

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

CARRERA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS CLÍNICO

**Antígenos Histosanguíneos Lewis y Secretor Asociados a Infecciones por
Campylobacter jejuni/coli en el Primer Año de Vida de Niños Leoneses.**

Autor: Br. Ruberth Alfredo Somarriba Aguirre.

**Tutor: Fredman González, MSc.
Profesor Asistente.
Departamento de Microbiología y Parasitología**

Octubre 2023.

¡A la libertad por la Universidad!

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA

CARRERA DE BIOANÁLISIS CLÍNICO



TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS CLÍNICO

**Antígenos Histosanguíneos Lewis y Secretor Asociados a Infecciones por
Campylobacter jejuni/coli en el Primer Año de Vida de Niños Leoneses.**

Autor: Br. Ruberth Alfredo Somarriba Aguirre.

**Tutor: Fredman González, MSc.
Profesor Asistente.
Departamento de Microbiología y Parasitología**

Octubre 2023.

¡A la libertad por la Universidad!

ÍNDICE

Resumen.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento	iii
Glosario	iv
1. Introducción	1
2. Antecedentes.....	2
3. Planteamiento del Problema.....	4
4. Justificación	5
5. Hipótesis.....	6
6. Objetivos	7
6.1 General.....	7
6.2 Específicos.....	7
7. Marco Teórico.....	8
7.1 Generalidades	8
7.2 Transmisión, reservorio y fuentes.....	8
7.3 Factores de virulencia y mecanismo de patogenicidad del <i>Campylobacter jejuni</i>	9
7.4 Manifestaciones clínicas.....	11
7.5 Complicaciones.....	11
7.6 Diagnóstico de laboratorio.....	11
7.7 Tratamiento.....	13
7.8 Antígenos de histogrupos sanguíneos	13
7.8.1 Sistema Lewis.....	13
7.8.2 Síntesis.....	14
7.8.3 Susceptibilidad a infecciones debidas a factores genéticos del huésped.....	16
7.8.4 Lactancia materna	16
7.8.5 Calostro	16
8. Materiales y Métodos	17
8.1 Recolección de las muestras de heces.....	17
8.2 Recolección de información.....	17
8.3 Transporte de la muestra.....	17
8.4 Almacenamiento de la muestra	18
8.5 Análisis de las muestras	18
8.6 Detección de histogrupos sanguíneos Lewis en saliva	18
8.7 Análisis Estadísticos.....	19
8.8 Operacionalización de Variables.....	20
8.9 Consideraciones Éticas	20

9. Resultados 21

10. Discusión..... 26

11. Conclusión 28

12. Bibliografías 29

Resumen

Antígenos Histosanguíneos Lewis y Secretor Asociados a Infecciones por *Campylobacter jejuni/coli* en el Primer Año de Vida de Niños Leoneses.

Ruberth Somarriba¹, Fredman González².

1. Carrera de Bioanálisis Clínico, Facultad de Ciencias Médicas, UNAN- León.
2. Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, UNAN- León.

Introducción: la campylobacteriosis es una infección gastrointestinal causado por el patógeno *Campylobacter spp*, que ha venido en incremento mundial en los últimos 10 años, se estima que anualmente se presentan aproximadamente entre 400-500 millones de casos de gastroenteritis. Algunos factores del hospedero como la presencia de antígenos de grupo histosanguíneos (HBGA) Lewis y Secretor pueden mediar la susceptibilidad a las infecciones por este patógeno. **Objetivo:** el presente estudio investigó la asociación entre los antígenos histosanguíneos Lewis y Secretor con las infecciones por *Campylobacter jejuni/coli* en niños con diarrea. **Metodología:** utilizando una cohorte prospectiva de vigilancia de gastroenteritis en 444 niños seguidos desde el nacimiento, se diseñó un estudio caso-control anidado, la detección de *Campylobacter spp* en muestras diarreicas se determinó a través de un ensayo de PCR en Tiempo Real, la presencia de los HBGA Lewis y Secretor se caracterizó utilizando un ensayo inmunoenzimático en formato de ELISA. **Resultados:** de los 444 niños en seguimiento, 81 presentaron infecciones por *Campylobacter spp*, (21%) correspondiente al total de casos, se eligieron 243 controles para una relación 1:3. La frecuencia de HBGA en el grupo en estudio fue Lewis A (LeA 8%), Lewis B (LeB 82%) y Lewis - (Le- 10%), en relación al estatus secretor la frecuencia fue Secretor + (Se+ 91%) y Secretor - (Se- 9%). No se observó asociación estadística entre los antígenos Lewis y Secretor y la positividad a *Campylobacter spp* ($p \geq 0.05$), los individuos LeA y Se+ mostraron tendencia a la infección (OR= 1.9), (OR= 1.72), respectivamente. **Conclusión:** las infecciones por *Campylobacter spp* constituyen una importante carga de la gastroenteritis en León, el rol de los antígenos histosanguíneos asociados a este patógeno debe continuar siendo explorada.

Dedicatoria

A mis padres, que son los que siempre me han apoyado en todo y nadie merece este logro más que ellos.

Agradecimiento

Agradezco a:

Dios, primeramente, por darme la fortaleza, sabiduría y voluntad que necesitaba para culminar esta etapa.

Mis padres, por siempre estar a mi lado en cada una de mis decisiones, buenas o malas, pero nunca dejaron de apoyarme.

Dr. Samuel Vílchez, con quién trabajé en este proyecto en un principio y dejarme encaminado para poder continuar con el mismo.

MSc. Roberto Herrera, ya que fue de gran apoyo ante cualquier consulta que tuviera respecto a alguna duda o dificultad que se me presentara en el proceso.

MSc. Fredman González por ser quién tomó las riendas y aceptó ayudarme a concluir este trabajo, porque sé que sin su ayuda no podría haberlo logrado.

MSc. Lidia Uriarte, quién me abrió las puertas de su laboratorio y me dio la oportunidad de tenerme como practicante desde mi primer año de carrera.

Lic. Massiel Vílchez, por todo el apoyo que me brindó cuando estaba entrando en la recta final como estudiante y quién también me dio su mano y la oportunidad para trabajar en su equipo durante todo el proceso de tesis.

Y a cada una de las personas que de una u otra manera lograron apoyarme en todo este proceso, siempre hay alguien que está dispuesto a echarnos una mano en todo lo que pueda.

Gracias a todos por todo.

Glosario

CCDA	Agar Desoxicolato Cefoperazona Carbón Modificado
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
CDT	Toxina Distendente Citoletal
CEI	Centro de Enfermedades Infecciosas
CEPAL	Comisión Económica para América Latina y el Caribe
CO₂	Dióxido de Carbono
CSM	Agar Campylocrom
EDA	Enfermedad Diarreica Aguda
ELISA	Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas
ETEC	Escherichia coli Enterotoxigénica
Fuc	α -fucosa
FUT2	Fucosiltransferasas 2
FUT3	Fucosiltransferasas 3
Gal	β -D-galactosa
GalNAc	β -D-N-acetilgalactosamina
Glc	β -D-glucosa
GlcNAc	β -D-N-acetilglucosamina
GM	Gangliósidos
HBGA	Antígenos de Grupos Histo-Sanguíneos
HMO	Oligosacáridos de Leche Humana
IL	Interleucina
Le-	Lewis Negativo
LeA	Lewis A
LeB	Lewis B
LOS	Lipooligosacáridos
LPS	Lipopolisacáridos
MAL-ED	Estudio de Desnutrición y Enfermedades Entéricas
NORS	Sistema Nacional de Notificación de Brotes
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PCRm	PCR múltiple
PEB1	Antígeno de Superficie

PIBM	Países de Ingresos Bajos y Medios
pVir	Secuencia Completa del Plásmido
qPCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa Múltiple Cuantitativo
Se-	Secretor Negativo
Se+	Secretor Positivo
SKm	Medio de Skirrow
SSM	Agar de Movilidad Semisólido
T4SS	Sistema de Secreción Tipo IV
UNICEF	Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia

1. Introducción

La campylobacteriosis es un contribuyente importante a la carga global de enfermedad diarreica aguda (EDA). ⁽¹⁾ *Campylobacter* causa aproximadamente 400-500 millones de casos de EDA al año. ⁽²⁾

La transmisión de *Campylobacter spp* a través del ambiente contaminado es más común en países de ingresos bajos y medios (PIBM) que, en países de ingresos altos, debido a que los individuos son más propensos a tener contacto directo con las heces de animales contaminados dentro y fuera del hogar. ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ Además de ser transmitida comúnmente por los alimentos. ⁽⁵⁾ En ese sentido, la exposición a las aves de corral y el consumo de carnes mal cocidas son factores de riesgo comúnmente identificados para la campylobacteriosis en humanos. ⁽⁶⁾ ⁽⁷⁾

En PIBM como Nicaragua, la carga de campylobacteriosis es particularmente alta en niños durante los primeros 5 años de vida. ⁽⁸⁾ También se han descrito otros factores de riesgo como condiciones higiénico sanitarias deficientes, estado inmunológico y factores genéticos del individuo. ⁽⁹⁾

Los HBGA, tales como, la Fucosiltransferasa (FUT) 2 y 3, pueden actuar como factores innatos del huésped que influyen de manera diferencial en la susceptibilidad de los individuos y su descendencia a las infecciones entéricas pediátricas. ⁽¹⁰⁾

El presente estudio pretende investigar la asociación entre antígenos histosanguíneos y las infecciones por *Campylobacter spp* en niños con diarrea en la ciudad de León, Nicaragua.

