

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y
BIOTECNOLOGÍA



**“Estado nutricional, marcadores de inflamación, infección
por patógenos entéricos y enfermedad diarreica aguda
ambulatoria en niños menores a 1 año de la ciudad del Alto –
La Paz - Bolivia”**

Tesis para optar al título de *Magister Scientiarum*
Mención Biología Molecular presentado por

Lic. Sonia Guadalupe Jimenez Pacohuanca

LA PAZ-BOLIVIA

2020

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLOGICAS Y BIOMEDICAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y
BIOTECNOLOGIA



“Estado nutricional, marcadores de inflamación, infección por patógenos entéricos y enfermedad diarreica aguda ambulatoria en niños menores a 1 año de la ciudad del Alto – La Paz - Bolivia”

Tesis para optar al título de *Magister Scientiarum*
Mención Biología Molecular presentado por:

Lic. Sonia Guadalupe Jimenez Pacohuanca

TUTORA: Volga Iñiguez Ph. D.

LA PAZ-BOLIVIA

2020

INDICE

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCION..... | 1 |
| 2. ANTECEDENTES | 3 |
| 2.1. Diarrea..... | 3 |
| 2.1.1. Definición..... | 5 |
| 2.1.2. Clasificación..... | 5 |
| 2.1.2.1. Diarrea no inflamatoria | 6 |
| 2.1.2.2. Diarrea inflamatoria..... | 7 |
| 2.2. Etiología | 8 |
| 2.2.1. Enteropatógenos bacterianos: <i>Escherichia coli</i> diarreogénica (DEC) | 10 |
| 2.2.1.1. ETEC (<i>Escherichia coli enterotoxigénica</i>) | 11 |
| 2.2.1.1.1. Patogénesis | 11 |
| 2.2.1.1.2. Epidemiología | 12 |
| 2.2.1.2. EPEC (<i>E. coli enteropatogénica</i>) | 14 |
| 2.2.1.2.1. Patogénesis | 14 |
| 2.2.1.2.2. Epidemiología | 15 |
| 2.2.1.3. EAEC (<i>E. coli enteroagregativa</i>)..... | 16 |
| 2.2.1.3.1 Patogénesis | 16 |
| 2.2.1.3.2 Epidemiología | 17 |
| 2.2.1.4 Enteropatógenos virales: norovirus | 18 |
| 2.2.1.4.1 Organización molecular de norovirus | 18 |
| 2.2.1.4.2 Transmisión | 19 |
| 2.2.1.4.3 Patogénesis | 20 |
| 2.2.1.4.4 Respuesta inmune del huésped..... | 21 |
| 2.2.1.4.5 Rol de las bacterias..... | 21 |
| 2.2.1.4.6 Síntomas clínicos..... | 22 |
| 2.2.1.4.7 Epidemiología | 22 |
| 2.2.1.4.8 Norovirus en América Latina. | 22 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 2.2.1.4.9 | Genogrupos | 23 |
| 2.2.1.5 | Rotavirus | 23 |
| 2.2.1.5.1 | Epidemiología | 24 |
| 2.3 | Factores asociados con la enfermedad diarreica aguda..... | 25 |
| 2.3.1 | Factores sociodemográficos y socioeconómicos..... | 25 |
| 2.4. | Micronutrientes y la enfermedad diarreica..... | 26 |
| 2.5. | Deficiencia de Hierro | 27 |
| 2.5.1. | Metabolismo del hierro | 27 |
| 2.5.2. | Medición del hierro | 28 |
| 2.5.3 | Hierro e infección bacteriana | 28 |
| 2.6. | Zinc y Diarrea..... | 29 |
| 2.6.1. | Metabolismo del zinc | 30 |
| 2.7. | Vitamina A | 31 |
| 2.7.1 | Metabolismo de la vitamina A | 32 |
| 2.7.2 | Deficiencia de vitamina A, infección y diarrea..... | 32 |
| 2.7.3 | Vitamina A y norovirus..... | 35 |
| 2.8 | Inflamación..... | 35 |
| 2.8.1 | Inflamación y diarrea..... | 36 |
| 2.8.2 | Inflamación, Infección y Biomarcadores Nutricionales..... | 37 |
| 3 | OBJETIVOS..... | 40 |
| 3.1 | Objetivo general | 40 |
| 3.2 | Objetivos específicos..... | 40 |
| 4 | METODOLOGÍA..... | 41 |
| 4.1 | Área de estudio | 41 |
| 4.1.1 | Población en estudio..... | 41 |
| 4.2 | Recolección de la muestra de heces | 43 |

| | | |
|---------|--|----|
| 4.3 | Criterios de caso | 44 |
| 4.5 | Índice de Vesikari modificado | 44 |
| 4.6 | Cepas de referencia..... | 44 |
| 4.7 | Muestras de sangre | 45 |
| 4.8 | Procesamiento de las muestras de heces | 45 |
| 4.9 | Obtención de DNA bacteriano | 45 |
| 4.10 | Identificación de <i>E. coli</i> diarreogénica..... | 46 |
| 4.11 | Identificación de rotavirus..... | 46 |
| 4.12 | Identificación de norovirus..... | 47 |
| 4.13 | Análisis estadístico | 47 |
| 4.14 | Permisos bioética..... | 47 |
| 5 | RESULTADOS | 48 |
| 5.1 | Características generales de la población en estudio..... | 48 |
| 5.2 | Características nutricionales e inflamación de la población de estudio | 50 |
| 5.3 | Incidencia y prevalencia de la diarrea de la población en estudio | 55 |
| 5.4 | Diarrea y características sociodemográficas de la población en estudio..... | 57 |
| 5.5 | Diarrea y características nutricionales, de inflamación y tipo de lactancia de la población en estudio | 59 |
| 5.6 | Diarrea y patógenos entéricos | 62 |
| 5.6.1 | Subpoblación 1 | 62 |
| 5.6.1.1 | Prevalencia de patógenos entéricos y diarrea: DEC, norovirus y rotavirus | 62 |
| 5.6.1.2 | Características clínicas de los cuadros diarreicos..... | 68 |
| 5.6.1.3 | Número, promedio y tipo de patógenos entéricos en las muestras con diarrea y sin diarrea | 68 |
| 5.6.1.4 | Coinfecciones entre patógenos testados | 75 |
| 5.6.1.5 | Distribución de patógenos en niños < 6 y ≥ 6 meses | 76 |
| 5.6.1.6 | Escherichia coli enterotoxigenica (ETEC): Perfil de genotipos de toxinas | 81 |
| 5.6.1.7 | Genogrupos de norovirus: GI y GII | 82 |

| | | |
|---------|--|-----|
| 5.6.1.8 | Porcentaje acumulativo de la infección por patógenos entéricos en la subpoblación 1: DEC y norovirus | 83 |
| 5.6.2 | Subpoblación 2 | 88 |
| 5.6.2.1 | Prevalencia de patógenos entéricos y diarrea: DEC, norovirus y rotavirus | 88 |
| 5.6.2.2 | Número, promedio y tipo de patógenos entéricos en las muestras con diarrea y sin diarrea | 89 |
| 5.6.2.3 | Distribución de patógenos en los 5 primeros meses de vida | 95 |
| 5.6.3 | Subpoblación 3: Infección por norovirus y su asociación con la EDA (estudio longitudinal) | 98 |
| 5.6.3.1 | Diarrea e infección por norovirus | 99 |
| 5.6.3.2 | Norovirus y grupo étnico | 103 |
| 5.6.3.3 | Norovirus y parámetros nutricionales | 105 |
| 6 | DISCUSIÓN | 106 |
| 6.1 | Consideraciones generales | 106 |
| 6.2 | Características sociodemográficas, nutricionales, inflamación y diarrea | 108 |
| 6.3 | Estado nutricional e Inflamación | 110 |
| 6.4 | Estado nutricional, Inflamación y EDA | 114 |
| 6.5 | EDA y enteropatógenos: | 115 |
| 6.5.1 | Subpoblaciones 1 y 2 | 115 |
| 6.5.2 | Estudio de norovirus: subpoblación 3 | 122 |
| 7 | CONCLUSIONES | 126 |
| 8 | BIBLIOGRAFÍA | 131 |
| | ANEXO | 145 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Características de la diarrea infecciosa inflamatoria y no inflamatoria | 5 |
| Tabla 2. Agentes causantes de la diarrea | 9 |
| Tabla 3. Indicadores de hierro..... | 28 |
| Tabla 4. Índice de Vesikari modificado. Sistema de puntaje para determinar la severidad de la diarrea..... | 44 |
| Tabla 5. Genes marcadores de los patotipos de <i>E. coli</i> patogénica..... | 46 |
| Tabla 6. Genes marcadores para la detección de norovirus por RT-PCR..... | 47 |
| Tabla 7. Características generales de la población y subpoblaciones. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 49 |
| Tabla 8. Características del estado nutricional e inflamación de la población de niños. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 51 |
| Tabla 9. Tipos de diarrea registrados en la población de niños del estudio (Número total de episodios egistrados= 414). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 55 |
| Tabla 10. Incidencia de la diarrea en la población de niños por las redes de salud de los hospitales de procedencia. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 56 |
| Tabla 11. Características socio demográficas de los niños con y sin diarrea. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 58 |
| Tabla 12. Factores del estado nutricional, inflamación y lactancia asociados con la enfermedad diarreica. Población total (N=461), subpoblación 1 (N= 186) y subpoblación 2 (N= 249). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 60 |
| Tabla 13. Valores de razón de probabilidades y riesgo relativo ajustados por edad y sexo de las muestras con diarrea y sin diarrea en relación a la presencia o | |

| | | |
|-----------|--|----|
| | ausencia de patógenos en las subpoblaciones 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces), 1 ^a (N= 186 niños, 186 muestras de heces). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 67 |
| Tabla 14. | Características de los episodios diarreicos en la presencia y ausencia patógenos (N= 108). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015) | 68 |
| Tabla 15. | Número de patógenos entéricos encontrados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea. A: subpoblación 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces). B: subpoblación 1 ^a (N= 186 niños, 186 muestras de heces).. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 70 |
| Tabla 16. | Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces), con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 73 |
| Tabla 17. | Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 1 ^a (N= 186 niños, 186 muestras de heces) con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 74 |
| Tabla 18. | Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños ≤ a 6 meses (N= niños, 111 muestras de heces), con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo | |

| | | |
|-----------|---|----|
| | relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 79 |
| Tabla 19. | Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños > a 6 meses (N= 106 muestras de heces), con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 80 |
| Tabla 20. | Características generales de la subpoblación 2. Distribución de las muestras en relación a la presencia o ausencia de episodios de diarrea del grupo etáreo de 1 a 5 meses. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 88 |
| Tabla 21. | Número de patógenos entéricos encontrados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea de la subpoblación 2 (N= 249 niños, 334 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 91 |
| Tabla 22. | Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños de hasta 5 meses (N= 249 niños, 334 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 94 |
| Tabla 23. | Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea por meses. B) 2do mes, C) 3er mes D) 4to mes y E) 5to mes (N= 249 niños, 334 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI). El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 97 |
| Tabla 24. | Norovirus identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños de hasta los 12 meses (N= 107 niños, 582 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. | |

| | |
|---|-----|
| Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 100 |
| Tabla 25. Norovirus identificados en las muestras de heces con y sin diarrea en: A: niños \leq 6 meses y B: $>$ a 6 meses. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 104 |
| Tabla 26. Vitamina A y la infección por norovirus en muestras diarreicas y no diarreicas de los niños analizados (N= 107 niños, 582 muestras de heces). A: Mediante regresión logística. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)..... | 105 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Causas globales de la muerte en niños en el 2015 (Liu, 2016). | 3 |
| Figura 2. Porcentaje de muertes en niños menores de 5 años atribuidos a la diarrea, (UNICEF, 2016)..... | 4 |
| Figura 3. Mecanismo de la diarrea no inflamatoria (Navaneethan & Giannella, 2008). ... | 7 |
| Figura 4. Mecanismo de la diarrea inflamatoria (Navaneethan & Giannella, 2008). | 8 |
| Figura 5. Mecanismo patogénico de <i>Escherichia coli enterotoxigénica</i> (ETEC) (Croxen & Finlay, 2009). | 11 |
| Figura 6. Mecanismo patogénico de EPEC(Kaper et al., 2004). | 15 |
| Figura 7. Mecanismo patogénico de EAEC (Croxen & Finlay, 2009). | 17 |
| Figura 8. Organización molecular del norovirus. a) el genoma de norovirus está unido covalentemente a VPg (NS5). Presenta una cola poliA y codifica a tres ORFs (Thorne & Goodfellow, 2014). | 19 |
| Figura 9. Epidemiología del norovirus en la comunidad, adaptado de Graaf et al., 2016 (Graaf et al., 2016). | 20 |
| Figura 10. Estructura del Rotavirus (Crawford et al., 2017)..... | 24 |
| Figura 11. Población y subpoblaciones de estudio. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). | 42 |
| Figura 12. Detalle de las visitas y rango de edad de los niños..... | 43 |
| Figura 13. Prevalencia de la anemia, micronutrientes, inflamación y lactancia materna en los 12 primeros meses de vida de la población de niños..... | 54 |
| Figura 14. Puntaje de severidad de la población de niños con diarrea aguda (N=260) acorde a puntaje de Vesikari modificado. | 56 |
| Figura 15. Prevalencia y porcentaje acumulativo de la diarrea en los primeros 12 meses de vida en la población de niños analizada. | 57 |
| Figura 16. Prevalencia de la diarrea y la lactancia parcial y exclusiva en los 12 primeros meses de vida de la población de niños. | 61 |

