientific reports*, 9(1), 10764. doi:10.1038/s41598-019-47166-9
14. BrooksG, MorseS, CarrollK, MietznerT, ButelJ. JawetzMelnick y Adelberg. *Microbiología Médica*. 25a ed. México: McGraw-Hill Interamericana Editores;2010.736 p.
15. Pollock, L., Bennett, A., Jere, K. C., Dube, Q., Mandolo, J., Bar-Zeev, N., ... Iturriza-Gomara, M. (2019). Nonsecretor Histo-blood Group Antigen Phenotype Is Associated With Reduced Risk of Clinical Rotavirus Vaccine Failure in Malawian Infants. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 69(8), 1313–1319. doi:10.1093/cid/ciy1067
16. Esona MD, Gautam R. Rotavirus. *Clin Lab Med*. junio de 2015;35(2):363–91.
17. Castro Blandón A del C, Escoto Acuña CE. Frecuencia de rotavirus en niños menores de 5 años, con diarrea aguda, atendidos en el Hospital Victoria Motta de la ciudad de Jinotega entre abril y junio del 2010 [Internet] [Thesis]. 2010 [citado el 4 de septiembre de 2019]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/handle/123456789/1375>

18. Desselberger U. Rotaviruses. *Virus Res.* el 22 de septiembre de 2014;190:75–96.
19. Malik J, Bhan MK, Ray P. Natural immunity to rotavirus infection in children. *Indian J Biochem Biophys.* 2008;45(4):219–28.
20. Ramos B, Janneth M. Impacto en las tasas de morbilidad por enfermedad diarréica aguda de la vacunación contra rotavirus en niños menores de dos años. *Area de Salud no. 2 Pichincha 2009 - 2012.* noviembre de 2013 [citado el 29 de agosto de 2019]; Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/4369>
21. Velázquez FR. Protective effects of natural rotavirus infection. *Pediatr Infect Dis J.* marzo de 2009;28(3 Suppl):S54-56.
22. Ray PG, Kelkar SD, Walimbe AM, Biniwale V, Mehendale S. Rotavirus immunoglobulin levels among Indian mothers of two socio-economic groups and occurrence of rotavirus infections among their infants up to six months. *J Med Virol.* 2007;79(3):341–9.
23. Blutt SE, Conner ME. The Gastrointestinal Frontier: IgA and Viruses. *Front Immunol* [Internet]. el 28 de noviembre de 2013 [citado el 9 de septiembre de 2019];4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3842584/>
24. Coulson BS, Grimwood K, Hudson IL, Barnes GL, Bishop RF. Role of coproantibody in clinical protection of children during reinfection with rotavirus. *J Clin Microbiol.* julio de 1992;30(7):1678–84.
25. Espinoza F, Paniagua M, Hallander H, Svensson L, Strannegård O. Rotavirus infections in young Nicaraguan children. *Pediatr Infect Dis J.* junio de 1997;16(6):564–71.
26. Nelson EAS, Glass RI. Rotavirus: realising the potential of a promising vaccine. *The Lancet.* agosto de 2010;376(9741):568–70.
27. Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A, et al. Review Of G And P Typing Results From A Global Collection Of Rotavirus Strains: Implications For Vaccine Development. *J Infect Dis.* el 1 de septiembre de 1996;174(Supplement 1):S30–6.

28. Ruiz-Palacios GM, Pérez-Schael I, Velázquez FR, Abate H, Breuer T, Clemens SC, et al. Safety and Efficacy of an Attenuated Vaccine against Severe Rotavirus Gastroenteritis. *N Engl J Med.* el 5 de enero de 2006;354(1):11–22.
29. Vesikari T, Matson DO, Dennehy P, Van Damme P, Santosham M, Rodriguez Z, et al. Safety and Efficacy of a Pentavalent Human–Bovine (WC3) Reassortant Rotavirus Vaccine. *N Engl J Med.* el 5 de enero de 2006;354(1):23–33.
30. Paternina-Caicedo A, Parashar UD, Alvis-Guzmán N, De Oliveira LH, Castaño-Zuluaga A, Cotes-Cantillo K, et al. Effect of rotavirus vaccine on childhood diarrhea mortality in five Latin American countries. *Vaccine.* julio de 2015;33(32):3923–8.
31. Moon S-S, Groome MJ, Velasquez DE, Parashar UD, Jones S, Koen A, et al. Pre vaccination Rotavirus Serum IgG and IgA Are Associated With Lower Immunogenicity of Live, Oral Human Rotavirus Vaccine in South African Infants. *Clin Infect Dis.* el 15 de enero de 2016;62(2):157–65.
32. Becker-Dreps S, Vilchez S, Velasquez D, Moon S-S, Hudgens MG, Zambrana LE, et al. Rotavirus-Specific IgG Antibodies from Mothers' Serum may Inhibit Infant Immune Responses to the Pentavalent Rotavirus Vaccine. *Pediatr Infect Dis J.* enero de 2015;34(1):115–6.
33. Moon S-S, Wang Y, Shane AL, Nguyen T, Ray P, Dennehy P, et al. Inhibitory effect of breast milk on infectivity of live oral rotavirus vaccines. *Pediatr Infect Dis J.* octubre de 2010;29(10):919–23.
34. Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Tate J, Leshem E, Mercado J, et al. Effectiveness of Pentavalent Rotavirus Vaccine Against a Diverse Range of Circulating Strains in Nicaragua. *Clin Infect Dis.* el 7 de abril de 2016;62(suppl\_2):S127–32.
35. Patel M, Pedreira C, De Oliveira LH, Tate J, Leshem E, Mercado J, et al. Effectiveness of Pentavalent Rotavirus Vaccine Against a Diverse Range of Circulating Strains in Nicaragua. *Clin Infect Dis.* el 7 de abril de 2016;62(suppl\_2):S127–32.