2. Antecedentes

La campylobacteriosis es un contribuyente importante a la carga global de enfermedad diarreica aguda (EDA). ⁽¹⁾ *Campylobacter* causa aproximadamente 400-500 millones de casos de EDA al año. ⁽²⁾ En países de ingresos bajos y medios (PIBM) la carga de campylobacteriosis es particularmente alta en niños durante los primeros 5 años de vida. ⁽⁸⁾ La transmisión de *Campylobacter* a través del ambiente contaminado es más común en PIBM que en países de ingresos altos, debido a que los individuos son más propensos a tener contacto directo con las heces de animales contaminados dentro y fuera del hogar. ⁽³⁾ ⁽⁴⁾ Además de ser transmitida comúnmente por los alimentos. ⁽⁵⁾ En ese sentido, la exposición a las aves de corral y el consumo de carnes mal cocidas son factores de riesgo comúnmente identificados para la campylobacteriosis en humanos. ⁽⁶⁾ ⁽⁷⁾

Little et al., entre 1992 y 2009, notificaron 138 brotes de gastroenteritis en Inglaterra y Gales. De estos, 114 se debían al consumo de aguas o comidas contaminadas, 2 por contacto animal y 22 por un modo de transmisión desconocido. La mayoría de estos brotes se produjo en puestos de servicios de comida (64%, 73/114), siendo las aves de corral la fuente de infección reportada con mayor frecuencia (38%, 43/114), dichos brotes se asociaron con *Campylobacter spp.* ⁽⁹⁾ ⁽¹¹⁾

Hall et al., realizaron un estudio en Estados Unidos basado en registros de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), entre 1999 y 2008, hubo un total de 4,936 brotes de gastroenteritis, todos asociados a *Campylobacter spp.* Mientras que entre 2009 y 2010, según el Sistema Nacional de Notificación de Brotes (NORS: National Outbreak Reporting System) de EE.UU., hubo un total de 56 brotes confirmados asociados con *Campylobacter spp.* y 13 brotes sospechosos del mismo patógeno. Dentro de estos, 1,550 personas se vieron afectadas con un cuadro de gastroenteritis y fueron hospitalizados 52 individuos. ⁽⁹⁾ ⁽¹²⁾

Un estudio realizado en 2016 en España por *García et al.*, mostró un total de 729 episodios de gastroenteritis bacteriana en las 17 comunidades autónomas (41,2% mujeres y 58,8% varones). La mediana de la edad fue 3,41 años (rango intercuartílico 1,55 a 6,72). El 59,9% de los aislamientos fueron *Campylobacter spp.*, el 31,8% *Salmonella no tifoidea*, el 2,7% *Aeromonas spp.*, el 2,5% *Yersinia spp.* y más de un germen el 1,5%. La mayoría de contagios (70%) son directos, y la intoxicación alimentaria es más improbable (25,9%). *Salmonella spp.* es significativamente menos frecuente que *Campylobacter spp.* en menores de 3 años, y *Campylobacter spp.* es más habitual en el medio rural. ⁽¹³⁾

En un estudio llevado a cabo en 2018 por *Simaluiza et al.*, en Ecuador, se estudiaron 253 niños entre siete meses y 9 años de edad, que consultaron por gastroenteritis en dos hospitales de la ciudad de Loja. Se realizó cultivo de muestras fecales e identificación por pruebas fenotípicas y por PCR múltiple. Como resultado *Campylobacter spp* fue diagnosticado en 16 (6,3%) de las muestras, aislándose *C. jejuni* en 13 (5,1%) y *C. coli* en 3 (1,2%). ⁽¹⁴⁾

Colston et al., 2019, realizaron un estudio multicéntrico investigando los efectos del estatus de los HBGA, FUT2 y FUT3 maternos y del niño. Se analizaron 21,811 muestras de heces (3,663 sintomáticas y 18,148 asintomáticas). Los hijos de madres secretoras (FUT2 positivas) presentaron un aumento hasta del 38% en el riesgo para EDA de cualquier etiología, reduciendo considerablemente el tiempo del primer episodio de diarrea. Mientras que los niños con FUT2 y FUT3 funcionales presentaron una reducción de riesgo de EDA en un 29% y 27%, respectivamente. Hubo asociación entre los HBGA y la infección y diarrea patógeno específica. ⁽¹⁰⁾

En 2019, en un estudio realizado por *Pérez J et al.*, se encontró que, del total de 237 muestras, 96 niños fueron sintomáticos y 141 niños asintomáticos. Se detectó un total de 36 (15.2%) muestras positivas para *Escherichia coli Enterotoxigénica* (ETEC). El fenotipo LeA y Se- indicaron tener mayor riesgo de desarrollar infección. Niños infectados menores de 1 año fueron estadísticamente significativo y son los más propensos a padecer infecciones por ETEC con respecto al modelo de riesgo en el grupo sintomáticos y el grupo asintomáticos la mayoría de los participantes resultaron LeB y Se+. No se encontró asociación entre el histogrupos sanguíneo Lewis como el estatus secretor y las infecciones sintomáticas por ETEC. ⁽¹⁵⁾

3. Planteamiento del Problema

A nivel latinoamericano la mayoría de los países cuentan con un bajo nivel de desarrollo, tanto tecnológico como sanitario. Las malas condiciones higiénico sanitarias son las propicias para la propagación o incremento de muchas infecciones de gran impacto en la salud de la población. De los 17 países latinoamericanos, en Nicaragua el 23% de la población vive en pobreza extrema, según la información brindada por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). ⁽¹⁶⁾

En Nicaragua la tasa de mortalidad por episodios gastroenteritis en niños menores de 5 años es de 16 por cada 105,000 – 232,000 habitantes. ⁽¹⁷⁾ Por otra parte, se conoce que hijos de madres no secretoras (FUT2 negativo) tienen un menor riesgo de padecer diarrea por cualquier etiología, incluyendo *Campylobacter spp.* Siendo este el responsable del 22.4% de los episodios de EDA en el primer año de vida. ⁽¹⁸⁾

Por lo expuesto anteriormente, se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Existe asociación entre los antígenos histosanguíneos Lewis y Secretor con las Infecciones por *Campylobacter jejuni/coli* en el primer año de vida de niños leoneses?

4. Justificación

Las infecciones por *Campylobacter spp* son una problemática a nivel mundial. Esta bacteria es la sexta causa de enfermedades diarreicas, a la cual se le atribuye una fracción del 12.1% en niños menores de 1 año, según el estudio MAL-ED (por sus siglas en inglés Malnutrition and Enteric Diseases Study). Sumado a la alta frecuencia de estas infecciones, las complicaciones asociadas a una infección por *Campylobacter spp* puede incluir: bacteriemia, Síndrome de Guillain-Barre, Síndrome de Miller Fisher, entre otros; además de provocar principalmente retardo en el crecimiento y afectación del desarrollo cognitivo del infante. ⁽¹⁾

Por otra parte, los HBGA humanos son oligosacáridos complejos expresados en la superficie de los glóbulos rojos y las superficies mucosas de los individuos secretores o pueden estar presentes como antígenos libres en los fluidos biológicos, como la saliva, la leche y el contenido intestinal. ⁽¹⁹⁾ Los HBGA como FUT2 y FUT3 pueden actuar como factores innatos del huésped que influyen de manera diferencial en la susceptibilidad de los individuos y su descendencia a las infecciones entéricas pediátricas. ⁽¹⁰⁾

Los oligosacáridos de la leche materna (HMO: Human Milk Oligosaccharides) son controlados por la genética materna; el *gen FUT2*, que codifica la síntesis de FUT2 condiciona el llamado carácter secretor y hace que los antígenos del grupo ABO sean secretados en los líquidos orgánicos. La ausencia de actividad del *gen FUT2* condiciona el carácter no secretor. El *gen FUT3* condiciona la actividad de la FUT3, asociado con el grupo sanguíneo Le+ mientras que su ausencia caracteriza a los portadores como Le-. ⁽²⁰⁾

Uno de los modelos más estudiados de la relación receptor-enteropatógenos-oligosacáridos es la gastroenteritis causada por *Campylobacter jejuni*. Inicialmente se demostró que, a excepción de las inmunoglobulinas, ningún otro componente de la leche materna tenía la capacidad de bloquear *in vitro* la adherencia de *C. jejuni* a cultivos de células intestinales de recién nacidos; los oligosacáridos fucosilados de la leche resultaron ser altamente efectivos como bloqueadores de este proceso. ⁽²¹⁾

Por ende, con el presente estudio se pretende investigar si los antígenos histosanguíneos Lewis y Secretor están asociados a infecciones por *Campylobacter jejuni/coli* en el primer año de vida de niños leoneses.

5. Hipótesis

Los antígenos histosanguíneos Lewis y Secretor están asociados a infecciones por *Campylobacter jejuni/coli* en el primer año de vida de niños leoneses.

6. Objetivos

6.1 General

- Investigar la asociación entre los antígenos histosanguíneos Lewis y Secretor con las infecciones por *Campylobacter jejuni/coli* en el primer año de vida de niños leoneses.