| | |
|---|----|
| Figura 17. Características generales de la subpoblación 1-1 ^a . Distribución de las muestras en relación a la presencia o ausencia de episodios de diarrea, con datos que incluyen la edad del niño y el número de visitas registradas. | 63 |
| Figura 18. Porcentaje de infección por patógenos entéricos en las muestras de heces de los niños de la subpoblación 1. | 64 |
| Figura 19. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces de niños con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 1: (N= 186 niños, 217 muestras de heces)..... | 66 |
| Figura 20. Coinfecciones por patógenos entéricos en el total de las muestras analizadas en las subpoblaciones 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces)..... | 75 |
| Figura 21. Patógenos entéricos identificados en las muestras de niños de la subpoblación 1 agrupadas por edad: \leq a 6 meses y $>$ de 6 meses.). | 77 |
| Figura 22. Genotipos de las toxinas de cepas ETEC circulantes en la subpoblación 1. A: Total de muestras. B: Muestras con y sin diarrea de los niños.. | 81 |
| Figura 23. Prevalencia de la infección con genogrupos GI y GII de norovirus circulantes en la subpoblación 1. | 82 |
| Figura 24. Distribución del porcentaje acumulativo de la infección por patógenos entéricos (DEC y NV) a lo largo del primer año de vida: A: NV y DEC, B: NV y los diferentes patotipos de DEC en muestras de la subpoblación 1..... | 84 |
| Figura 25. Distribución porcentual acumulativo de norovirus y de los patotipos de DEC detectados por mes en muestras diarreicas y no diarreicas de la subpoblación 1. | 87 |
| Figura 26. Porcentaje de infección por patógenos entéricos en las muestras de heces de los niños de la subpoblación 1. | 89 |
| Figura 27. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces de niños con diarrea y sin diarrea en la subpoblacion 2..... | 93 |
| Figura 28. Distribución de los patógenos entéricos en la subpoblación 2 (N= 249 niños, 334 muestras de heces)..... | 96 |
| Figura 29. Distribución de las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 3 (N= 107 niños, 582 muestras de heces). | 98 |

| | |
|--|-----|
| Figura 30. Porcentaje de la infección por Norovirus en A: muestras diarreicas y B: no diarreicas de los niños analizados (N= 107 niños, 582 muestras de heces)..... | 99 |
| Figura 31. Numero acumulativo de la infección por norovirus. A: Diarrea, B: Infección por norovirus y C: Diarrea por norovirus, de los niños analizados (N= 107 niños, 582 muestras de heces)..... | 102 |
| Figura 32. Genogrupos de Norovirus detectados en A: conjunto y B: en muestras diarreicas y C: no diarreicas (N= 107 niños, 582 muestras de heces)..... | 103 |

LISTA DE ABREVIATURAS

- ABCA1: Transportador basolateral de colesterol 1
- AGP: Alfa- glicoproteína
- AMPc: Adenosin monofosfato cíclico
- ApoE: Apolipoproteína E
- ATP: Adenosin trifosfato
- BPF: Pili formador de haz
- CFTR: Regulador de conductancia transmembranal de fibrosis quística
- DEC: *Escherichia coli* diarreogénica
- DMT1: Transportador de metal divalente 1
- DAEC: *Escherichia coli* adherente difusa
- EAEC: *Escherichia coli* enteroagregativa,
- EDA: Enfermedad diarreica aguda
- EHEC: : *Escherichia coli* enterohemorrágica;
- EIEC: *Escherichia coli* enteroinvasiva;
- ETEC: *Escherichia coli* enterotoxigénica
- Fep: Enterobactina férrica
- GEMS: Estudio global multicentro entérico
- GI: Genogrupo I
- GII: Genogrupo II
- GMPc: Guanosin monofosfato cíclico
- Hb: Hemoglobina
- HBGAs: Grupo de antígenos histo-sanguíneos
- IBMB: Instituto de Biología Molecular y Biotecnología
- IFN- β : Interferón β
- IL: interleucina
- IMC: Índice de masa corporal
- LEE: Locus de esfasclamiento del enterocito
- LpL: Lipoproteína lipasa
- LT: Termolábil
- MAL-ED: La desnutrición y las consecuencias para la salud y el desarrollo del niño
- MCP-1: Proteína quimioatrayente de monocitos-1
- NIDI: Proyecto Nutrición, Inmunología y Diarrea infantil
- NV: Norovirus
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- OR: Odds ratios

- ORF: Marco de lectura abierto
- PCR: Proteína C reactiva
- PCT: Procalcitonina
- pEAF: Plásmido de factor de adherencia
- PFAs: Proteínas de fase aguda
- qRCP: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativo
- RBP: Proteína de unión al retinol
- RCP: Reacción en cadena de la polimerasa
- RNAss: Ácido ribonucleico de cadena simple
- ROS: Especies oxígeno reactivas
- RV: Rotavirus
- Sip: Transportadores tipo hierro
- sp.: Especie
- spp: Especies
- ST: Termoestable
- STREM: Receptor soluble de células mieloides
- sTRF: Receptor soluble de la transferrina
- T3SS: Sistema de secreción tipo III
- TNF: Factor de necrosis tumoral
- TNF α : Factor de necrosis tumoral - alfa
- UNICEF: Fondo de la Naciones Unidas para la infancia
- UV: Ultravioleta
- ZnTs: Transportadores de zinc

DEDICATORIA

A mis queridos y amados abuelitos, María y Benancio, quienes me apoyaron siempre y me brindaron todo su amor y cariño. Gracias por estar con nosotras cuando más lo necesitábamos. Están presentes en mi corazón junto con mi madre.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios por darme una nueva oportunidad de poder avanzar un paso más en mi vida y a todas las personas que contribuyeron a la realización de la tesis.

Un agradecimiento especial a la Dra. Volga Iñiguez, asesora de mi tesis, por brindarme todo el apoyo intelectual y moral para la realización de la tesis. También por brindarme toda su experiencia y conocimiento a nivel de investigación. Gracias por su paciencia, por su aliento en cada etapa de la tesis, es usted una persona especial y maravillosa.

A Miguel Fernández por su guía y ayuda en la parte estadística del trabajo,

A mis compañeros del Instituto de Biología Molecular y Biotecnología: Jessica Guzmán, Jorge Agramont (Coco), Leonarda Achá, Paola Rocabado, Violeta Poma, Lucía Inchauste, Julia Barreta, Nataniel Mamani y Dña. Vicky, por su voto de confianza y su aliento constante para finalizar el trabajo.

A mí querida hija Jessica, la razón de mi vida, el motor que me impulsa a seguir avanzando en la vida.

A mi esposo Alberto Pinaya, compañero de vida, por apoyarme en este camino.

A la universidad de EMORY por el apoyo brindado en la realización del proyecto.

A la cooperación sueca ASDI/SAREC por financiar el proyecto de Enfermedades diarreicas y al Departamento de Investigación Postgrado, e Interacción Social (DIPGIS) de la Universidad Mayor de San Andrés, que gestionaron el soporte económico mediante la beca de maestría.

RESUMEN

La enfermedad diarreica es una de las primeras causas de morbi-mortalidad en los niños menores de 5 años, en los países en vías de desarrollo. En Bolivia, existen pocos estudios sobre la diarrea ambulatoria y su impacto en la salud del niño. El presente trabajo tiene como finalidad contribuir al conocimiento de la diarrea ambulatoria, mediante el análisis de la infección por enteropatógenos [*E. coli* diarreogénica (DEC) (*E. coli* enteroagrativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), norovirus (NV) y rotavirus (RV)] e indicadores de inflamación y del estado nutricional en niños menores a 12 meses de edad, en un estudio de cohorte prospectivo (N=403) realizado en dos hospitales de la ciudad de El Alto. Para ello, se recolectaron datos, muestras fecales y de sangre de los niños participantes en el estudio. Los resultados mostraron que la población muestra indicadores nutricionales preocupantes de desnutrición crónica además de deficiencias nutricionales múltiples a diferentes rangos de edad. Se observó en la población de estudio una alta prevalencia de infección por patógenos entéricos desde el primer mes de edad particularmente de DEC. La prevalencia de la diarrea alcanzó el 62,7%, con una incidencia de 1,16 episodios/niño/año. Se encontró una asociación significativa de la diarrea con la inflamación aguda, inflamación crónica y tipo de lactancia. Asimismo, la diarrea mostró asociación tanto con el número, promedio y porcentaje de patógenos como con las coinfecciones entre los mismos. En conjunto, las infecciones virales (norovirus y/o rotavirus) mostraron asociación significativa con la diarrea a nivel de cualquier infección en contraste a las infecciones causadas por DEC. En niños menores a 5 meses, norovirus y rotavirus presentaron asociación significativa con la diarrea.

En una sub-muestra poblacional analizada específicamente para norovirus se encontró que, la infección tanto de norovirus como de cada uno de los genogrupos de norovirus

GI y GII por separado, mostró asociación con la diarrea, observándose una prevalencia de infección en los casos diarreicos de 19,2%, siendo el genotipo GII el más frecuentemente encontrado. En esta subpoblación la mono infección por norovirus presento asociación con la diarrea en niños menores a 6 meses en contraste a edades mayores. Además, mediante regresión logística se encontró una asociación significativa de tendencia negativa entre la infección de norovirus con la vitamina A.

Estos datos en conjunto servirán de base para estudios futuros que permitan una mejor comprensión del impacto de la infección por enteropatógenos el estado nutricional y la diarrea ambulatoria.

Palabras claves:

Diarrea ambulatoria, *E. coli* diarreogénica, norovirus, inflamación, anemia, deficiencia de zinc, deficiencia de vitamina A, enteropatogenos

SUMMARY

Diarrheal disease is one of the leading causes of morbidity and mortality in children under 5 years of age, in developing countries. In Bolivia, there are few studies on ambulatory diarrhea and its impact on the child's health. The purpose of this work was to contribute to the knowledge of ambulatory diarrhea, through the analysis of enteropathogenic infection [diarrheogenic *E. coli* (DEC) (enteroagregative *E. coli* (EAEC), enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), enteropathogenic *E. coli* (EPEC), norovirus (NV) and rotavirus (RV)] and indicators of inflammation and nutritional status in children under 12 months of age, in a prospective cohort study (N = 403) conducted in two hospitals in the city of El Alto., For this, clinical data, fecal and blood samples were collected from the children participating in the study. The results showed that the population display alarming nutritional indicators of chronic malnutrition in addition to multiple nutritional deficiencies at different age ranges along first year of age. The prevalence of diarrhea reached 62.7%, with an incidence of 1.16 episodes / child / year. A significant association of diarrhea with acute inflammation, chronic inflammation and type of lactation was found. Likewise, diarrhea showed an association both with the number, average and percentage of pathogens and with the co-infections among them. Taken together, viral infections (norovirus and / or rotavirus) showed a significant association with diarrhea at the level of any infection in contrast to infections caused by DEC. In children younger than 5 months, norovirus and rotavirus had a significant association with diarrhea.

In a population sub-sample analyzed specifically for norovirus, it was found that infection of both norovirus and each of the GI and GII norovirus genogroups separately, showed an association with diarrhea, observing a prevalence of infection in diarrheal cases of 19.2%, with the GII genotype being the most frequently found. In this subpopulation, the mono infection by norovirus was associated with diarrhea in children younger than 6 months, in contrast to older ages. Furthermore, through logistic regression, a significant negative trend association was found between norovirus infection with vitamin A.

Taken together, these data will serve as a basis for future studies that allow a better understanding of the impact of enteropathogen infection on nutritional status and ambulatory diarrhea.

Keywords:

Ambulatory diarrhea, diarrheogenic *E. coli*, norovirus, inflammation, anemia, zinc deficiency, vitamin A deficiency, enteropathogens

1. INTRODUCCION

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) es una de las causas más comunes de mortalidad y morbilidad en los infantes y niños en países en vías de desarrollo (Kosek, Bern, & Guerrant, 2003). Se estima que anualmente se producen entre 1,7 a 4 billones de episodios diarreicos agudos (WHO, 2017). La EDA representa la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años, datos globales estiman que causa 8,6% de las muertes de niños en este grupo etáreo, siendo responsable anualmente de 0,509 millones de muertes (Figura 1) (Liu et al., 2016)

A nivel global, la tasa de mortalidad de la diarrea para los niños menores de 5 años en 2015 fue de 74,3 muertes por 100 000 niños. La mortalidad de la diarrea fue más alta en Sudáfrica Sahariana, y Sudeste de Asia. El número de muertes debido a la diarrea, entre 2005 a 2015, disminuyó en 34,3% en niños menores de 5 años. En la última década se observó una rápida reducción de la diarrea en el Sudeste de Asia y el área tropical y andina de América latina (Collaborators, 2017).