36. Mattos L. C. (2016). Structural diversity and biological importance of ABO, H, Lewis and secretor histo-blood group carbohydrates. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*, 38(4), 331–340. doi:10.1016/j.bjhh.2016.07.005
37. Yamamoto, F., Cid, E., Yamamoto, M., Saitou, N., Bertranpetit, J., & Blancher, A. (2014). An integrative evolution theory of histo-blood group ABO and related genes. *Scientific reports*, 4, 6601. doi:10.1038/srep06601
38. Cooling L. (2015). Blood Groups in Infection and Host Susceptibility. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 801–870. doi:10.1128/CMR.00109-14
39. Lee, B., Dickson, D. M., deCamp, A. C., Ross Colgate, E., Diehl, S. A., Uddin, M. I., Kirkpatrick, B. D. (2018). Histo-Blood Group Antigen Phenotype Determines Susceptibility to Genotype-Specific Rotavirus Infections and Impacts Measures of Rotavirus Vaccine Efficacy. *The Journal of infectious diseases*, 217(9), 1399–1407. doi:10.1093/infdis/jiy054
40. Bucardo F, Mercado J, Reyes Y, González F, Balmaseda A, Nordgren J. Large increase of rotavirus diarrhoea in the hospital setting associated with emergence of G12 genotype in a highly vaccinated population in Nicaragua. *Clin Microbiol Infect*. junio de 2015;21(6):603.e1-603.e7.
41. Sharma S, Hagbom M, Svensson L, Nordgren J. The Impact of Human Genetic Polymorphisms on Rotavirus Susceptibility, Epidemiology, and Vaccine Take. *Viruses*. 2020; 12(3):324.
42. Colston, J. M., Francois, R., Pisanic, N., Peñataro Yori, P., McCormick, B., Olortegui, M. P., Gazi, M. A., Svensen, E., Ahmed, M., Mduma, E., Liu, J., Houpt, E. R., Klapheke, R., Schwarz, J. W., Atmar, R. L., Black, R. E., & Kosek, M. N. (2019). Effects of Child and Maternal Histo-Blood Group Antigen Status on Symptomatic and Asymptomatic Enteric Infections in Early Childhood. *The Journal of infectious diseases*, 220(1), 151–162. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz072>

43. Bishop, R. F., Barnes, G. L., Cipriani, E., & Lund, J. S. (1983). Clinical Immunity after Neonatal Rotavirus Infection. *New England Journal of Medicine*, 309(2), 72–76. doi:10.1056/nejm198307143090203
44. Ali A, Kazi AM, Cortese MM, Fleming JA, Moon S, Parashar UD, et al. (2015) Impact of Withholding Breastfeeding at the Time of Vaccination on the Immunogenicity of Oral Rotavirus Vaccine—A Randomized Trial. *PLoS ONE* 10(6): e0127622. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127622>
45. Sylvia Becker-Dreps, Wan Suk Choi, Lisa Stamper, Samuel Vilchez, et al. Innate Immune Factors in Mothers' Breast Milk and Their Lack of Association With Rotavirus Vaccine Immunogenicity in Nicaraguan Infants. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society* Advance Access published November 17, 2015. Publicado en: <https://www.researchgate.net/publication/284185206>

## 14. ANEXOS

### Operacionalización de las variables

<b>Variables</b>	<b>Concepto</b>	<b>Indicador</b>	<b>Escala</b>
Sexo	Condición orgánica que distingue a los machos de las hembras.	Ficha de recolección de datos.	Masculino Femenino
Edad	Tiempo que ha vivido una persona u otro ser vivo contando desde su nacimiento.	Ficha de recolección de datos.	≤ 60 días > 60 días
Procedencia	Lugar, cosa o persona de que procede alguien o algo.	Ficha de recolección de datos.	c/s Perla María Norori p/s Antenor Sandino p/s Rubén Darío
Lactancia Materna	Es la forma ideal de aportar a los niños pequeños los nutrientes que necesitan para un crecimiento y desarrollo saludables.	Ficha de recolección de datos.	Presente Ausente
IgA	Proteínas secretadas por células del sistema inmune presente en grandes concentraciones en las membranas mucosas, particularmente en las paredes internas de las vías respiratorias y el tracto gastrointestinal, como también en la saliva y las lágrimas.	ELISA	Positivo: Títulos con OD ≥ 0.100  Negativo: Títulos con OD < 0.100

Grupo Sanguíneo	Es una clasificación de la sangre de acuerdo con las características presentes en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre.	Hemaglutinación	A B AB O
Sistema Lewis	Son glicolípidos presentes en el plasma que se adsorben pasivamente en la superficie de la membrana eritrocitaria. También están presentes en secreciones en forma de glicoproteínas.	ELISA	Le <sup>a</sup> Le <sup>b</sup> Le <sup>a-b-</sup>
Secretor	Es una condición determinada desde el nacimiento por la acción de un gen específico, el de la enzima Fucosil Transferasa 2 (FUT2).	ELISA	Se+ Se-