6.2 Específicos

- Detectar la presencia de *Campylobacter jejuni/coli* en los niños con episodios de gastroenteritis.
- Identificar el estatus secretor y no secretor y antígenos histosanguíneos Lewis en la población de estudio.
- Asociar los antígenos histosanguíneos en los casos y controles.

7. Marco Teórico

7.1 Generalidades

Campylobacter spp se caracteriza por ser una bacteria gram negativa, aerobia, microaerofílica, móvil. Presenta formas pleomorfas, pudiendo observárseles como bacilos delgados curvos, espirales, en coma, eses y cocoides sobre todo en cultivos viejos. ⁽²²⁾ Pueden crecer a dos temperaturas: 37° y 42°C. ⁽²³⁾ La taxonomía de este género ha cambiado dramáticamente desde su descubrimiento, en 1963, por Sebald y Véron. ⁽²⁴⁾ Actualmente, comprende 25 especies, dos especies provisionales y ocho subespecies, muchas de las cuales son de importancia clínica y económica. ⁽²⁵⁾

Campylobacter jejuni es una de las especies más importantes, la cual comprende dos subespecies: *C. jejuni* subsp. *jejuni* y *C. jejuni* subsp. *doylei*. La subespecie *jejuni* simplemente es referida como *C. jejuni* y, desde 1970, se la reconoce como la bacteria más aislada a partir de humanos con gastroenteritis. Además, está involucrada en otras enfermedades, ⁽²⁶⁾ tales como proctitis, septicemia, meningitis, aborto y enfermedades autoinmunes (síndrome de Reiter y síndrome de Guillain-Barré). ⁽²²⁾ En pollos y otras especies de aves, así como en perros, cerdos, ovejas y ganado, se considera un organismo comensal, por lo que es uno de los patógenos más importantes presentes y transmitidos por alimentos de origen animal. ⁽²⁴⁾ Actualmente, existen especies de *Campylobacter* spp, denominadas emergentes, que incluyen: *Campylobacter concisus*, *Campylobacter upsaliensis*, *Campylobacter lari*, y *Campylobacter ureolyticus*. Las dos primeras son las especies emergentes que de manera más predominante se aíslan a partir de pacientes con gastroenteritis. No todas las especies se consideran patógenos emergentes debido a que algunas son de reciente identificación y, por lo tanto, no se sabe cuál es su relevancia clínica y su potencial patogénico. El reconocimiento de la emergencia de ciertas especies de *Campylobacter* spp en las enfermedades gastrointestinales se debe, en gran parte, a la capacidad de aislar y detectar estas bacterias en el tracto intestinal mediante técnicas de biología molecular, metodologías de aislamiento innovadoras, y por el entendimiento de las necesidades nutricionales y condiciones de crecimiento de estos microorganismos. ⁽²⁶⁾

7.2 Transmisión, reservorio y fuentes

El reservorio está constituido por los animales domésticos (aves de corral, vacunos, ovinos, porcinos, equinos, perros y gatos) en los que *Campylobacter jejuni* es un comensal del tracto digestivo al igual que en los animales salvajes. ⁽²⁷⁾

La carne de las aves de corral habitualmente está contaminada. La transmisión ocurre por el consumo de alimentos crudos o insuficientemente cocidos, agua y crustáceos contaminados. También se puede transmitir por contacto con animales infectados y de persona a persona. En los climas templados la mayor incidencia se observa a final del verano y comienzo del otoño. Los grupos de edad más afectados son menores de 1 año y adultos jóvenes en los países desarrollados y mayores de 5 años en los países en desarrollo. La relación infección asintomática/enfermedad es 2/1. ⁽²⁷⁾

7.3 Factores de virulencia y mecanismo de patogenicidad del *Campylobacter jejuni*

C. jejuni, al igual que otras bacterias, posee factores de virulencia, entre los que podemos citar: la membrana externa de *Campylobacter spp* contiene un lipopolisacárido (LPS) con la típica actividad endotóxica; la cápsula es importante para la virulencia, la adhesión a las células epiteliales y la invasión; el lipooligosacárido (LOS) es también muy variable y participa en la resistencia, la adherencia a las células epiteliales y la invasión, y, además, la estructura de lo LOS puede mostrar mimetismo molecular de los gangliósidos (GM) neuronales, los cuales están relacionados con el síndrome de Guillain-Barré. Muchos antígenos O de *C. jejuni* poseen estructuras que tienen ácido siálico, su gran parecido con los observados en los gangliósidos humanos, como GM1, así como su presencia en cepas aisladas de pacientes que desarrollan el síndrome de Guillain-Barré sugiere su participación en la patogenia de este síndrome; el flagelo se requiere para la colonización, la virulencia y la invasión de las células epiteliales, y también actúa como un aparato de secreción para antígenos de invasión; el sistema N-glicosilación modifica algunas proteínas periplásmicas y de membrana externa. El N-glicano es importante para la colonización, la adherencia y la invasión de células epiteliales, pero el papel de este glicano en estos procesos aún no es completamente claro. También se ha descrito que entre las cepas del *C. jejuni* se conserva un antígeno de superficie (PEB1) que parece ser la adhesina principal y que se considera un candidato para el desarrollo de una vacuna. ^{(24) (27) (28)}

Un factor de virulencia muy importante es la toxina distendente citoletal (CDT: Cytolethal Distending Toxin), que consta de tres subunidades: CdtA, CdtB, y CdtC. Al parecer la CdtA y la CdtC se unen a un receptor desconocido en la superficie de la célula hospedera; la CdtB, mediante un transporte activo, es llevada al núcleo en donde la toxina rompe la doble cadena de ADN y detiene el ciclo celular, por lo que la CdtB puede actuar como una DNAsa para causar daño directamente al ADN. ⁽²⁴⁾ La secuencia del genoma completo de varias

cepas de *C. jejuni* ha dado origen a realizar nuevas investigaciones que pretenden revelar el mecanismo potencial por el cual esta bacteria se asocia con el hospedero. Por ejemplo, la secuencia completa del plásmido (pVir) permitió identificar un Sistema de Secreción Tipo IV (T4SS: Type IV Secretion System), mismo que juega un papel importante en la invasión celular y en la patogenicidad en general. ⁽²⁴⁾ ⁽²⁹⁾ ⁽³⁰⁾ Los mecanismos de patogenicidad de *C. jejuni* en el tracto gastrointestinal del humano aún no se ha terminado de elucidar. No obstante, se sabe, a grandes rasgos, que *C. jejuni* puede infectar a humanos directamente a través del agua (ya que esta bacteria puede estar en los suministros en donde, por cierto, se asocia con protozoos, tales como las amebas de vida libre), o mediante el consumo de productos animales contaminados mal cocinados (como el pollo, pues se sabe que este microorganismo coloniza su tracto gastrointestinal y lo adquieren sus crías a través de la ruta fecal-oral convirtiéndose, así, en la principal fuente de contaminación). Además, estas bacterias son capaces de formar biopelícula, y su persistencia en el intestino, así como su capacidad invasiva traen como consecuencia la inflamación y la diarrea. ⁽²⁴⁾ En cultivos celulares se ha demostrado que hay especies emergentes de *Campylobacter spp* que pueden atacar e invadir las células epiteliales del intestino, produciendo toxinas que alteran las funciones o causan la muerte de las células hospederas al cruzar las barreras mecánicas e inmunológicas del tracto gastrointestinal, siendo la mucosa intestinal la primera barrera de defensa. ⁽²⁵⁾ En general, la infección por *Campylobacter spp* puede llevarse a cabo en cuatro etapas: colonización, adherencia en células intestinales, invasión, y producción de toxinas, como la CDT. ⁽³¹⁾ En particular, *C. jejuni* se adhiere a la superficie apical de las células del epitelio intestinal, encontrándose involucradas adhesinas como la CadF, la PEB1, la JlpA, y una proteína de membrana externa de 43 kDa. Las bacterias adheridas invaden la célula hospedera secretando diversos factores de virulencia que pueden activar la fosforilación de proteínas y liberar Ca²⁺ de los depósitos intracelulares. Una cascada de señalización se activa, ocasionando disrupción localizada de filamentos y formación de protrusiones que permiten el paso de otras bacterias; hay entrada por endocitosis y formación de una vacuola que envuelve la bacteria y permite el movimiento vía dineína a través de los microtúbulos de la superficie basolateral por exocitosis. La acción de la toxina CDT induce la muerte de la célula y la liberación de interleucina 8 (IL-8). Posteriormente, la bacteria es liberada para poder invadir otras células adyacentes, o para sobrevivir dentro de macrófagos para su diseminación local. ⁽³²⁾ ⁽³³⁾

Ahora bien, no se conoce con exactitud cómo es que *C. jejuni* se encuentra asociado al síndrome de Guillain-Barré. Se piensa que este microorganismo induce una respuesta

inmunológica de origen humoral y celular, y que debido a la forma homóloga (en el nivel molecular) de sus antígenos con los del tejido neuronal se produce una reacción cruzada con el componente gangliósido de la superficie de los nervios periféricos. La reacción inmune contra el antígeno “blanco” en la superficie de la membrana de la célula de Schwann o mielina resulta en neuropatía desmielinizante inflamatoria aguda (85% de los casos) o, si reacciona contra antígenos contenidos en la membrana del axón, en la forma axonal aguda (15% de los casos).⁽³⁴⁾