Uno de cada 10 niños muere debido a la diarrea, lo que se traduce a 526 000 niños muertos por año, 1400 niños por día, 60 niños por hora, de manera que un niño muere cada 60 segundos. En Bolivia se estima que entre el 5-10% de las muertes de niños son debidas a la diarrea (UNICEF, 2016).

La diarrea puede ser de diferente etiología causada por un amplio rango de patógenos, los cuales comprenden a bacterias, virus y parásitos (Farthing et al., 2013). En el estudio global multicéntrico de patógenos entéricos (GEMS), se encontró que los patógenos prevalentes asociados a la diarrea moderada-severa en el grupo etáreo de 0-11 meses comprenden a rotavirus, *Cryptosporidium*, Norovirus GII, ETEC-ST (solo ST o LT/ST) y *Shiguella* (Kotloff et al., 2013; Platts-Mills et al., 2015). Tanto este como otros estudios (Bhavnani, Goldstick, Cevallos, Trueba, & Eisenberg, 2012; Li et al., 2016; Paniagua et al., 2007; Zhang et al., 2016) han encontrado también que las coinfecciones entre

diferentes patógenos son comunes y que incluso pueden dar lugar a episodios de diarrea de mayor severidad, debido a que cada patógeno incrementaría la patogénesis en los individuos afectados (Shrivastava, Kumar, Mohakud, Suar, & Sahu, 2017).

Para la disminución de la EDA son necesarias estrategias de prevención tales como la introducción de nuevas vacunas, tratamiento con zinc, promoción de la lactancia materna, buena alimentación, etc. Asimismo las mejoras en la provisión y calidad del agua, saneamiento e higiene contribuyen a reducir la exposición a los patógenos entéricos y por lo tanto reducirían la incidencia de la enfermedad diarreica aguda (Baker et al., 2016).

El presente trabajo, mediante un estudio de cohorte prospectivo, tiene por objeto evaluar la relación entre la infección por enteropatógenos (virales y bacterianos), la inflamación y el estado nutricional con la enfermedad diarreica aguda, en niños menores a 12 meses de edad (N=403), pertenecientes a las redes de salud de dos hospitales de la ciudad del Alto.

2. ANTECEDENTES

2.1. Diarrea

La Enfermedad Diarreica Aguda (EDA) es una de las causas más comunes de mortalidad y morbilidad en los infantes y niños en países en vías de desarrollo (Kosek, Bern, & Guerrant, 2003) y representa la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años. Datos globales estiman que la EDA causa 8,6% de las muertes de niños en este grupo etáreo, siendo responsable anualmente de 0,509 millones de muertes (Figura 1) (Liu et al., 2016).

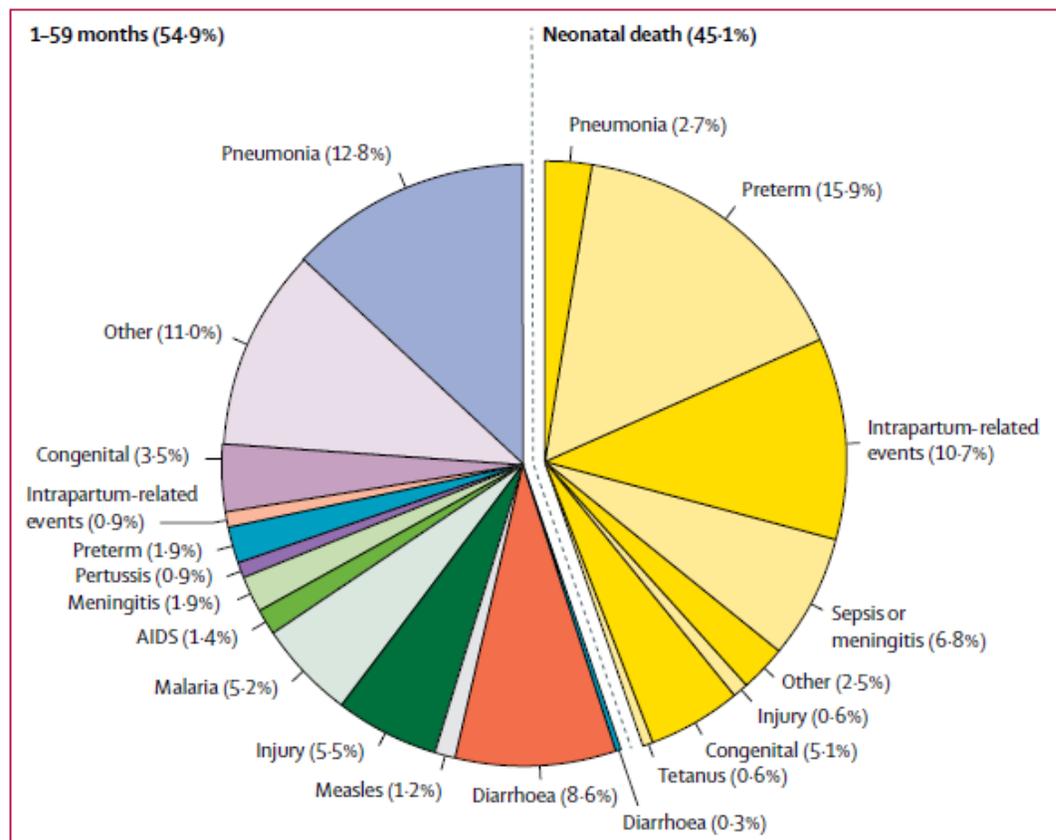


Figura 1. Causas globales de la muerte en niños en el 2015 (Liu, 2016).

La diarrea es mortal en las regiones más pobres del mundo, un estudio de UNICEF reporta un porcentaje de 10-15% de muertes en niños menores de 5 años. En Bolivia este porcentaje alcanza hasta 5-9% de muertes este grupo etáreo (Figura 2) (UNICEF, 2016).

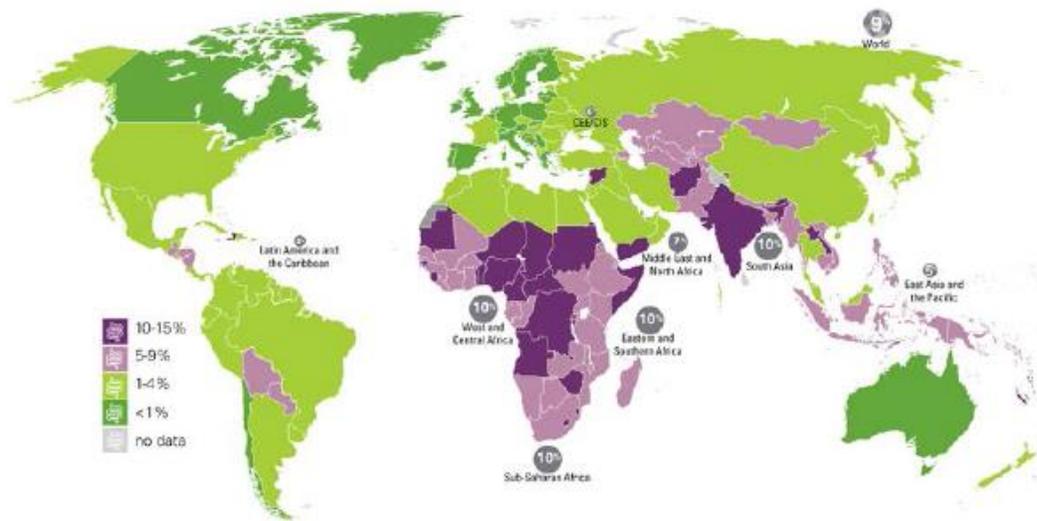


Figura 2. Porcentaje de muertes en niños menores de 5 años atribuidos a la diarrea,(UNICEF, 2016).

Un 72% de las muertes asociadas con la diarrea se da en los dos primeros años de vida. África y el sur de Asia son las regiones con mayor mortalidad y morbilidad por diarrea ambulatoria (Walker et al., 2013).

La diarrea ambulatoria es aquella que se presenta en la comunidad y que no requiere la hospitalización del individuo afectado.

Los casos de diarrea ambulatoria son mucho más frecuentes que los que requieren hospitalización. El estudio de Parashar y colaboradores estima que anualmente se presentan 1.287.405.000 episodios de diarrea en niños < a 5 años, de los cuales 123.580.000 corresponden a pacientes ambulatorios en contraste a 9.015.000 que son hospitalizados (Parashar, Hummelman, Bresee, Miller, & Glass, 2003).

Los episodios de diarrea que se presentan en la comunidad son también de importancia sustancial en la salud pública, ya que si son recurrentes pueden afectar al crecimiento y a la disminución del desarrollo cognitivo incrementando incluso el riesgo de mortalidad por causa de otras enfermedades como la neumonía (Black et al., 2008; Guerrant, DeBoer, Moore, Scharf, & Lima, 2013).

2.1.1. Definición

La diarrea se define según la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una alteración del movimiento intestinal que se caracteriza por un incremento del contenido de agua, volumen o frecuencia de las heces, concomitante con la disminución en su consistencia (suave o líquida) y un aumento en la frecuencia de evacuación mayor o igual a tres veces por día (WHO, 1995).

2.1.2. Clasificación

A nivel clínico la diarrea se clasifica en: diarrea inflamatoria y no inflamatoria, cuyas características se describen en la Tabla 1 (Navaneethan & Giannella, 2008).

Tabla 1. Características de la diarrea infecciosa inflamatoria y no inflamatoria (Navaneethan & Giannella, 2008).

| Características | Diarrea no Inflamatoria | Diarrea Inflamatoria |
|----------------------|--|---|
| Leucocitos fecales | Negativo | Positivo |
| Presentación clínica | Diarrea acuosa de gran volumen, sin sangre, pus o tenesmo. Puede presentar náuseas, vómitos, dolores, generalmente sin fiebre. | Diarrea sanguinolenta, mucoide de poco volumen, con tenesmo y dolores en el cuadrante izquierdo bajo, dolor abdominal, el cuadro puede ser febril y tóxico. |

| | | |
|---|--|--|
| Causas | Norovirus, rotavirus, <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Giardia lamblia</i> , ETEC, bacterias productoras de enterotoxina, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Clostridium perfringens</i> | <i>Shigella</i> spp., <i>Salmonella</i> spp., colitis amebiana, <i>Campylobacter</i> spp., EAEC, EHEC, EIEC, <i>Yersinia</i> spp., <i>Clostridium difficile</i> |
| Lugar involucrado | Intestino delgado | Colon |
| EAEC: <i>Escherichia coli</i> enteroagregativa, EHEC: <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica; EIEC: <i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva; ETEC: <i>Escherichia coli</i> enterotoxigenica | | |

2.1.2.1. Diarrea no inflamatoria

La diarrea infecciosa no inflamatoria es producida por patógenos que afectan el intestino delgado y se adhieren a la mucosa, afectando al proceso de absorción y secreción del enterocito, sin causar gran inflamación o destrucción de la mucosa. Los pacientes presentan pocos síntomas como ser: dolor abdominal, náusea o vómito, mayormente sin fiebre (McClarren, Lynch, & Nyayapati, 2011; Navaneethan & Giannella, 2008).

Los patógenos asociados a este tipo de diarrea liberan enterotoxinas que provocan que exista una mayor secreción a nivel del intestino, generalmente a través de tres mediadores: AMPc, GMPc o calcio intracelular, los cuales activan a las proteína quinasa, lo que lleva a una alteración en el transporte de electrolitos, dando lugar a la diarrea (Figura 3) (Navaneethan & Giannella, 2008).