7.4 Manifestaciones clínicas

Los primeros síntomas de la enfermedad suelen aparecer entre 2 y 5 días después de la infección, pero el período puede oscilar entre 1 y 10 días. Los síntomas clínicos más frecuentes de las infecciones por *Campylobacter spp* son: diarrea (frecuentemente sanguinolenta), dolor abdominal, fiebre, dolor de cabeza, náuseas y/o vómitos, y duran por lo general de 3 a 6 días.⁽³⁵⁾

7.5 Complicaciones

Se ha observado, con diverso grado de frecuencia, complicaciones como bacteriemia (presencia de bacterias en sangre), hepatitis, pancreatitis (inflamación del hígado y el páncreas, respectivamente) y abortos. Entre las complicaciones posteriores a la infección figuran la artritis reactiva (inflamación dolorosa de las articulaciones que puede durar varios meses) y trastornos neurológicos como el síndrome de Guillain-Barré, una forma de parálisis semejante a la poliomielitis que puede provocar disfunción respiratoria y neurológica grave, e incluso la muerte, en un reducido número de casos. La muerte por campylobacteriosis es poco frecuente y suele ocurrir solo en pacientes muy jóvenes o de edad avanzada, o bien en aquellos que ya padecen alguna otra enfermedad grave, como el SIDA.⁽³⁵⁾

7.6 Diagnóstico de laboratorio

El diagnóstico clínico de la campylobacteriosis intestinal se hace con la demostración del microorganismo mediante un examen directo de las heces. La observación de muestras mediante microscopía de campo oscuro o de contraste de fases puede poner de manifiesto la movilidad característica del *Campylobacter spp*, aportando un diagnóstico rápido; y por medio de un frotis teñido por Gram modificado se puede observar su morfología característica. El aislamiento a través de cultivos en medios selectivos permite llevar a cabo

la confirmación de esta bacteria. Los medios de cultivo selectivos comúnmente empleados se basan en agar sangre y antibióticos, como el *Campy* BAP, el medio de Skirrow (SKm) y el medio Butzler. Otros medios de cultivo que contienen carbón son: agar de movilidad semisólido (SSM), agar desoxicolato cefoperazona carbón modificado (CCDA), medio selectivo a base de carbón (CSM), o agar Campylocrom (medio cromogénico), los cuales se siembran por estría cruzada y se incuban en una atmósfera microaerófila con 5% a 10% de oxígeno y 3% a 10% de dióxido de carbono (CO₂). No es necesario realizar un enriquecimiento para aislar el *Campylobacter spp* a partir de heces fecales, a menos de que se sospeche que el número de microorganismos en la muestra sea bajo, pues se sabe que una persona enferma excreta grandes cantidades de bacterias por gramo de materia fecal (106 a 109 UFC), o del tipo de muestra a analizar, para ello se pueden emplear los medios de Cary Blair y *Campy* BAP. A partir de alimentos congelados se necesitan medios de enriquecimiento esenciales, mismos que pueden ser utilizados para su aislamiento con alguna modificación con base en caldo *Brucella*, succinato de sodio 0.3%, cisteína 0.01%, y antibióticos (vancomicina, anfotericina, cefalotina, trimetoprim), los cuales se incuban en una atmósfera microaerófila a 42 °C durante 48 horas. Si el aislamiento es a partir de agua, es necesario filtrar la muestra, centrifugar y sembrar. Actualmente, el desarrollo de las técnicas de filtración representa un avance significativo en el empleo de medios selectivos, además de ser recomendado para llevar a cabo el aislamiento primario de las especies emergentes de *Campylobacter spp*, ya que evitan el paso de bacterias más grandes presentes en la biota entérica. Lo anterior permite el paso de *Campylobacter spp* al utilizar filtros con poros de 0.45 a 0.65 µm, pudiendo ser cultivada en medios no selectivos como el agar sangre. La caracterización bioquímica se hace mediante las pruebas de catalasa, oxidasa, y la hidrólisis del hipurato, así como la aplicación de algunos métodos miniaturizados inmunológicos, bioquímicos o enzimáticos. ⁽³⁶⁾ ⁽³⁷⁾ ⁽³⁸⁾ ⁽³⁹⁾ El empleo de métodos serológicos y moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR: Polymerase Chain Reaction) y una de sus variantes, la PCR múltiple (PCRm), son otras herramientas útiles en la epidemiología y la investigación. Estos métodos identifican la bacteria, ya sea a partir de cultivos puros o bien directamente de heces humanas o de los pollos. ⁽²⁸⁾ ⁽⁴⁰⁾ Existen diversos estudios en los que se han empleado la PCR y su variante la PCRm para detectar *C. jejuni* a partir de la materia fecal de pollos, principalmente, mediante la búsqueda del gen hipO (codifica para una hipuricasa), mismo que está presente en todas las cepas de *C. jejuni*. ⁽⁴⁰⁾ ⁽⁴¹⁾ Otras técnicas empleadas en investigación son las que se basan en el análisis de las proteínas (proteómica). Los métodos proteómicos (como la electroforesis de alta resolución en dos dimensiones y MALDITOF MS para la

caracterización de proteínas) se usan en gran escala para analizar la síntesis global de proteínas como un indicador de la expresión genética de la bacteria. Esto es importante, ya que pueden ayudar a identificar nuevos mecanismos de patogenicidad en el análisis de resistencia a antibióticos, en la epidemiología, en la taxonomía de patógenos microbianos, y en la respuesta inmune del hospedero. En el caso de *C. jejuni*, la proteómica ha contribuido principalmente para entender cómo se lleva a cabo la patogénesis, y para el desarrollo de vacunas. Aun cuando este microorganismo ha sido ampliamente estudiado en el nivel celular y que se han elucidado nuevas secuencias de genomas de varias cepas, no se ha determinado el papel individual de cada proteína involucrada en los procesos de virulencia (adhesión, colonización y toxicidad en las células hospedero).^{(42) (43)}

7.7 Tratamiento

La mayoría de los casos de gastroenteritis por *Campylobacter spp* no requieren tratamiento, ya que generalmente se trata de eventos de corta duración y autolimitados. No obstante, cuando los síntomas son prolongados o muy graves es necesaria la terapia antimicrobiana. Para estas ocasiones la eritromicina es el antibiótico de elección. Algunas especies de *Campylobacter spp* son resistentes a la penicilina, la ampicilina y las cefalosporinas. El incremento de la resistencia a las fluoroquinolonas coincide con la administración de éstas en aves de corral y en medicina veterinaria en general. La mayoría de las cepas de *C. jejuni* son aún susceptibles a: eritromicina, azitromicina, gentamicina, tetraciclina y cloranfenicol. La eritromicina y la azitromicina acortan la duración de la enfermedad cuando se administran en etapas tempranas de la infección gastrointestinal.^{(44) (45) (46)} *Campylobacter jejuni* es uno de los agentes que causa la diarrea del viajero, cuyo tratamiento con antibióticos pueden no funcionar, ya que rápidamente se incrementa la resistencia a ellos, por lo que la vacuna sería la mejor opción para prevenir esta enfermedad.⁽⁴⁷⁾

7.8 Antígenos de histogrupos sanguíneos

7.8.1 Sistema Lewis.

El histogrupo sanguíneo Lewis es único debido a que no están de manera intrínseca en los glóbulos rojos, pero se adsorben pasivamente sobre la membrana 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 Le+ 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. ^{(48) (49)}

Los antígenos de Lewis comienzan a aparecer en los glóbulos rojos poco después del nacimiento. LeA se desarrolla primero; los glóbulos rojos de infantes con un gen Le generalmente se convierten en LeA durante los primeros meses de vida. En personas de raza blanca, a los 3 meses de edad, el 80% de los infantes son LeA, 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 LeB alcanza el nivel adulto. ^{(48) (49)}

7.8.2 Síntesis

Los carbohidratos de grupo histosanguíneo ABO, H, Secretor y Lewis no son productos primarios de genes. Se sintetizan mediante glicosiltransferasas específicas codificadas por los genes ABO, 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. ^{(49) (50)}

Seis tipos de monosacáridos se encuentran en los carbohidratos de los grupos histosanguíneos ABO, H, Lewis y Secretor: β -D-glucosa (Glc), β -D-N-acetilglucosamina (GlcNAc), β -D-galactosa (Gal), β -D-N-acetilgalactosamina (GalNAc), α -fucosa (Fuc) y D-manosa. La L-fucosa es el monosacárido inmunodominante presente en carbohidratos H, LeA y LeB, mientras que N-acetilgalactosamina y galactosa son los monosacáridos inmunodominantes presentes en carbohidratos "A" y "A Lewis B", y "B" y "B Lewis B", respectivamente. ^{(49) (50)}

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. ⁽⁵⁰⁾

Las glicosiltransferasas para modificar y crear nuevas estructuras de carbohidratos de histogrupos sanguíneos ABO, H, 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 histogrupos sanguíneos tienen redundancia y degeneración. Se observa redundancia cuando dos enzimas separadas sintetizan el mismo antígeno. Por ejemplo, la fucosiltransferasa definida por el gen FUT1 y la fucosiltransferasa definida por el gen FUT2 son capaces de sintetizar el carbohidrato H tipo 2 a partir del mismo oligosacárido precursor (tipo 2). La degeneración ocurre cuando la misma enzima sintetiza diferentes estructuras de carbohidratos. Por ejemplo, la fucosiltransferasa definida por el gen FUT2 es capaz de sintetizar los carbohidratos H tipo 1 y H tipo 2 a partir de sus precursores oligosacáridos tipo 1 y tipo 2. Adicionalmente, la fucosiltransferasa definida por el gen FUT3 es capaz de sintetizar al menos cuatro carbohidratos de diferentes grupos histosanguíneos (Lewis A, Lewis B, "A Lewis A", y "A Lewis B",) derivados del oligosacárido precursor tipo 1. ⁽⁴⁹⁾

Los carbohidratos del grupo histosanguíneo 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, LeA y LeB) 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. ⁽⁵⁰⁾

FUT3 crea una nueva especificidad antigénica y diversifica los carbohidratos anteriores mediante la síntesis de LeA, LeB, "A LeA", y "A LeB". 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 LeA. Por la misma reacción, FUT3 forma LeB del antígeno H tipo 1. ⁽⁴⁹⁾

El papel del FUT2 funcional es crucial para la acción de otras glicosiltransferasas del grupo histosanguíneo en la diversificación de los carbohidratos en secretores. ⁽⁴⁹⁾

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. ⁽⁴⁹⁾

7.8.3 Susceptibilidad a infecciones debidas a factores genéticos del huésped.

Diversos estudios han demostrado que la expresión de fenotipo Lewis y ABO pueden ser un gran determinante dentro de los posibles factores susceptibilidad del huésped. Niños menores de 5 años tienen una incidencia 4-5 veces mayor a padecer la infección en relación a niños mayores. ⁽⁵¹⁾

7.8.4 Lactancia materna

La lactancia materna es la forma ideal de aportar a los niños pequeños los nutrientes que necesitan para un crecimiento y desarrollo saludables. Prácticamente todas las mujeres pueden amamantar, siempre que dispongan de buena información y del apoyo de su familia y del sistema de atención de salud. ⁽⁵²⁾

La lactancia materna es la forma natural de alimentación y contribuye con mayor efectividad al desarrollo físico, emocional, intelectual y psicosocial del infante, proporcionándole nutrientes en calidad y cantidad adecuados para el crecimiento y desarrollo de sus órganos, especialmente el sistema nervioso, según las necesidades específicas de cada individuo. ⁽⁵²⁾

Se recomienda la lactancia exclusivamente materna durante los primeros 6 meses de vida, después debe complementarse con otros alimentos hasta los dos años. La leche de pecho contiene sustancias que le ayudarán al bebé a defenderse contra las infecciones y enfermedades. Los bebés alimentados con leche de pecho padecen menos catarro, infecciones del oído, gastroenteritis y vómitos. Además, la leche de pecho es más fácil de digerir que la fórmula. ⁽⁵²⁾

7.8.5 Calostro

El calostro es la leche amarillenta y espesa de alta densidad y poco volumen, que se produce al final del embarazo (3 a 4 días después del parto) con un volumen de 2 a 20 ml por amamantada. Contiene menor cantidad de lactosa, grasa y vitaminas hidrosolubles que la leche madura, pero mayor cantidad de proteínas, vitaminas liposolubles, carotenos y algunos minerales como sodio y zinc. Es el alimento perfecto para el recién nacido, y su administración debe comenzar en la primera hora de vida. ⁽⁵²⁾

8. Materiales y Métodos

- **Tipo de estudio:** Caso – Control Anidado.
- **Período:** Junio 2017 – Diciembre 2018.
- **Población de estudio:** 444 infantes de la ciudad de León, Nicaragua, que forman parte de la cohorte SAGE, a los que se les realizó vigilancia domiciliaria semanal para los episodios por EDA desde el nacimiento hasta los 12 meses de vida.
- **Muestreo:** No probabilístico por conveniencia.
- **Muestra:** 324 niños, 81 casos de diarrea por *Campylobacter jejuni/coli* y 243 controles.
- **Definición de Caso:** niños que hayan presentado episodios de EDA en el primer año de vida por *Campylobacter jejuni/coli*.
- **Definición de Control:** niños que no hayan presentado episodios de EDA en el primer año de vida por *Campylobacter jejuni/coli*.
- **Criterios de Inclusión:**
 - Niños que recibieron vigilancia domiciliaria semanal por episodios de EDA desde el nacimiento hasta los 12 meses de vida.
- **Criterios de Exclusión:**
 - Niños con datos de vigilancia domiciliaria semanal incompletos.

8.1 Recolección de las muestras de heces

Se colectaron muestras de heces diarreicas en las visitas semanales de los niños que padecían la afectación.

8.2 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.

8.3 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.

8.4 Almacenamiento de la muestra

Las muestras de heces y las diarreicas se almacenaron en crioviales de 2.0 ml con y 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.

8.5 Análisis de las muestras

El análisis se realizó mediante PCR Cuantitativo (qPCR). El ADN de las especies de *Campylobacter spp* fue extraído usando QIAamp ADN Stool Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany). Se utilizaron cebadores para ARNr de *Campylobacter* 16S y adhesina de *Campylobacter* a fibronectina (cadF) para detectar *Campylobacter spp* y *C. jejuni / coli*, respectivamente. Se prepararon dos qPCR independientes de 25 µL para rRNA 16S y cadF utilizando 1 µL de muestra de ADN, 12,5 µL de Bio-Rad iQ Multiplex Powermix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA), 1 µL de una mezcla de cebador-sonda en concentraciones finales de 0,2 µM para cada cebador y 0,1 µM para cada sonda, y el agua libre de nucleasas constituye el volumen restante. ADN genómico de *C. jejuni* subsp. *jejuni* se utilizó como control positivo. Los controles negativos incluyeron agua solamente y reacciones que no contenían ADN. La PCR cuantitativa se realizó con un instrumento LightCycler® 96 (Roche Diagnostic, Mannheim, Germany). Las muestras de control positivo y negativo se analizaron por triplicado. ⁽¹²⁾

8.6 Detección de histogrupos 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.* (53)

- **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 Secretor:** Las placas de ELISA se sensibilizaron con 100µL 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 50µl 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 50µl 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 .

8.7 Análisis Estadísticos

Se creó una base de datos utilizando el programa IBM SPSS® Statistics 23.0. Los datos de laboratorio y epidemiológicos se introdujeron en una base de datos diseñada en el programa SPSS, Inc. Chicago IL. Las características clínicas y epidemiológicas fueron presentadas como medidas de frecuencias para datos cualitativos (nominal u ordinal) y medidas de tendencia central ($\bar{x} \pm DS$) para datos cuantitativos. Se realizó cruce entre variables epidemiológicas y variables de laboratorio, siguiendo un análisis univariado para eliminar variables de confusión. Se utilizaron tablas de contingencias 2 x 2 para la prueba

de Chi cuadrado (X^2) y riesgo relativo como medida de asociación a un nivel de confianza del 95% y $p \leq 0.05$.

8.8 Operacionalización de Variables

Variable	Concepto	Valor
Características Generales		
Sexo	Conjunto de características fenotípicas y genéticas que diferencian en hombre y mujer	Masculino. Femenino.
Edad	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Número del mes que corresponde con la edad de la recolección de datos y muestra.
Características Clínicas		
Infección	Colonización del organismo por gérmenes patógenos, que se establecen y se multiplican dentro del hospedero.	Infección sintomática. Infección asintomática.
Campylobacteriosis	Infección comúnmente zoonótica causada por el género <i>Campylobacter spp.</i>	Positivo. Negativo.
Episodios de diarrea	Deposición de 3 o más veces al día (o una frecuencia mayor que la normal para la persona) de heces sueltas o líquidas).	1, 2, 3, 4, 5, 6.
Antígenos Histosanguíneos Lewis	Antígenos que pertenecen al sistema Lewis, que en las secreciones son glucoproteínas y en los hematíes, glucolípidos adquiridos a través del plasma. En sentido estricto, no constituyen un sistema de grupo eritrocitario.	LeA LeB Le-
Estatus Secretor y No Secretor	Es una condición determinada desde que nacemos por la acción de un gen específico, (FUT2), la cual define la habilidad de cada ser humano de secretar el antígeno del Grupo de Sangre en las secreciones corporales producidas en las vías digestivas, respiratorias, genitales y urinarias.	Se+ Se-