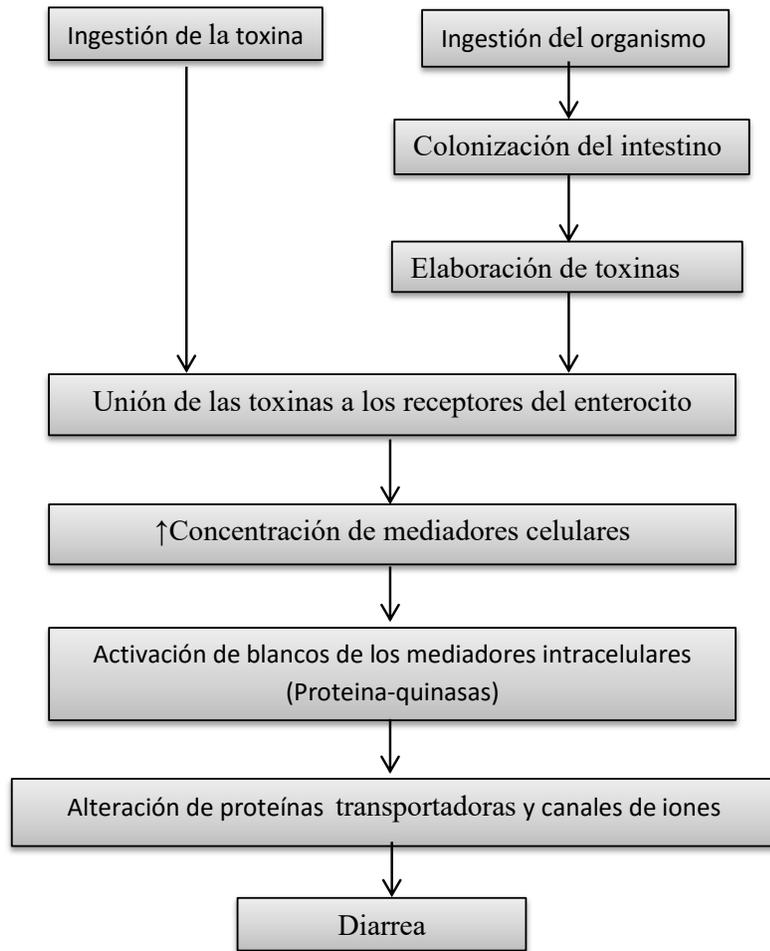


Figura 3. Mecanismo de la diarrea no inflamatoria (Navaneethan & Giannella, 2008).

2.1.2.2. Diarrea inflamatoria

La diarrea infecciosa inflamatoria se presenta en el intestino grueso, específicamente en el íleo distal y el colon, los patógenos producen toxinas nocivas o invaden el epitelio intestinal, generando una respuesta inflamatoria aguda y dando generalmente lugar a la presencia de moco, glóbulos rojos y leucocitos polimorfonucleares en las heces. En el caso de patógenos no invasivos (EHEC, EAEC, *C. difficile*), estos pueden causar una diarrea más acuosa con o sin sangre o moco y bajo grado de fiebre. En el caso de patógenos invasivos (*Shigella spp*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, *Yersinia spp.*, EIEC y *E. histolytica*), estos producen el síndrome inflamatorio diarreico cuya

característica es la presencia de diarrea con o sin disentería, dolor abdominal y fiebre (Navaneethan & Giannella, 2008).

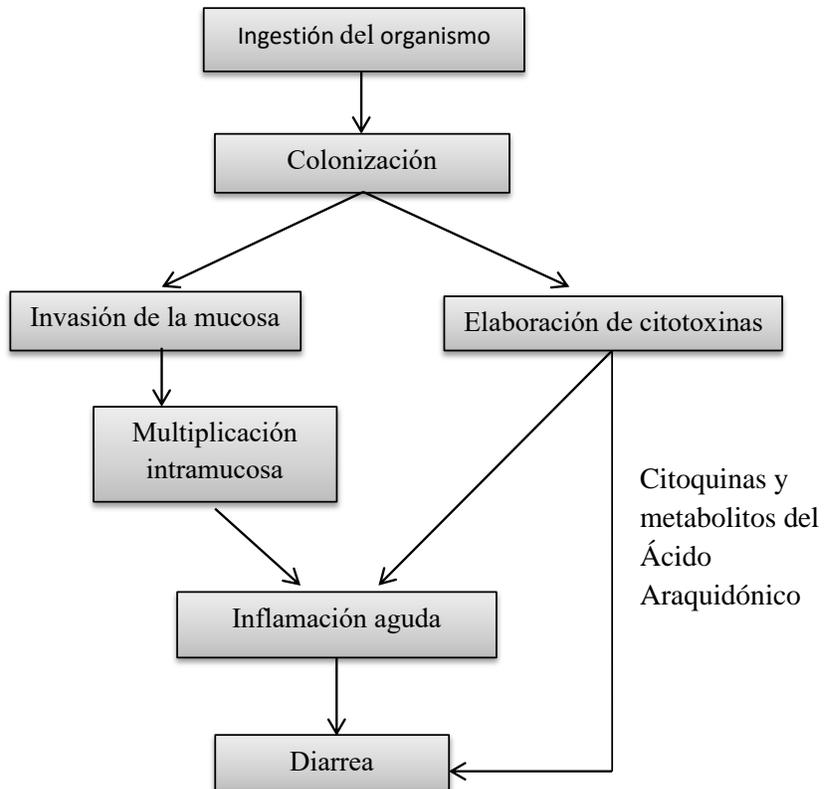


Figura 4. Mecanismo de la diarrea inflamatoria (Navaneethan & Giannella, 2008).

2.2. Etiología

La diarrea puede ser de diferente etiología con un amplio rango de patógenos, los cuales comprenden a bacterias, virus y parásitos (Tablas 1-2).

Tabla 2. Agentes causantes de la diarrea (Farthing et al., 2013).

| Bacteria | Virus | Parásitos |
|---------------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> diarreogenica | Rotavirus | <i>Cryptosporidium parvum</i> |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | Norovirus (calicivirus) | <i>Giardia intestinalis</i> |
| <i>Vibrio cholerae</i> O1 | Adenovirus (Serotipo | <i>Microsporida</i> |
| <i>V. cholerae</i> O139 | 40/41) | <i>Entamoeba histolytica</i> |
| Especies de <i>Shigella</i> | Astrovirus | <i>Isospora belli</i> |
| <i>V. parahaemolyticus</i> | Citomegalovirus | <i>Cyclospora cayetanensis</i> |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | | <i>Dientamoeba fragilis</i> |
| <i>C. coli</i> | | <i>Blastocystis hominis</i> |
| <i>C. upsaliensis</i> | | <i>Strongyloides stercoralis</i> |
| <i>Salmonellae</i> no tifoidal | | <i>Angiostrongylus</i> |
| <i>Clostridium difficile</i> | | <i>costaricensis</i> |
| <i>Yersinia enterocolitica</i> | | <i>Schistosoma mansoni</i> |
| <i>Y. pseudotuberculosis</i> | | <i>S. japonicum</i> |

La asociación de los patógenos con la diarrea varía según el tipo de diarrea, la edad, la estacionalidad y la región.

En un estudio prospectivo caso control del estudio global multicentro entérico (GEMS), realizado en centros de salud y hospitales centinela de siete regiones del mundo, en niños de 0 a 59 meses de edad, la diarrea moderada a severa se vio asociada principalmente a cuatro patógenos: rotavirus, *Cryptosporidium*, *Escherichia coli* que produce la enterotoxina estable (ETEC-ST), la cual puede estar sola o acompañada de la enterotoxina lábil (LT) y *Shigella*. En particular, ETEC-ST se asoció significativamente a la diarrea moderada-severa en 6 de 7 sitios de GEMS, durante el primer año de vida con una fracción atribuible de media de 3,1 (1,4-1,7).

Asimismo, se observó significancia de ETEC-ST en niños de 12 a 23 meses con una media de la fracción atribuible de 5,8 (2,7-9,4). En 4 de los 7 sitios, en niños de 24 a 59 meses, la media fue de 7,7 (4,9-9,2) (Kotloff et al., 2013).

Por otra parte, en un estudio a nivel comunitario, de cohorte prospectivo multicéntrico (8 países en desarrollo) realizado en niños de 0 a 24 meses, se encontró que en el primer

año de vida los patógenos asociados a la diarrea fueron: norovirus GII, rotavirus, *Campylobacter spp.*, astrovirus y *Cryptosporidium spp* (Platts-Mills et al., 2015).

En un estudio en Vietnam de cohorte prospectivo en niños menores a 12 meses de edad, se encontró que los patógenos más prevalentes en orden descendente fueron: rotavirus, norovirus, *Campylobacter*, *Salmonella* y *Shigella* (Anders et al., 2015).

En otro estudio de cohorte prospectivo en India en niños hasta los 3 años de edad, se encontró que el patógeno más frecuente fue rotavirus (18%) , seguido por *Giardia* (8%), *Aeromonas* (4%), *Cryptosporidium* (3%), *Shigella* (2%) y *Vibrio Cholerae* (1%) (Sarkar et al., 2016).

2.2.1. Enteropatógenos bacterianos: *Escherichia coli* diarreogénica (DEC)

Entre los patógenos bacterianos preponderantes en la diarrea ya sea en brotes epidémicos o en lugares endémicos, se encuentra la *Escherichia coli* diarreogénica (DEC) (Nataro & Kaper, 1998). La *E. coli* está distribuida ampliamente, ya que es el anaerobio facultativo que se encuentra en mayor cantidad en el intestino grueso. Aunque las cepas de *E. coli* viven en el colon como parte de la microflora intestinal, por sí mismas pueden causar la enfermedad en individuos sanos (Kaper, Nataro, & Mobley, 2004).

Se han descrito seis categorías de DEC: *E. coli enteropatogénica* (EPEC), *E. coli enterohemorrágica* (EHEC), *E. coli enterotoxigénica* (ETEC), *E. coli enteroagregativa* (EAEC), *E. coli enteroinvasiva* (EIEC) y la *E. coli* adherente difusa (DAEC) (Kaper et al., 2004; Nataro & Kaper, 1998).

En un estudio realizado en niños menores a 5 años hospitalizados por EDA en Bolivia, DEC se encontró en mayor proporción en muestras de niños con diarrea que en los niños sin diarrea, mostrando una diferencia significativa. El estudio muestra que las diarreas causadas por DEC, principalmente EAEC, ETEC y EPEC, constituyen una

causa importante en la hospitalización de niños menores a 5 años en Bolivia (Gonzales Siles, Joffre, et al., 2013).

2.2.1.1. ETEC (*Escherichia coli enterotoxigénica*)

ETEC es un patógeno que causa diarrea acuosa en niños en los países en desarrollo y en adultos produciendo la diarrea del viajero (Nataro & Kaper, 1998). ETEC se caracteriza por la presencia de enterotoxinas: lábil (LT) y estable (ST) y también por la presencia de factores de colonización (Kaper et al., 2004)

2.2.1.1.1. Patogénesis

ETEC se adhiere a los enterocitos y coloniza la mucosa intestinal por medio de los factores de colonización (Gomes et al., 2016). También produce las toxinas LT y/o ST, que son secretadas y causan diarrea debido al incremento del AMP cíclico y el GMP cíclico respectivamente, los cuales median la activación del regulador de conductancia transmembranal de fibrosis quística (CFTR) (Figura 5) (Croxen & Finlay, 2009).

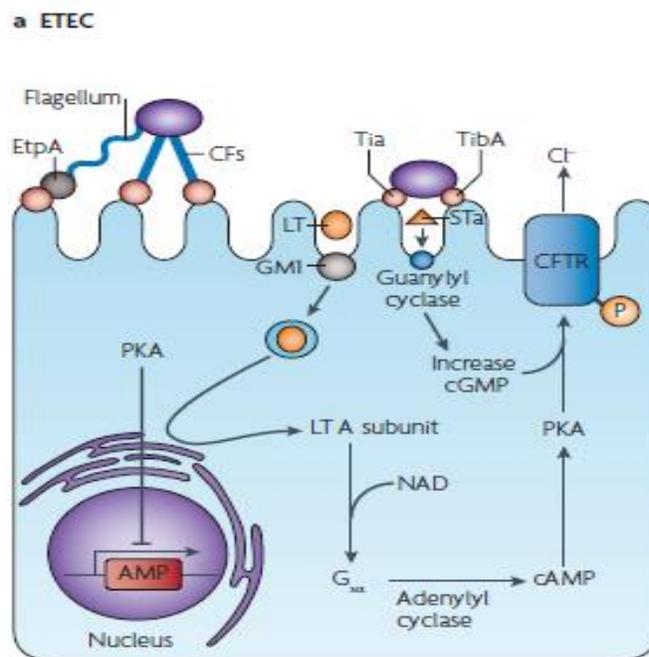


Figura 5. Mecanismo patogénico de *Escherichia coli enterotoxigénica* (ETEC) (Croxen & Finlay, 2009).

Existen cepas que pueden expresar solo LT o ST, o ambas toxinas (Kaper et al., 2004).

La enterotoxina lábil (LT) se relaciona a la enterotoxina del cólera en función y estructura, y ha sido encontrada mayormente en aislados de humanos (Kaper et al., 2004; Nataro & Kaper, 1998)

La enterotoxina estable (ST) es una toxina pequeña que contiene muchos residuos de cisteína, lo que le confiere estabilidad. Se presentan dos clases de toxinas: STa y STb. La toxina STa presenta dos variantes; la STp presente en el ganado porcino y STh presente en humanos. La toxina STb ha sido aislada de cerdos, aunque también se ha encontrado en aislados humanos (Kaper et al., 2004; Nataro & Kaper, 1998).

2.2.1.1.2. Epidemiología

En un estudio de cohorte prospectivo, realizado en niños desde el nacimiento hasta 2 años de edad se ha visto que en áreas endémicas, como Bangladesh, ETEC es el patógeno más frecuentemente aislado en los primeros 2 años de vida (Qadri et al., 2000).