8.9 Consideraciones Éticas

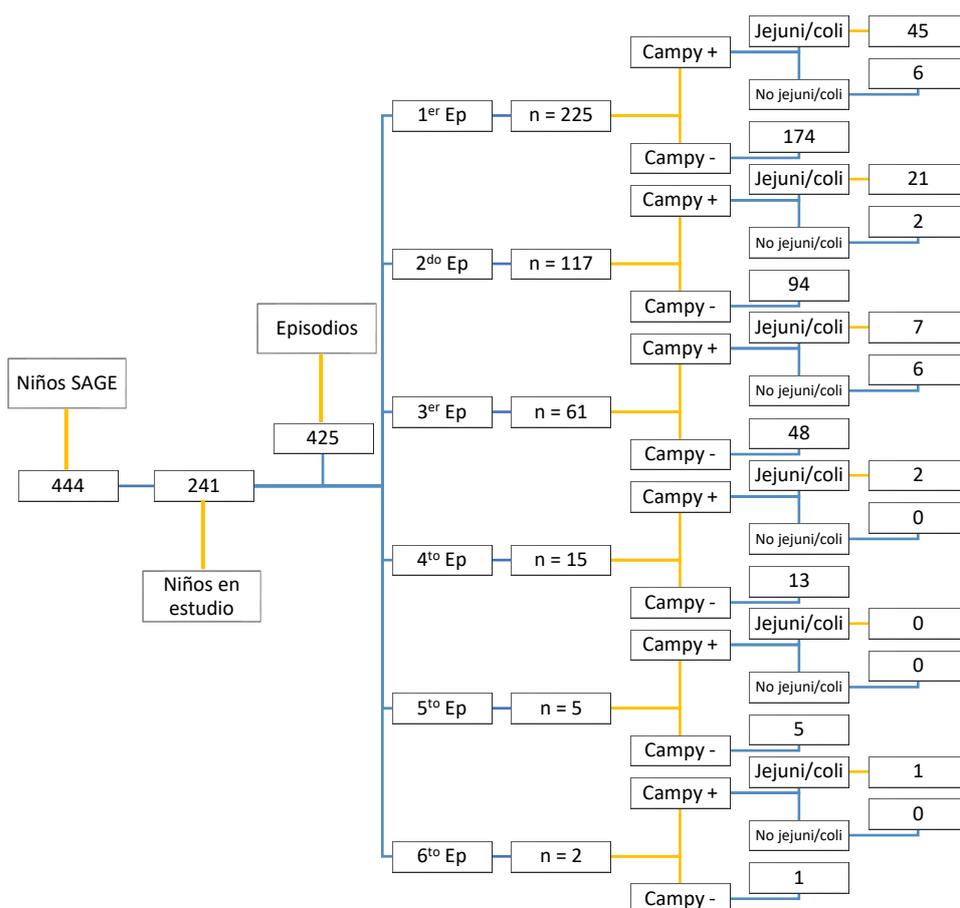
Este estudio fue aprobado por Las Juntas de Revisión Institucional de la UNAN-León (IRB # Acta No. 2-2017) y la Universidad de Carolina del Norte en Chapel Hill (IRB # 16-2079).

9. Resultados

En el presente estudio, un total de 444 niños fueron investigados prospectivamente en el primer año de vida a través de la cohorte de Vigilancia de Gastroenteritis (SAGE). Este estudio ha permitido detectar por medio de métodos moleculares las infecciones por *Campylobacter spp* en todos los episodios de gastroenteritis; así como, identificar los antígenos Lewis y Secretor de los niños en seguimiento.

El 21% (n= 90) de 425 episodios de gastroenteritis fueron positivos para *Campylobacter spp*. Al realizar la genotipificación de las especies se encontró que el 84% (n= 76) fueron positivos para *Campylobacter jejuni/coli*. Los 90 casos positivos para *Campylobacter spp* se presentaron en 81 niños (76 para *jejuni/coli* y 14 no *jejuni/coli*), habiendo sujetos que presentaron la infección más de una vez. **Ver Diagrama 1.**

Diagrama 1. Número total de niños, episodios de gastroenteritis y de casos positivos y negativos presentes en el estudio.

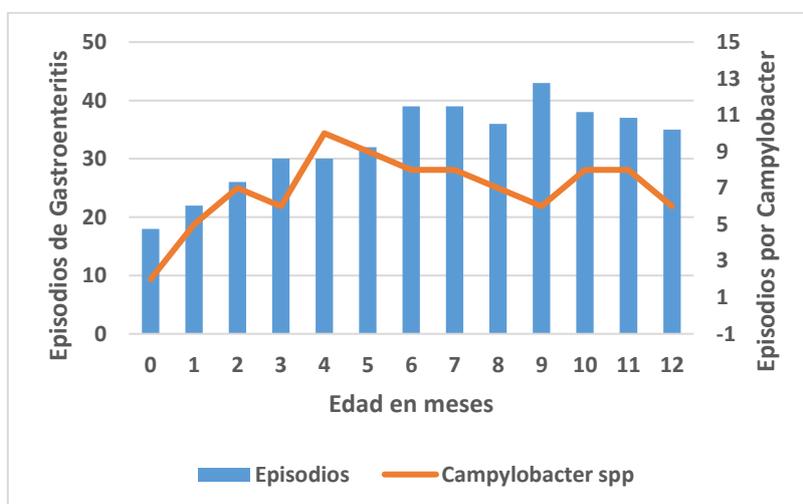


Del total de 444 niños en vigilancia, 241 niños reportaron 425 episodios de diarrea en el primer año de vida, habiendo niños que presentaron más de un episodio de gastroenteritis en el período de estudio. **Ver Tabla 1.** Se observa un incremento de gastroenteritis a partir del sexto mes de vida, con mayor incidencia a los nueve meses. Las infecciones por *Campylobacter spp* aumentan a partir del cuarto mes, manteniéndose por los meses posteriores. **Ver Gráfico 1.**

Tabla 1. Número de episodios de gastroenteritis presentados por niños y positividad para *Campylobacter spp*.

<i>Episodios</i>	<i>Niños</i>	<i>Campylobacter spp</i>	<i>C. jejuni/coli</i>	<i>C. no jejuni/coli</i>
1	107	51	45	6
2	74	23	21	2
3	42	13	7	6
4	13	2	2	0
5	3	0	0	0
6	2	1	1	0
Total:	241	90	76	14

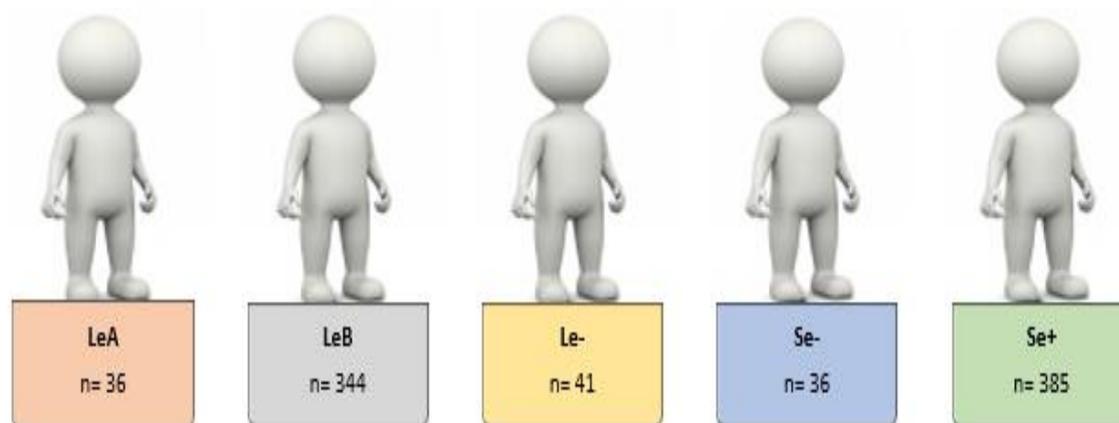
Gráfico 1. Prevalencia de gastroenteritis y campylobacteriosis en el primer año de vida.



Caracterización de los niños según Antígenos Lewis y Estatus Secretor

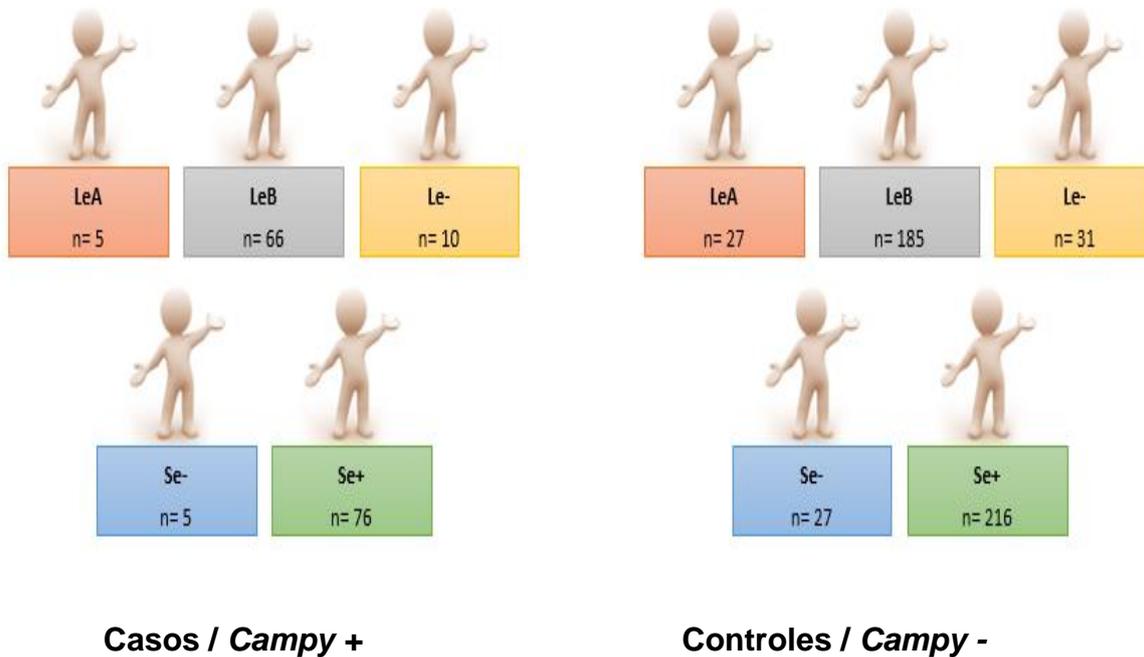
La detección de los antígenos Lewis y Secretor se logró en el 95% de los niños en vigilancia (n= 421/444). La distribución de los antígenos se muestra en la **Figura 1**. Observándose que predominan los niños Lewis B (LeB) con el 82% y los Secretor Positivo (Se+) con el 91%.