Otro estudio similar en niños mexicanos menores de 5 años encontró que las infecciones por ETEC se dan a edades más tempranas. Se observó que a medida que la edad aumenta, la relación enfermedad/infección asintomática disminuye progresivamente. Así, en niños menores a un año de edad, el 31% de las infecciones por ETEC estuvieron asociadas con la enfermedad. Asimismo, en el estudio de cohorte prospectivo en los primeros 2 años de vida realizada en Nicaragua, donde se evaluó la incidencia de la infección por ETEC, se concluyó que el primer episodio de diarrea por ETEC es contraído en la mayoría de los casos hasta el primer año de edad (Paniagua et al., 1997). ETEC se ha encontrado tanto en muestras diarreicas como en no diarreicas. En un estudio en niños de 6 a 36 meses de edad en Guatemala, ETEC ha sido el patógeno bacteriano frecuentemente aislado tanto en heces de niños hospitalizados como en las muestras control. Las infecciones de cepas ETEC portadora de la toxina LT o en

combinación con ST, se presentaron en asociación con la diarrea con un OR de 2.68 (IC-95%:1.05–8.69, $p = 0.037$) (Torres et al., 2015).

Otro estudio realizado en Guinea-Bissau, en África se describe la historia natural de la infección por ETEC y la diarrea durante los primeros dos años de vida, donde la tasa de infección primaria incrementa sustancialmente después de los 3 o 6 meses de edad. Asimismo, este estudio sugiere que la patogenicidad de STh sería mayor que de STp (Steinsland et al., 2003). Por lo que, se podría esperar, que muchas de las cepas ST del genotipo STp producirían una infección asintomática (Torres et al., 2015).

En el estudio de cohorte prospectivo en los 2 primeros años de vida realizada en Nicaragua, se observó la prevalencia de LT-ST (16%) en muestras sintomáticas, mientras que en el grupo asintomático fue más frecuente la enterotoxina ST (8%) (Paniagua et al., 1997).

Böling y colaboradores (Bölin et al., 2006), estudiaron la prevalencia de la enterotoxina ST en sus variantes STh y STp, en lugares endémicos como Guatemala, Bangladesh y Egipto, observándose que en la población con diarrea en Guatemala y Egipto se observó tanto a STh, como STp, mientras que en Bangladesh la proporción de STp fue menor (8%).

En un estudio realizado en Bolivia, en niños menores de 5 años hospitalizados con diarrea aguda y sus respectivos controles, en un periodo de 4 años se observó similar prevalencia de ETEC-LT y ETEC STh en los niños con diarrea, mientras que la frecuencia de ETEC-LT fue mayor en el grupo control [OR= 1.7 (0.9-3.3)], lo que sugiere que las cepas ETEC LT podrían ser menos patógenas (Gonzales Siles, Sanchez, et al., 2013).

En otro estudio de caracterización molecular de cepas de ETEC aisladas de procesos diarreicos infecciosos en La Paz Bolivia, se encontró que la cepa más común durante los años 2002-2006 fue ETEC LT, seguida por ETEC LT y STh (Rodas et al., 2011).

En varios estudios se encontró que la estacionalidad de ETEC-ST es más común en los meses templados (mayo – agosto) decreciendo en invierno (Abu-Elyazeed et al., 1999; Qadri et al. 2000; Steinsland et al., 2003). Asimismo, en Nicaragua la infección por

EPEC mostró un pico estacional en los meses de lluvia (Torres et al., 2015). En Bolivia, la infección con EPEC fue asociada con la estación húmeda-lluviosa más que con la estación fría y seca (Gonzales Siles, Joffre, et al., 2013).

2.2.1.2. EPEC (*E. coli enteropatogénica*)

EPEC, es una causa importante de diarrea en infantes en los países en desarrollo (Nataro & Kaper, 1998). Este patotipo produce lesiones llamadas de *borrado y esfascelamiento* de las células del epitelio intestinal. La unión de la bacteria al epitelio intestinal borra las microvellosidades y debilita la actina de la célula hospedera, formando pedestales bajo el sitio de unión. Estas características están mediadas por genes que se encuentran en el locus de *esfascelamiento del enterocito* llamado (LEE), en una isla de patogenicidad cromosómica de 35 kb. La región LEE está altamente regulada y codifica al sistema de secreción tipo III (T3SS), por medio del cual se realiza la translocación de las proteínas bacterianas al citoplasma de la célula hospedera. Las cepas EPEC presentan proteínas de virulencia que son codificadas en la isla de patogenicidad (LEE) (Nataro & Kaper, 1998).

EPEC de acuerdo a la presencia o ausencia del plásmido de factor de adherencia (pEAF) se clasifica en típica y atípica (Croxen & Finlay, 2009).

2.2.1.2.1. Patogénesis

El modelo de patogénesis involucra inicialmente tres pasos: 1) la adherencia primaria a la célula del hospedero, que está dada por el pili de tipo IV, llamado pili formador de haz (BPF), que forma un patrón de adherencia localizada mediante la unión de las bacterias entre sí, 2) la transducción de señales, después de la adherencia de EPEC a las células epiteliales, que induce una variedad de vías de señales de transducción, 3) la adherencia íntima, mediada por la íntima, proteína codificada por el gen cromosomal denominado *eae*, la cual es necesaria para realizar el ataque de la bacteria a las células epiteliales del hospedero (Nataro & Kaper, 1998).

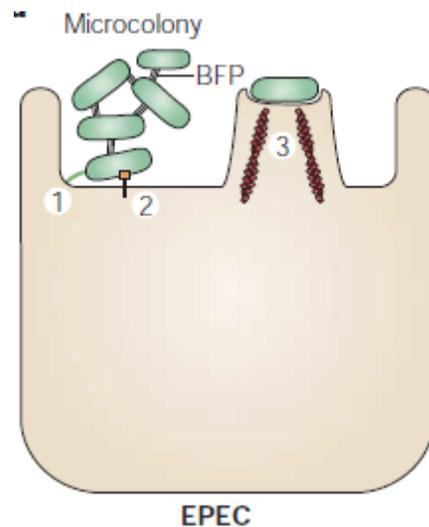


Figura 6. Mecanismo patogénico de EPEC(Kaper et al., 2004).

2.2.1.2.2. Epidemiología

En un estudio de muestreo al azar en provincias de Irán en niños menores de 10 años, se encontró que EPEC fue el patógeno predominante (44,9%), presentándose en asociación significativa con la diarrea ($p < 0,05$). Las cepas de EPEC típicas fueron más prevalentes en los casos con diarrea (11,8%) ($p < 0,05$) en contraste a las EPEC atípicas (9,3%) ($p < 0,05$) (Alikhani, Mirsalehian, & Aslani, 2006).

En un estudio de corte transversal en niños hasta los 5 años con diarrea, atendidos en un hospital pediátrico del Cairo, se encontró un 5,2% de EPEC. Agrupando a los niños por edad, se encontró el mayor porcentaje de EPEC (18,7%) en niños de 2 a 3 años, seguido por los niños menores a 6 meses de edad (7,5%), encontrándose asociación significativa con la diarrea en cada uno de los grupos analizados ($p < 0,05$). Asimismo, se observó que EPEC está presente en todas las estaciones del año, excepto en invierno (Behiry, Abada, Ahmed, & Labeeb, 2011).

Por otra parte, en un estudio de cohorte prospectivo de vigilancia pasiva de la diarrea en niños menores a 2 años de edad en Lima-Perú, pertenecientes a comunidades de bajo status socioeconómico, se encontró mediante qRCP que la carga de EPEC fue

significativamente más alta en los niños con diarrea que en los controles asintomáticos (Barletta et al., 2011).

En otro estudio en niños menores de 5 años, hospitalizados por diarrea en Irán, se encontró que el patotipo predominante de DEC fue EPEC con un 21,5% (Moshtagian, Alipour, & Yahyapour, 2016).

En un estudio de cohorte prospectivo en niños de 6 a 12 meses de edad, que evaluó la prevalencia de DEC en las comunidades rurales de Perú, se encontró a EPEC en un 14,2% siendo significativamente más frecuente en muestras diarreicas que los controles asintomáticos ($p < 0,01$) (Acosta et al., 2016).

En un estudio realizado en Bolivia, en niños menores de 5 años hospitalizados con diarrea aguda y sus respectivos controles, en un periodo de 4 años se encontró a EPEC con un 5,8% de prevalencia mostrando asociación significativa con la diarrea ($p = 0,017$). EPEC al igual que ETEC fue más frecuentemente encontrada en la época de lluvias ($p = 0,05$) (Gonzales Siles, Joffre, et al., 2013).

Asimismo, otro estudio en Bolivia en niños con diarrea entre los periodos de 2007 y 2008 mostro una prevalencia de EPEC de 6,6% con asociación significativa con la diarrea aguda ($p = 0,005$) (Joffré, 2010).

2.2.1.3. EAEC (*E. coli enteroagregativa*)

EAEC se considerado un patógeno emergente, que también causa la diarrea del viajero en países en vías de desarrollo. La diarrea producida por EAEC es acuosa y puede estar acompañada por moco o sangre (Nataro & Kaper, 1998).

2.2.1.3.1 Patogénesis

La infección por EAEC se inicia con la adherencia a la mucosa intestinal, por medio de los factores de colonización AAF/I y AAF/II que facilitan la colonización inicial. Esta etapa se caracteriza por la producción incrementada de moco, formando una capa delgada (biofilm) incrustada con el patógeno. Esto provoca que la colonización persista y que por lo tanto exista una mala absorción de nutrientes. Asimismo, EAEC elabora citotoxinas que dañan las células intestinales (Fig. 6) (Nataro & Kaper, 1998).

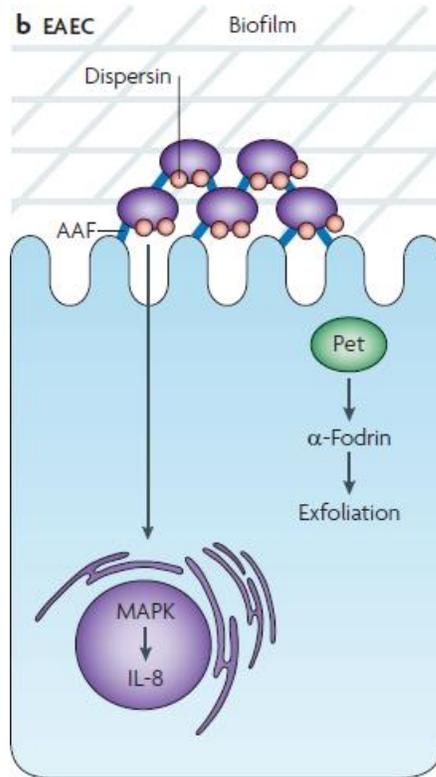


Figura 7. Mecanismo patogénico de EAEC (Croxen & Finlay, 2009).

2.2.1.3.2 Epidemiología

EAEC es endémico en muchos países. En un estudio de meta-análisis se encontró que esta bacteria está asociada a la enfermedad diarreica aguda en niños de diferentes poblaciones, tanto de los países desarrollados como en vías de desarrollo (Huang et al., 2006).

En el estudio longitudinal prospectivo realizado por Acosta y otros en el Perú, se encontró que EAEC es el patógeno más frecuente (20,4%) en la población, tanto en niños sintomáticos y asintomáticos encontrándose además mayormente en los niños que presentan deficiencia de crecimiento (Acosta et al., 2016).

Asimismo, en el estudio longitudinal prospectivo (MAL-ED), en niños menores a dos años de vida, se encontró que las infecciones asintomáticas de EAEC, fueron frecuentes a edades temprana y estuvieron también asociados con la disminución del crecimiento (Rogawski et al., 2017).

En el estudio de Bolivia de González y otros, en niños menores de 5 años con diarrea se encontró que el patotipo de DEC más frecuente fue EAEC con un 11,2%. EAEC se encontró presente tanto en la época seca y fría como en la húmeda (Gonzales Siles, Joffre, et al., 2013).

2.2.1.4 Enteropatógenos virales: norovirus

Norovirus es un calicivirus humano que forma parte de la familia Caliciviridae y representa una causa importante de gastroenteritis aguda tanto en hospitales y centros de salud como a nivel comunitario (Robilotti, Deresinski, & Pinsky, 2015).

2.2.1.4.1 Organización molecular de norovirus

El genoma de norovirus es una molécula de RNA simple cadena (RNAss) no segmentada con sentido positivo, de tamaño entre 7,3 a 7,5 kb. El genoma se halla organizado en tres ORFs: ORF1 codifica proteínas no estructurales, mientras que ORF2 Y ORF3 codifican proteínas estructurales, dando lugar a la proteína estructural mayor VP1 y la proteína estructural menor VP2 respectivamente (Fig. 8) (Thorne & Goodfellow, 2014).

El norovirus posee una cápside viral que es icosaédrica constituida por 90 dímeros de VP1 con un dominio S (shell) y otro denominado P (protruding), el dominio P es responsable de la unión con el grupo de antígenos histo-sanguíneos (HBGAs), los cuales actúan como receptores o co-receptores del virus en las células huésped (Donaldson, Lindesmith, LoBue, & Baric, 2010; Thorne & Goodfellow, 2014).

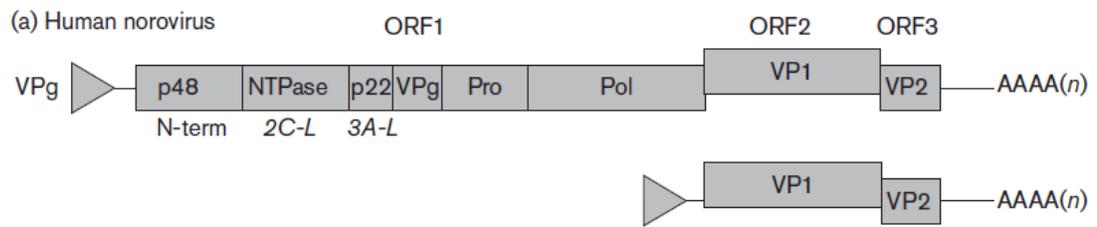


Figura 8. Organización molecular del norovirus. a) el genoma de norovirus está unido covalentemente a VPg (NS5). Presenta una cola poliA y codifica a tres ORFs (Thorne & Goodfellow, 2014).

2.2.1.4.2 Transmisión

El norovirus puede ser transmitido vía oral-fecal por diferentes vías, como la transmisión persona a persona, por consumo de comida y agua contaminada y por aerosoles. La transmisión se ve facilitada por factores tales como: la excreción prolongada del virus luego de que los síntomas de la diarrea desaparecen, la excreción fecal durante las infecciones de norovirus asintomático y la persistencia de norovirus en las superficies en el agua y alimentos (Mathijs et al., 2012).

Los norovirus humanos son altamente transmisibles, siendo la ruta más eficiente la de persona a persona, sobre todo en comunidades semi-cerradas (hospitales, cruceros, guarderías y centros militares), debido a su baja dosis de infección y su alta estabilidad en el medio ambiente (da Silva Poló et al., 2016).

En los programas de vigilancia se ha obtenido información de cómo diferentes cepas de norovirus humanos dan lugar a modos de transmisión y brotes en diferentes sitios. Así, la prevalencia de las infecciones de genotipos varía entre las poblaciones humanas y las rutas de transmisión. Por ejemplo, el genotipo GII.4 está asociado a la transmisión por contacto persona a persona, mientras que los genotipos diferentes a GII.4 (GI.3, GI.6, GI.7, GII.3, GII.6 y GII.12) se han asociado más con la transmisión por alimentos. El genogrupo GI se halla más asociado a la transmisión por agua, se cree que este genogrupo tendría mayor estabilidad en el agua que el GII. Asimismo, las cepas circulantes pueden adaptarse a diferentes factores del hospedero, como ser estado de salud, edad, e inmunidad. Todos estos factores pueden influir en la evolución de los

genotipos de norovirus circulantes en los entornos comunitarios (Figura 9) (Graaf, van Beek, & Koopmans, 2016).

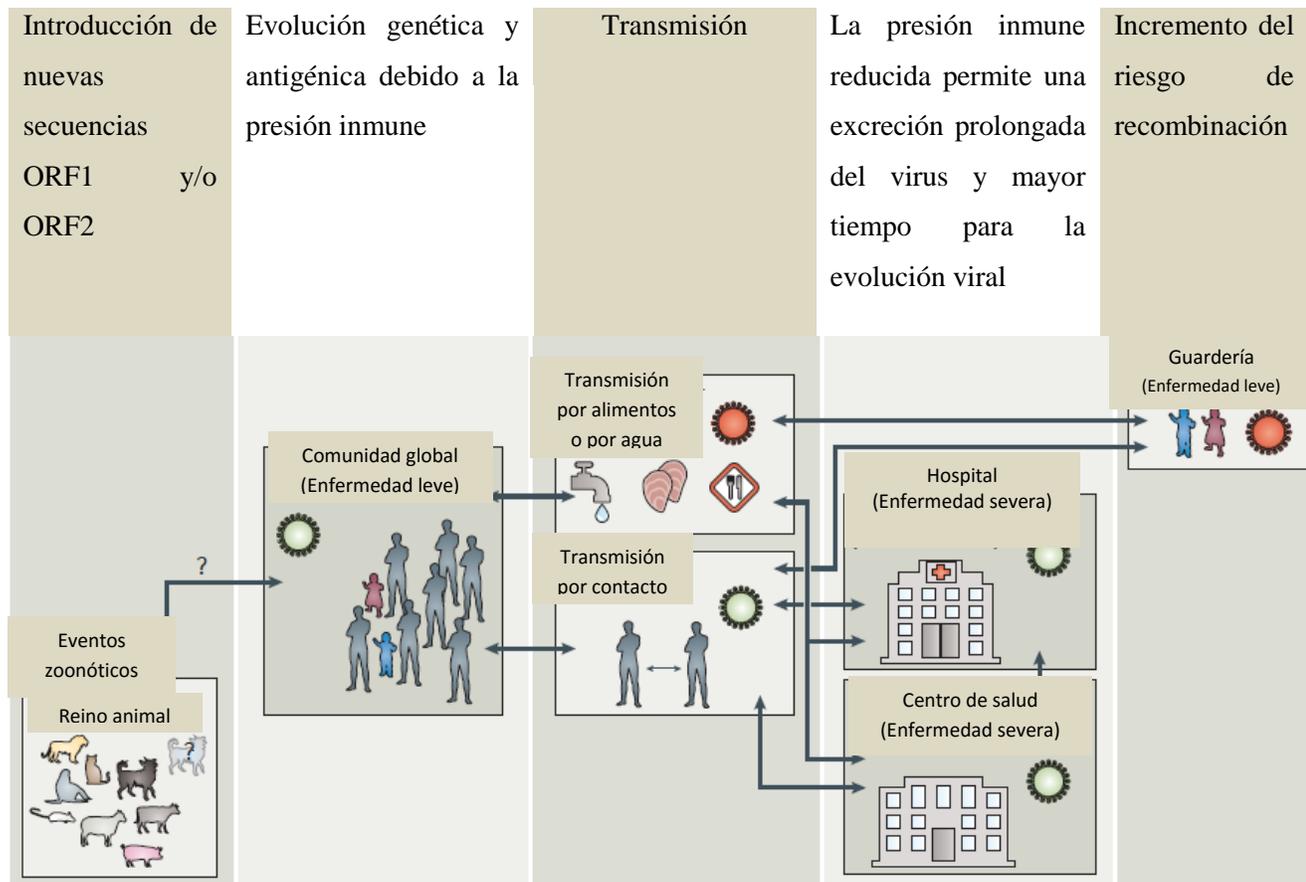


Figura 9. Epidemiología del norovirus en la comunidad, adaptado de Graaf et al., 2016 (Graaf et al., 2016).

2.2.1.4.3 Patogénesis

Los norovirus interactúan con la superficie de la célula a través de los receptores que son los antígenos HBGAs, que intervienen en la entrada a la célula (Thorne, 2014). Además, para la entrada y patogénesis del virus, participan otros factores como el

tropismo de la cepa al tejido y a la célula, la respuesta inmune del huésped a la infección y la microbiota bacteriana del hospedero (Graaf et al., 2016).

Un estudio realizado en adultos de entre 42-100 años de edad en Suecia, sugiere que las diferentes cepas de norovirus pueden causar infecciones con diferente nivel de severidad de la enfermedad, por lo que no todos los genotipos son similares en patogenicidad (Friesema et al., 2009).

Los HBGAs son glicanos que se expresan en la superficie de las células y se hallan presentes en la saliva y otras secreciones del cuerpo. Son determinantes del grupo de sangre ABO y el sistema del grupo de sangre Lewis. La unión específica del VP1 de norovirus a los diferentes HBGAs difiere entre genotipos y genogrupos, lo cual da lugar a una diferencia entre la susceptibilidad de los humanos a cepas específicas de norovirus. Las diferencias en las uniones de los carbohidratos entre norovirus animales y humanos tienen un rol en la especificidad del rango de especie (Graaf et al., 2016).

2.2.1.4.4 Respuesta inmune del huésped

Se ha visto que el sistema inmune innato tiene un rol importante en la eliminación de la infección. En un estudio con norovirus murino MNV-1, se encontró que el interferón media la respuesta inmune innata y es importante para la reducción tanto de la infección como de la patogenicidad (Karst, 2003). Así, la respuesta inmune del hospedero reduce la carga viral, la duración de la excreción y la severidad de la enfermedad (Graaf et al., 2016).

2.2.1.4.5 Rol de las bacterias

Se han identificado tres mecanismos, por los cuales las bacterias de la microbiota del huésped podrían intervenir en las infecciones por norovirus (Graaf et al., 2016):

- a) Para proveer HBGAs adicionales para la unión con el virus. Varias especies de bacterias de la microbiota intestinal son capaces de expresar HBGAs, incluyendo *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* y *Helicobacter pylori*.
- b) Por influencia en la expresión de los HBGAs en el intestino del hospedero.
- c) Por modulación de la inmunidad en el hospedero.

2.2.1.4.6 Síntomas clínicos

El periodo de incubación del norovirus es corto, tiene una duración de 1-2 días, entre los síntomas que se presentan se observan frecuentemente vómitos, fiebre, diarrea, náuseas, dolor abdominal, dolor de cabeza, resfriado y mialgia. Todos estos síntomas son limitados y de corta duración (da Silva Poló et al., 2016).

2.2.1.4.7 Epidemiología

Un estudio de revisión sistemática y meta análisis muestra que el norovirus es un patógeno muy importante de la EDA en todo el mundo, siendo el agente etiológico más común de la enfermedad diarreica en todos los grupos de edad y la segunda causa de EDA en niños menores a 5 años (Ahmed et al., 2014).

Asimismo en otro estudio de revisión sistemática global de los casos de diarrea por norovirus en niños menores a 5 años, tanto hospitalizados, de atención externa como provenientes de la comunidad, se observó que en general cerca de un 70% de los casos se presenta en el grupo de entre 6 a 23 meses. Específicamente, los porcentajes encontrados fueron de un 13%, 33% y 36% en niños de 0-5 meses, 6-11 meses y de 12-23 meses respectivamente. Asimismo, se encontró que la infección por norovirus se presenta más tempranamente en países de bajo ingreso y en pacientes hospitalizados (Shioda, Kambhampati, Hall, & Lopman, 2015).

En el estudio de MAL-ED del 2016 se ha encontrado una variada prevalencia (1,9% a 31,1%) de norovirus en los 8 lugares de estudio (Bangladesh, Brasil, India, Nepal, Perú, Pakistán, Sud-África y Tanzania). Asimismo, la incidencia de norovirus encontrada fue de 3 a 18 episodios por 100 niños por mes (Rouhani et al., 2016).

2.2.1.4.8 Norovirus en América Latina.

En un estudio de revisión sistemática en niños menores de 5 años, para determinar la prevalencia de norovirus en América latina, se encontró que la prevalencia del virus en la gastroenteritis aguda está en un rango de 2 -36%. En general, se estima que el norovirus circula en la comunidad entre 7-23% con un promedio de 15% (IC 95%: 13-

18), en pacientes externos entre 7-24% con un promedio de 14% (IC 95%: 10-19) y en el hospital entre 2-36% con un promedio de 16% (IC 95%: 12-21). La incidencia total por norovirus fue de 17 a 23 casos por 100 niños por año (da Silva Poló et al., 2016).

En un estudio realizado en Cochabamba Bolivia, en niños hospitalizados de 5-24 meses con gastroenteritis aguda, se describe la prevalencia de norovirus y rotavirus, luego de 2 años transcurridos desde la vacunación de rotavirus. Se encontró que la prevalencia de norovirus fue de 34,3% y 18,3% en casos con diarrea y sin diarrea respectivamente, mientras que rotavirus en un 18,9% y 4,2% en casos con diarrea y sin diarrea, respectivamente. El genogrupo prevalente fue GII (97,8%) y el genotipo más común GII.4 (71,4%), siendo este último más prevalente en casos sintomáticos que asintomáticos (McAtee et al., 2016).

La prevalencia media de la infección por norovirus en casos de diarrea antes y después de la introducción de la vacuna de rotavirus, fue de 15% (I.C. 95%: 12-19) y 16% (I.C. 95%: 12-22) respectivamente. Y, en el caso de norovirus asintomático de 8% (I.C. 95%: 3-15) y de 7% (I.C. 95%: 1-17) respectivamente (O’Ryan, Riera-Montes, & Lopman, 2017).

2.2.1.4.9 Genogrupos

Un estudio comunitario en niños mexicanos, reporta a GII como el genogrupo de norovirus predominante (75 a 100%), con predominancia de GII.4, seguida de GII.3 (García, DuPont, Long, Santos, & Ko, 2006; Patel et al., 2008). Asimismo, en un estudio longitudinal realizado en 8 países (MAL-ED) durante los primeros 2 años de vida de los niños, se encontró una alta prevalencia de norovirus del genogrupo GII en Bangladesh, Brasil, Pakistán, Perú, Sud África, Tanzania, Nepal e India (Rouhani et al., 2016).