Figura 1. Distribución fenotípica del total de los niños en vigilancia.



Para determinar la asociación entre los antígenos histosanguíneos y las infecciones por *Campylobacter spp*, se diseñó un estudio caso control y se eligió un total de 81 niños como casos (niños que hayan presentado episodios de EDA en el primer año de vida por *Campylobacter spp*), y 243 niños como controles (niños que no hayan presentado episodios de EDA en el primer año de vida por *Campylobacter spp*) en una relación 1:3. La distribución de los fenotipos en los casos y controles se muestra en la **Figura 2**.

Figura 2. Distribución fenotípica de los casos (izquierda) y controles (derecha) encontrada en la población de estudio.



Distribución de histogrupos sanguíneos Lewis y Estatus Secretor

Del total de niños estudiados encontramos que el 77% fueron LeB (n= 251), el 10% LeA (n= 32) y el 13% Le- (n= 41). Por otra parte, obtuvimos que el 90% de la población era Se+ (n= 292), mientras que el otro 10% era Se- (n= 32).

Asociación de histogrupos sanguíneos Lewis y Estatus Secretor y las Infecciones por *Campylobacter spp.*

Los análisis estadísticos que asocian la relación entre los factores genéticos Lewis y Secretor y la positividad a *Campylobacter spp* muestran que no hay asociación estadística significativa ($p \geq 0.05$), sin embargo, se observa tendencia no significativa entre las infecciones por *Campylobacter spp* en los sujetos Se+ (OR= 1.9; IC= 0.7 – 5.1) y LeA (OR= 1.72; IC= 0.6 – 5.1), en comparación a los otros fenotipos histosanguíneos. **Tabla 2.**

Tabla 2. Distribución de histogrupos sanguíneos Lewis y Estatus Secretor de la población en estudio.

Secretor	Total	Casos/Campy +	Controles/Campy -	OR (IC 95%)	P
Se+	292	76	216	1.9 (0.7 – 5.1)	0.19
Se-	32	5	27	0.5 (1.1 – 1.4)	
Lewis					
LeA	32	5	27	1.72 (0.6 – 5.1)	0.27
LeB	251	66	185	0.90 (0.4 – 1.6)	0.77
Le-	41	10	31	0.77 (0.3 – 1.6)	0.51

10. Discusión

El presente estudio investigó la asociación entre las infecciones por *Campylobacter spp* y la presencia de los histogrupos sanguíneos Lewis y Secretor en una cohorte prospectiva de 444 niños, seguidos desde el nacimiento hasta el primer año de vida a través de una vigilancia activa de la gastroenteritis semanalmente; de 425 casos de gastroenteritis el 21% fue positivos para *Campylobacter spp*, un estudio publicado por *García et al.*, reportó un 60% de positividad (n= 729), ambos estudios muestran un porcentaje importante de infecciones por *Campylobacter spp*, aunque la diferencia en los resultados obtenidos puede estar sujeta a que la cantidad individuos analizados es aproximadamente tres veces mayor a la nuestra, otro aspecto es que la población analizada por *García et al.*, fue meramente rural, donde las condiciones higiénico sanitarias deficientes y fuentes de agua no potable pueden asociarse al incremento en el número de casos positivos. ⁽¹³⁾

Simaluiza et al., reportaron sólo el 6.3% de casos por *Campylobacter spp*, al compararlo con nuestros resultados existe una notable disminución en el total de casos, esto puede ser atribuible a la edad de los pacientes, debido a que en nuestro estudio se analizó la temporalidad en cuanto a la edad y se notó un descenso en los casos positivos a medida que aumentaba la edad, obteniendo una disminución de casos a partir de los 12 meses de vida. La población analizada por *Simuliza et al.*, eran niños que tenían una media de edad de 3.41 años, por ende, la cantidad de casos fue más baja. ⁽¹⁴⁾

Frecuencia de *Campylobacter jejuni/coli*: el 84% de los casos de *Campylobacter spp* en nuestra cohorte son producto de la infección de las especies *Campylobacter jejuni/coli*, entre los años 2006 y 2007, en un estudio realizado por *Larrosa-Haro et al.*, en México reportaron 858 casos de *Campylobacter jejuni* y fue el enteropatógeno más frecuente en general. De igual manera *Campylobacter jejuni* ha sido reportado como un patógeno frecuente de gastroenteritis en Estados Unidos y Canadá. ^{(9) (54)}

La distribución de antígenos histosanguíneos y secretor en este estudio se corresponde con resultados previos reportados en 2019 por *Pérez J et al.*, donde se obtuvo la distribución de los grupos sanguíneos de los niños de la ciudad de León, con lo cual se determinó que en esta población había un predominio del fenotipo LeB (73%) y Se+ (83%); de igual manera, en los resultados obtenidos en nuestro estudio se muestra una gran similitud con lo anterior, teniendo un 82% para LeB y un 91% para Se+. ⁽¹⁵⁾

Sin embargo, no se pudo obtener asociación estadísticamente significativa entre la distribución de los fenotipos Lewis y Secretor y los casos positivos de gastroenteritis por

Campylobacter spp. Del mismo modo que *Pérez J et al.*, no se obtuvo asociación estadística entre los fenotipos LeB y los casos de diarrea por otras bacterias como ETEC. ⁽¹⁵⁾

Las tendencias estadísticas no significativas obtenidas en este estudio pueden estar relacionadas al número de individuos en estudio, al período de tiempo de vigilancia o a la edad de estudio de los participantes; lo cual puede limitar el entendimiento y asociaciones entre *Campylobacter spp.* y HBGA, no obstante, este estudio analiza por primera vez el rol de los factores genéticos histosanguíneos con una de las causas importantes de gastroenteritis en nuestra población. Lo cual puede permitir la realización de investigaciones posteriores sobre esta temática.

Sin embargo, diversos autores han señalado la importancia de los antígenos en la susceptibilidad o resistencia a infecciones bacterianas. *Colston et al.*, indicaron que los hijos de madres secretoras (FUT2 positivas) presentaron un aumento hasta del 38% en el riesgo para EDA de cualquier etiología. Otros estudios han indicado la asociación entre los antígenos HBGA y algunas infecciones virales como norovirus, rotavirus. ^{(10) (55)}

11. Conclusión

- Se detectó *Campylobacter spp*, en el 21% (n= 90) de los casos de diarrea presentados en el estudio. Siendo del total de estos el 85% (n= 76) *C. jejuni/coli* y el 15% (n= 14) *C. no jejuni/coli*.
- Respecto a los antígenos Lewis y Estatus Secretor se encontró una predominancia de los niños LeB (82%) y Se+ (91%).
- No se observó asociación estadística entre los antígenos Lewis y Secretor y la positividad a *Campylobacter spp* ($p \geq 0.05$), aunque hay tendencias en los sujetos Se+ y LeA (OR= 1.9; IC= 0.7 – 5.1), (OR= 1.72; IC= 0.6 – 5.1) y las infecciones por *Campylobacter spp* respectivamente.

12. Bibliografías

1. Platts-Mills JA, Liu J, Rogawski ET, Kabir F, Lertsethtakarn P, Siguas M, et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to assess the aetiology, burden, and clinical characteristics of diarrhoea in children in low-resource settings: a reanalysis of the MAL-ED cohort study. *Lancet Glob Health*. diciembre de 2018;6(12):e1309-18.
2. Igwaran A, Okoh AI. Human campylobacteriosis: A public health concern of global importance. *Heliyon*. noviembre de 2019;5(11):e02814.
3. Epps SVR, Harvey RB, Hume ME, Phillips TD, Anderson RC, Nisbet DJ. Foodborne *Campylobacter*: infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs. *Int J Environ Res Public Health*. 26 de noviembre de 2013;10(12):6292-304.
4. Piperata BA, Lee S, Mayta Apaza AC, Cary A, Vilchez S, Oruganti P, et al. Characterization of the gut microbiota of Nicaraguan children in a water insecure context. *Am J Hum Biol Off J Hum Biol Council*. enero de 2020;32(1):e23371.
5. Nicaragua 2nd Operation Household Survey Data Quality Report SMI.pdf [Internet]. [citado 14 de mayo de 2023].
6. Friedman CR, Hoekstra RM, Samuel M, Marcus R, Bender J, Shiferaw B, et al. Risk Factors for Sporadic *Campylobacter* Infection in the United States: A Case-Control Study in FoodNet Sites. *Clin Infect Dis*. 15 de abril de 2004;38(Supplement_3):S285-96.
7. Harris NV, Weiss NS, Nolan CM. The role of poultry and meats in the etiology of *Campylobacter jejuni/coli* enteritis. *Am J Public Health*. abril de 1986;76(4):407-11.
8. Zambrana LE, McKeen S, Ibrahim H, Zarei I, Borresen EC, Doumbia L, et al. Rice bran supplementation modulates growth, microbiota and metabolome in weaning infants: a clinical trial in Nicaragua and Mali. *Sci Rep*. 26 de septiembre de 2019;9(1):13919.
9. Kaakoush NO, Castaño-Rodríguez N, Mitchell HM, Man SM. Global Epidemiology of *Campylobacter* Infection. *Clin Microbiol Rev*. julio de 2015;28(3):687-720.
10. 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 junio de 2019;220(1):151-62.