2.2.1.5 Rotavirus

El rotavirus es considerado como la mayor causa de la diarrea en niños menores de 5 años en todo el mundo.

El rotavirus pertenece a la familia Reoviridae y es un virus de RNA doble cadena (RNAs), presenta tres cápsides concéntricas alrededor de un genoma de 11 segmentos, que codifican por una parte a seis proteínas estructurales (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6 y VP7), cuya función determina la especificidad del hospedero, la entrada a la célula y las funciones enzimáticas necesarias para la producción de transcritos virales, conteniendo epítopes virales que generan la respuesta inmune. Por otra parte, siete proteínas no estructurales (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5 y NSP6) están relacionadas con la replicación del genoma y con el antagonismo a la respuesta inmune innata (Crawford et al., 2017).

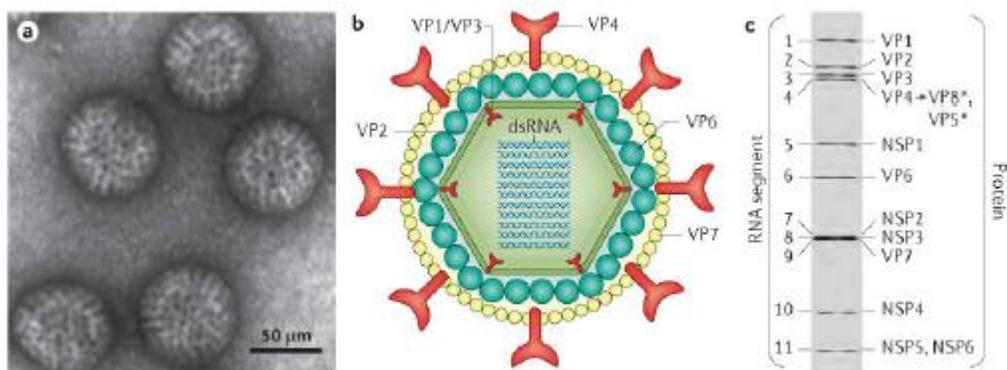


Figura 10. Estructura del Rotavirus (Crawford et al., 2017).

2.2.1.5.1 Epidemiología

Los rotavirus son ubicuos e infectan a nivel global a los niños menores de 5 años. Aunque las infecciones por rotavirus en niños hospitalizados son similares en el mundo, la mayoría de los casos fatales (> 90%) se presentan en países de bajo ingreso.

La diarrea causada por rotavirus es en general de mayor severidad y requiere hospitalización. La proporción de los episodios de diarrea es más baja en pacientes en la comunidad que necesitan solo cuidados en la casa (5-10%), en relación a los pacientes que requieren cuidados externos (15-20%) o cuidados hospitalarios (30-50%). Al introducir la vacuna para rotavirus se ha observado una reducción de esta enfermedad en

numerosos países, incluido Bolivia (Inchauste et al., 2017; Parashar, Hummelman, Bresee, Miller, & Glass, 2003).

2.3 Factores asociados con la enfermedad diarreica aguda

La enfermedad diarreica puede también estar asociada con variables sociodemográficas y socioeconómicas, de medio ambiente y de comportamiento (Budhathoki, Bhattachan, Yadav, Upadhyaya, & Pokharel, 2016).

2.3.1 Factores sociodemográficos y socioeconómicos

Varias son las características sociodemográficas que pueden influir como factores determinantes en la ocurrencia de la diarrea, como la edad del niño y de la madre, el nivel de educación de esta última, condiciones de saneamiento y agua, prácticas de higiene, tipo de alimentación, etc. (Aluisio et al., 2015; Mohammed & Tamiru, 2014).

Muchos estudios han establecido que la prevalencia de la diarrea es mayor en niños de 6-11 meses de edad, presentándose más frecuentemente en el primer año y disminuyendo en el tercer y cuarto año de vida. Un mayor número de casos de diarrea se ha observado en niños del sexo masculino que el femenino (Budhathoki et al., 2016; George et al., 2014; Melo et al., 2008).

Así también, se ha reportado que la educación y la edad materna podrían ser factores protectores contra la diarrea, mientras que el sexo masculino, hacinamiento, el no realizar tratamiento al agua y la carencia de baño representarían factores de riesgo (Anders et al., 2015).

La transmisión de la diarrea se da también a través del agua y alimentos contaminados. Dentro los factores de alto riesgo se considera a la distancia a las fuentes de agua accesibles, el almacenamiento insuficiente de agua potable, el uso de fuentes de agua no seguras (tales como ríos, pozos, represa, lagos, corrientes) (Baker et al., 2013; George et al., 2014; Sinharoy et al., 2016).

En cuanto al nivel de saneamiento, este juega un papel clave en la disminución de la morbilidad de la enfermedad diarreica. Algunos factores incrementan el riesgo de adquirir la diarrea, como la disposición inapropiada de las heces y basura, letrinas

compartidas, la no existencia de letrinas o acceso a baños no higiénicos, viviendas sin sistemas de drenajes, etc. (Aluisio et al., 2015; Hassan et al., 2014).

Entre las prácticas de higiene, se ha observado que el no lavarse las manos después de defecar, antes de preparar los alimentos o en el momento de dar de lactar, así como la presencia de animales dentro de la casa se asocian con el incremento del riesgo de morbilidad por diarrea. (Aluisio et al., 2015; K. Baker et al., 2014; Hassan et al., 2014).

Finalmente, dentro de los factores socioeconómicos, se ha observado que la calidad de las viviendas, condiciones de hacinamiento e ingresos bajos presentan generalmente una relación significativa con la diarrea (Baker et al., 2016).

2.4. Micronutrientes y la enfermedad diarreica

Los micronutrientes (hierro, zinc, vitamina A, calcio, vitamina D y ácido fólico) incluyen a vitaminas y minerales y son elementos esenciales para el desarrollo y funcionamiento del organismo. La deficiencia de los mismos afecta al sistema inmune, incrementando la susceptibilidad a la infección y por ende -desde edades tempranas- a la infección por enteropatógenos causantes de diarrea. Asimismo, la deficiencia continua o prolongada de micronutrientes incrementa el riesgo de desarrollar una enfermedad severa.

2.5. Deficiencia de Hierro

El hierro es esencial tanto para el hospedero como para el patógeno bacteriano, como cofactor o grupo prostético esencial en enzimas y proteínas, las cuales están involucradas en varias funciones celulares básicas y en las vías metabólicas (Schaible & H E Kaufmann, 2005). Entre los procesos biológicos claves esta la oxigenación de órganos y tejidos, a través de los eritrocitos, por medio de la hemoglobina, que tienen como componente al hierro (Burke, Leon, & Suchdev, 2014).

2.5.1. Metabolismo del hierro

La deficiencia de hierro que se traduce en la disminución del hierro corporal del organismo es una de las carencias nutricionales más comunes a nivel global. Afecta sobre todo a amplias poblaciones de niños en los países en desarrollo causando la anemia ferropénica, que es la enfermedad hematológica más frecuente en la infancia.

El hierro está disponible en las células cuando este está unido a proteínas como la transferrina, ferritina y lactoferrina o cuando está en complejo con el grupo hem con las hemoproteínas. El hierro es absorbido en el intestino, como hierro tipo “no hem” siendo importado por un transportador de metal divalente 1 (DMT1). El hierro ferroso es reducido a hierro férrico y es exportado por la ferroportina. El traslado del hierro desde la membrana basolateral del enterocito esta facilitada por la permeasa denominada ferroportina. La proteína hepcidina se une a la ferroportina para prevenir la exportación de hierro. Así, el hierro es almacenado intracelularmente como ferritina. Por otra parte, en la circulación la transferrina unida al hierro es importada con la ayuda del receptor de transferrina al hígado, el corazón y otras áreas de depósito, donde es almacenado junto con la ferritina. El hígado produce la hepcidina, y coadyuva en la regulación del metabolismo del hierro inhibiendo la exportación de hierro. En la medula ósea, el hierro es incorporado en la hemoglobina dentro de los eritrocitos. Los macrófagos reciclan el hierro de los eritrocitos, una gran parte en el bazo. No hay mecanismo para la excreción de hierro por los riñones o el hígado, aunque pequeñas cantidades se pierden por las heces. La homeostasis del hierro es rigurosamente regulada. Después de ser absorbido, el hierro se almacena con la ferritina, que guarda el hierro en forma no reactiva en las células, o en la transferrina, la cual también almacena el hierro en su estado no reactivo, pero lo mantiene en circulación acuosa para que pueda ser entregado a las células (Burke et al., 2014).

2.5.2. Medición del hierro

El hierro se puede medir de diferentes formas (Tabla 3), teniendo cada ensayo ventajas y desventajas.

Tabla 3. Indicadores de hierro (Burke et al., 2014).

| Biomarcador | Ventajas | Limitaciones | Rango normal |
|--------------------------|--|--|--------------------------|
| Hemoglobina | Fácil y económico | No es sensible ni específico para el hierro | Niños 6-24 m: <11,0 g/dL |
| Hematocrito | Fácil de medir | No proporciona información adicional | Niños 6-24 m: < 32% |
| Ferritina en suero | Indicador sensible de la deficiencia de hierro | Aumenta con la respuesta de fase aguda | Niños 6-24 m: <12,0 ug/L |
| Receptor de transferrina | Menos sensible a la inflamación que la ferritina. Útil en poblaciones con altos niveles de infección | No es muy sensible. Sus niveles cambian solo muy tarde en la deficiencia de hierro | Niños <24 m: >20,0 mg/L |

2.5.3 Hierro e infección bacteriana

El hierro es un importante factor de crecimiento para las bacterias patógenas, donde es requerido en varios procesos metabólicos que son críticos para la replicación bacteriana, incluyendo el transporte de electrones, la glicólisis, la síntesis de DNA y la defensa contra el daño oxidativo. Los sistemas especializados de toma de hierro permiten a los patógenos competir por este elemento con las comunidades bacterianas mixtas. Los sistemas de adquisición de hierro en los microorganismos patógenos constan de diferentes moléculas, cuya función está altamente interrelacionada. Las moléculas de unión al hierro -los sideróforos-, incluyen las enterobactinas férricas en bacterias Gram (-), las micobactinas y las exoquelina en micobacterias (Schaible & H E Kaufmann, 2005).

La subsecuente toma de hierro unido a los ligandos depende de los receptores de sideróforos y de los transportadores tipos porina dependientes de ATP en la membrana externa. Los sideróforos se clasifican en 3 grupos: 1) los anillos fenólicos con grupos de

ácido hidroxi- y di-hidroxibenzoico para la quelación. 2) las estructuras hidroxamato con grupos carboxilo y amino hidroxilo y 3) una combinación de ambos. En las bacterias Gram (-) el receptor para la enterobactina férrica FepA localizado en la membrana externa es el que transfiere el hierro a las proteínas periplásmicas FepB. El transporte por la membrana se realiza por una permeasa dependiente de ATP. En *Escherichia coli*, se tienen además 2 sistemas adicionales de toma de hierro (Schaible & H E Kaufmann, 2005).

2.6. Zinc y Diarrea

El zinc es uno de los más importantes elementos nutricionales, representa el segundo metal traza más abundante del cuerpo humano luego del hierro. El zinc es un componente estructural de numerosas proteínas, participa en más de 300 funciones biológicas, entre otros en los procesos de síntesis de DNA y RNA, de proliferación y diferenciación celular, de las estructuras celulares, la estabilización de las membranas y está asociado a múltiples sistemas incluido el gastrointestinal. El zinc es requerido en la división celular, la diferenciación y el crecimiento. Entre los órganos que son más sensibles a la deficiencia del zinc, están el sistema inmune y el intestinal, justamente porque se encuentran en constante división celular (Roohani, Hurrell, Kelishadi, & Schulin, 2013; Strand & Mathisen, 2009).

El contenido total de zinc en el cuerpo humano asciende a 2-4 g, con una concentración en el plasma de 12–16 μm . La concentración de zinc en el plasma si bien es baja, es rápidamente intercambiable y móvil. Dado que a diferencia del hierro, el organismo no cuenta con un sistema de almacenamiento de zinc, la ingesta diaria suficiente de zinc, es necesario para mantener un estado estable. Las concentraciones más altas de zinc se encuentran en los músculos, huesos, piel e hígado (Gammoh & Rink, 2017).

Los niños constituyen un grupo de riesgo para la deficiencia de zinc debido a su alta tasa de crecimiento (Fischer Walker & Black, 2007). Este es importante para el funcionamiento de las metalo-enzimas, los polirribosomas, la membrana celular y la función celular (Bajait & Thawani, 2011; Gibson, 2007). Según la OMS (WHO, 2002)

la deficiencia de zinc representa la quinta causa de mortalidad y morbilidad en países en desarrollo. Se estima que afecta a un tercio de la población y representa aproximadamente el 10% de las enfermedades diarreicas (Sandstead, 1991).