11. Little CL, Gormley FJ, Rawal N, Richardson JF. A recipe for disaster: outbreaks of campylobacteriosis associated with poultry liver pâté in England and Wales. *Epidemiol Infect.* diciembre de 2010;138(12):1691-4.
12. Hall AJ, Wikswo ME, Manikonda K, Roberts VA, Yoder JS, Gould LH. Acute Gastroenteritis Surveillance through the National Outbreak Reporting System, United States. *Emerg Infect Dis.* agosto de 2013;19(8):1305-9.
13. Gastroenteritis aguda bacteriana: 729 casos reclutados por una red nacional de atención primaria.
14. Simaluiza R, Toledo Z, Fernández H. Prevalencia y caracterización del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* en niños con diarrea de la ciudad de Loja, Ecuador. *Rev Chil Infectol.* abril de 2018;35(2):213-5.
15. Perez J. Infecciones sintomáticas por *Escherichia coli* Enterotoxigénica en niños ≤ 5 años de León y su correlación con los fenotipos Lewis y secretor. Tesis Maest UNAN - Ón. mayo de 2019;1(1).
16. Caribe CE para AL y el. Salud y economía: una convergencia necesaria para enfrentar el COVID-19 y retomar la senda hacia el desarrollo sostenible en América Latina y el Caribe. CEPAL; 2020.
17. GBD Diarrhoeal Diseases Collaborators. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis.* septiembre de 2017;17(9):909-48.
18. Resumen Cooperación UNICEF Nicaragua 2019 - 2023.pdf [Internet]. [citado 14 de mayo de 2023].
19. Lévesque S, Fournier E, Carrier N, Frost E, Arbeit RD, Michaud S. Campylobacteriosis in urban versus rural areas: a case-case study integrated with molecular typing to validate risk factors and to attribute sources of infection. *PloS One.* 2013;8(12):e83731.
20. Brunser Tesarschü O. Hidratos de carbono complejos en la leche materna: los oligosacáridos (Parte 1). *Rev Chil Nutr.* octubre de 2019;46(5):626-32.

21. Brunser Tesarschü O. Leche Materna: Características funcionales de los oligosacáridos de la leche materna (Parte 2). Rev Chil Nutr. octubre de 2019;46(5):633-43.
22. Surveillance for Waterborne Disease Outbreaks Associated with Drinking Water — United States, 2011–2012.
23. Liu F, Ma R, Wang Y, Zhang L. The Clinical Importance of *Campylobacter concisus* and Other Human Hosted *Campylobacter* Species. Front Cell Infect Microbiol. 2018;8:243.
24. VÉRON M, CHATELAIN R. Taxonomic Study of the Genus *Campylobacter* Sebald and Véron and Designation of the Neotype Strain for the Type Species, *Campylobacter fetus* (Smith and Taylor) Sebald and Véron. Int J Syst Evol Microbiol. 1973;23(2):122-34.
25. Zhang MJ, Xiao D, Zhao F, Gu YX, Meng FL, He LH, et al. Comparative proteomic analysis of *Campylobacter jejuni* cultured at 37C and 42C. Jpn J Infect Dis. septiembre de 2009;62(5):356-61.
26. 110914.pdf [Internet]. [citado 14 de mayo de 2023]. Disponible en: <https://waves-vagues.dfo-mpo.gc.ca/library-bibliotheque/110914.pdf>
27. Man SM. The clinical importance of emerging *Campylobacter* species. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 25 de octubre de 2011;8(12):669-85.
28. On SLW. Taxonomy, phylogeny, and methods for the identification of *Campylobacter* species. *Campylobacter* Mol Cell Biol. 2005;13-42.
29. Sanchez JD, <https://www.facebook.com/pahowho>. Pan American Health Organization / World Health Organization. 2015. OPS/OMS | Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).
30. Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica - 9th Edition.
31. Pei Z, Blaser M. PEB1, the major cell-binding factor of *Campylobacter jejuni*, is a homolog of the binding component in gram-negative nutrient transport systems. J Biol Chem. 1 de octubre de 1993;268:18717-25.

32. García EC. Campylobacter y enfermedades asociadas. *Epidemiología Molecular y Genómica Bacteriana*. Facultad de Medicina, UNAM. *Rev Fac Med UNAM* Vol.50 No.1 Enero-Febrero, 2007.
33. Poly F, Guerry P. Pathogenesis of Campylobacter. *Curr Opin Gastroenterol*. 1 de febrero de 2008;24:27-31.
34. Haddad N, Marce C, Magras C, Cappelier JM. An Overview of Methods Used To Clarify Pathogenesis Mechanisms of Campylobacter jejuni. *J Food Prot*. 1 de abril de 2010;73(4):786-802.
35. Kopecko DJ, Hu L, Zaal KJM. Campylobacter jejuni – microtubule-dependent invasion. *Trends Microbiol*. 1 de agosto de 2001;9(8):389-96.
36. Campylobacter Pathogenomics: Genomes and Beyond | Request PDF.
37. Acosta MI, Cañizá MJ, Romano MF, Araujo EL. Síndrome de Guillain-Barré. *Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina*. Abril 2007, N° 168: 15-18.
38. Campylobacter. Organización Mundial de la Salud.
39. Martiny D, Dediste A, Debruyne L, Vlaes L, Haddou NB, Vandamme P, et al. Accuracy of the API Campy system, the Vitek 2 Neisseria-Haemophilus card and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for the identification of Campylobacter and related organisms. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. julio de 2011;17(7):1001-6.
40. Fitzgerald C, Nachamkin I. Campylobacter and Arcobacter. En: *Manual of Clinical Microbiology*. John Wiley & Sons, Ltd; 2015. p. 998-1012.
41. Amri AA, Senok AC, Ismaeel AY, Al-Mahmeed AE, Botta GA. Multiplex PCR for direct identification of Campylobacter spp. in human and chicken stools. *J Med Microbiol*. 2007;56(10):1350.
42. Persson S, Olsen KE. Multiplex PCR for identification of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni from pure cultures and directly on stool samples. *J Med Microbiol*. noviembre de 2005;54(Pt 11):1043-7.

43. Wang G, Clark CG, Taylor TM, Pucknell C, Barton C, Price L, et al. Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *J Clin Microbiol*. diciembre de 2002;40(12):4744-7.
44. Gómez-Duarte OG, Bai J, Newel E. Detection of *E. coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, and *Campylobacter* spp. enteropathogens by Three-reaction Multiplex PCR. *Diagn Microbiol Infect Dis*. enero de 2009;63(1):1-9.
45. Prokhorova TA, Nielsen PN, Petersen J, Kofoed T, Crawford JS, Morsczeck C, et al. Novel surface polypeptides of *Campylobacter jejuni* as traveller's diarrhoea vaccine candidates discovered by proteomics. *Vaccine*. 29 de septiembre de 2006;24(40-41):6446-55.
46. Scott NE, Cordwell SJ. *Campylobacter* proteomics: guidelines, challenges and future perspectives. *Expert Rev Proteomics*. febrero de 2009;6(1):61-74.
47. Cecilia HC, Arreola MGA, Graciela CE. *Campylobacter jejuni*: ¿una bacteria olvidada? Situación en México. *Enfermedades Infecc Microbiol*. 2013;33(2):77-84.
48. Red Book: Atlas de enfermedades infecciosas en Pediatría | Asociación Española de Pediatría.
49. Ruiz-Palacios GM. The health burden of *Campylobacter* infection and the impact of antimicrobial resistance: playing chicken. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1 de marzo de 2007;44(5):701-3.
50. Villa NA, Okhuysen PC, Flores-Figueroa J, Jiang ZD, Belkind-Gerson J, Paredes M, et al. *Campylobacter jejuni* is not an Important Pathogen as a Cause of Diarrhea in U.S. Travelers to Mexico. *J Travel Med*. 2011;18(1):56-8.
51. Modern Blood Banking & Transfusion Practices - F.A. Davis Company.
52. Programa Regional de Seguridad Alimentaria y Nutricional.
53. Nordgren J, Sharma S, Bucardo F, Nasir W, Günaydın G, Ouermi D, et al. Both Lewis and Secretor Status Mediate Susceptibility to Rotavirus Infections in a Rotavirus Genotype–Dependent Manner. *Clin Infect Dis*. 1 de diciembre de 2014;59(11):1567-73.

54. Larrosa-Haro A, Macias-Rosales R, Sánchez-Ramírez CA, Cortés-López MC, Aguilar-Benavides S. Seasonal Variation of Enteropathogens in Infants and Preschoolers With Acute Diarrhea in Western Mexico. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* octubre de 2010;51(4):534.
55. Faden H, Schaefer BA. Secretors of HBGA and Susceptibility to Norovirus and Rotavirus Diarrhea. *Pediatr Infect Dis J.* 1 de septiembre de 2021;40(9):846-51.