La deficiencia de zinc se incrementa por la diarrea aguda como resultado de la pérdida de electrolitos. Asimismo, la deficiencia de zinc puede incrementar la susceptibilidad a la diarrea (Lukacik, L Thomas, & V Aranda, 2008). Se considera que entre los mecanismos de acción del zinc, está la inhibición de la secreción de fluidos dependiente de cloro inducida por AMP-c, a través de la inhibición específica de los canales basolaterales de potasio. El zinc, por lo tanto mejora la absorción de agua y electrolitos y regeneración del epitelio intestinal. Asimismo, incrementa los niveles de las enzimas del borde cepillado de los enterocitos y la respuesta inmune, permitiendo una mejor eliminación de los patógenos (Bajait & Thawani, 2011). Así, el zinc juega un rol importante en la modulación de la resistencia del hospedero a agentes infecciosos y reduce el riesgo, la severidad y la duración de las enfermedades diarreicas. De esta manera, el zinc tiene una acción positiva contra la diarrea aguda donde intervendría en varios posibles mecanismos: 1) regulación del transporte del fluido intestinal y la integridad de la mucosa, 2) rol en la inmunidad, al modificar la expresión de los genes que codifican varias enzimas zinc-dependientes, como las metaloproteasas, citoquinas y uroguanilina, 3) modulación del estrés oxidativo contrarrestando su pérdida durante la diarrea (Berni Canani, Buccigrossi, & Passariello, 2011).

Se ha comprobado que el aporte de suplementos de zinc reduce la duración y la gravedad de los episodios de diarrea y la probabilidad de recurrencia de las infecciones durante 2–3 meses (Bhutta et al., 2000).

2.6.1. Metabolismo del zinc

El zinc se libera en el intestino durante la digestión de los alimentos, luego se une a ligandos endógenos secretados previo a su transporte en los enterocitos del duodeno y el jejunio. El sistema portal de la circulación lleva el zinc absorbido al hígado, y lo libera a

la circulación sistémica para distribuirlo a otros tejidos. La mayor cantidad de zinc en circulación se une a la albúmina (Abbaspour, 2013).

En la homeostasis del zinc, existen 2 tipos de transportadores con un rol opuesto, estos son los transportadores de zinc (ZnTs) y los transportadores tipo hierro (Zip). Las ZnTs reducen intracelularmente la disponibilidad del zinc promoviendo el flujo de zinc en las células o hacia las vesículas intracelulares, mientras que los transportadores Zip incrementan la disponibilidad intracelular del zinc, promoviendo el ingreso a la célula del zinc extracelular y también la liberación del zinc vesicular en el citoplasma (Abbaspour, 2013).

La proteína intracelular de unión al metal, la metalotionina (MT), participa en la regulación de la absorción del zinc. Luego de su absorción el Zn se distribuye por el cuerpo y se almacena primariamente en los eritrocitos, glóbulos blancos, músculos, huesos, piel, riñones, hígado páncreas y retina. La síntesis de MT hepática e intestinal es estimulada por la suplementación en la dieta de zinc (Krebs, 2000).

A nivel del organismo, la homeostasis del zinc es esencial para su mantenimiento y se regula mediante la absorción total del zinc y la excreción intestinal endógena (Abbaspour, 2013).

La pérdida de zinc se produce a través del tracto gastrointestinal, donde en las heces, aproximadamente la mitad del zinc del total es eliminado del cuerpo. El zinc es secretado a través de las secreciones biliares e intestinales pero otra parte es reabsorbida. La excreción es un importante proceso en la regulación del balance del zinc, otras vías de excreción se dan por la orina, la piel, el pelo y el sudor (Abbaspour, 2013).

2.7. Vitamina A

La vitamina A es un nutriente esencial que no es sintetizado por nuestro organismo, pero se encuentra en algunos alimentos y suplementos, proviene de fuentes animales como retinol o ésteres de retinil o como carotenoides (provitamina A) partir de las plantas que luego se convierten a retinal o ácido retinoico (Bailey, West Jr, & Black, 2015). La

vitamina A es importante para el órgano de la vista, la producción de células sanguíneas, el sistema inmune y la reproducción. La deficiencia de vitamina A conduce generalmente hacia la desnutrición crónica, anemia e infecciones (Semba & Bloem, 2002).

2.7.1 Metabolismo de la vitamina A

La vitamina A se encuentra en los alimentos de origen animal y en forma de carotenos en los vegetales donde se halla como provitamina A. En el organismo los carotenos se transforman en vitamina A. El proceso digestivo se da en el lumen del intestino, que incluye la liberación de los carotenoides pro-retinoides y retinoides del alimento y su emulsificación por ácidos grasos y biliares. El flujo de retinol en el enterocito es facilitado por el transportador basolateral de colesterol (ABCA1). Posteriormente, el retinol es esterificado antes de ser empaquetado como ester retinil en los quilomicrones nacientes, que son secretados en el sistema linfático. Luego los quilomicrones pasan un proceso de remodelación que incluye la hidrólisis de triglicéridos por la lipoproteína lipasa (LpL) y la adquisición de la Apolipoproteína E (apoE) de la circulación, dando lugar a la formación de los quilomicrones remanentes. Finalmente, los quilomicrones ingresan al hígado y se almacenan en las células hepáticas estrelladas (células almacenadoras de grasa, lipocitos). El hígado es el sitio mayor del metabolismo y almacenamiento de retinoides en el cuerpo. Dos tipos de células son importantes para este proceso: las células parenquimales (hepatocitos) y las células estrelladas. Finalmente, los quilomicrones nacientes son secretados en el sistema linfático (D'Ambrosio, Clugston, & Blaner, 2011).

2.7.2 Deficiencia de vitamina A, infección y diarrea

La Vitamina A tiene un rol importante en la función inmune y en la reducción de la morbilidad y mortalidad de algunas enfermedades infecciosas, como las diarreas (Semba & Bloem, 2002). La deficiencia de vitamina A es considerada un factor de riesgo para la enfermedad diarreica por sus múltiples efectos en la integridad epitelial y en el sistema inmune.

Al ser el epitelio la primera línea de defensa contra la invasión patógena, la vitamina A juega un rol crucial en la formación morfológica del epitelio, la queratinización, la estratificación, diferenciación y la maduración funcional de las células epiteliales. Así, la vitamina A es parte integral de la capa mucosa del tracto intestinal y respiratorio, donde promueve la secreción de la mucina.

La vitamina A mejora también los mecanismos de defensa de la mucosa oral e incrementa la integridad de la mucosa intestinal. Asimismo, la resistencia de los tejidos queratinizados a los patógenos extraños disminuye con la deficiencia a la vitamina A, con la consecuente reducción de la función de barrera mecánica e incremento de las infecciones. Además, se ha visto que la deficiencia de vitamina afecta al proceso de diferenciación celular, maduración y función inmunológica innata (Huang, Liu, Qi, Brand, & Zheng, 2018).

Así, la asociación entre deficiencia de vitamina A e infección involucraría varias vías que afectan a: los mecanismos de protección de la integridad epitelial, las funciones de las células epiteliales y células caliciformes, inmunidad del huésped y otros efectos no específicos del retinol en los tejidos. Se considera que la vitamina A podría modificar la masa linfocítica, la inmunidad humoral y celular y a los mecanismos no específicos de la resistencia del hospedero (el Bushra, Ash, Coulson, & Neumann, 1992).

A su vez, la deficiencia de vitamina A puede ser también provocado por las enfermedades infecciosas debido a: la disminución del consumo de nutrientes (anorexia) y de los niveles sistemáticos de vitamina A, la deficiencia de la absorción intestinal de nutrientes que causa pérdida directa de los mismos, el incremento de los requerimientos metabólicos o pérdidas catabólicas y la alteración en su utilización a través de los sistemas de movilización y transporte de vitamina A desde el hígado a los tejidos (Ej.: por deficiencia en el transporte a los tejidos blancos) (Stephensen, 2001).

En el caso específico de las enfermedades diarreicas, la recuperación de la infección involucra a aquellos mecanismos de defensa que están comprometidos por causa de la

deficiencia de vitamina A: la regeneración del epitelio mucoso intacto dañado por los patógenos invasivos, la secreción de anticuerpos de IgA mediado por Th2 contra las toxinas bacteriales, la respuesta fagocítica intacta de protección contra la enfermedad invasiva y la respuesta de IgG sérica mediada por Th2 contra las toxinas bacterianas (Stephensen, 2001). Asimismo, se ha visto que la deficiencia de vitamina A en humanos y animales podría resultar en reservorios para patógenos entéricos como *E. coli* (McDaniel et al., 2015).

Se cree que el estatus de la vitamina A afectaría la incidencia, mortalidad y la severidad de la diarrea. De esta manera el suplemento con vitamina A es considerado una intervención útil que puede contribuir a disminuir la morbilidad y mortalidad de las infecciones entéricas. Así, se ha observado que el suplemento de vitamina A, estaría asociado a una importante reducción en la mortalidad en niños con países de bajo y medio ingreso (Mayo-Wilson, Imdad, Herzer, Yakoob, & Bhutta, 2011). Otro estudio muestra su efecto en la reducción de la morbilidad de la diarrea infantil (Bhandari, Bhan, & Sazawal, 1994). Se ha visto que la vitamina A promueve la producción de IgA en el tracto gastrointestinal e incrementa la función inmune de la mucosa (Nikawa et al., 1999) y que además puede tener un rol aun no apreciado en la eliminación de las infecciones entéricas persistentes (McDaniel et al., 2015). Asimismo, la suplementación con vitamina A puede reducir la incidencia y la duración de los episodios de la diarrea (Barreto et al., 1994; Bhandari et al., 1994). Otro estudio clínico mostró también que la suplementación diaria a niños desnutridos hospitalizados con bajas dosis de vitamina A, disminuye la severidad de la enfermedad (Stephensen, 2001).

Finalmente, se ha mostrado el efecto beneficioso de la suplementación de vitamina A contra la diarrea invasiva (disentería por *Shigella*), en contraste a la diarrea aguda acuosa (Villamor & Fawzi, 2000). Este efecto podría ser debido al incremento de la regeneración del daño del epitelio mucosal y de la actividad fagocítica de los neutrófilos y macrófagos.

2.7.3 Vitamina A y norovirus

En relación específicamente a la infección por norovirus, se postula que la vitamina A podría tener un efecto protector contra la infección por este virus. Así, se ha reportado en niños mexicanos que la suplementación con vitamina A, produce efectos diversos en las infecciones de norovirus dependientes del genogrupo y en los síntomas clínicos (Long et al., 2007). Posteriormente, se encontró que la suplementación con vitamina A reduce los niveles de la proteína quimio-atractora de monocitos-1 (MCP-1) y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) (Long et al., 2011). Otro estudio demostró el efecto inhibitorio de la vitamina A en la infección por norovirus tanto *in vivo* e *in vitro*. Asimismo, se encontró que durante la infección por norovirus, el ácido retinoico conduce al incremento del IFN- β el cual está también involucrado en la respuesta inmune antiviral. Además, en ratones se vio que la administración del ácido retinoico tiene efectos sobre la microbiota intestinal (*Lactobacillus spp.*) (Lee & Ko, 2016).

2.8 Inflamación

La inflamación es parte de un proceso biológico complejo de la respuesta inmune innata en respuesta a la infección, estrés o trauma (Signore, 2013), que activa a macrófagos y linfocitos, los cuales liberan inicialmente citoquinas de fase aguda como interferones (INF), interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6 e IL-8) y al factor de necrosis tumoral (TNF). Estas citoquinas a su vez actúan como mediadores de la síntesis y excreción de proteínas de fase aguda (PFAs) en el hígado, entre las que se cuentan principalmente a la proteína C reactiva (PCR) y a la alfa-glicoproteína ácida (AGP), entre otras. Tanto la PCR como la AGP son comúnmente utilizadas para identificar sujetos con inflamación o infección. La PCR se incrementa rápidamente entre 1 – 2 días de iniciada la infección y permanece elevada cerca de 1 semana, luego de la resolución del síntoma. La AGP se libera más lentamente entre 4 – 5 días y permanece elevada por varias semanas (Simon, Gauvin, Amre, Saint-Louis, & Lacroix, 2004). Durante la infección, la liberación de estas citoquinas es dependiente del tipo de enfermedad, del patógeno infectante, de la severidad y síntomas de la enfermedad. Así, las infecciones bacterianas generalmente

producen una respuesta de fase aguda mayor que las virales (Jain, Gautam, & Naseem, 2011).

2.8.1 Inflamación y diarrea

La disrupción del epitelio intestinal por los enteropatógenos es una causa común de la diarrea. Esto conlleva no solo a la exudación de suero y sangre hacia el lumen sino también a la destrucción masiva del epitelio, por lo que se afecta la absorción de agua y de nutrientes. Los patógenos producen toxinas y otros factores de patogenicidad y virulencia que inician la respuesta inflamatoria. A su vez, la respuesta inmune a las condiciones inflamatorias del intestino contribuye significativamente al desarrollo de la diarrea. La activación de glóbulos blancos conduce a la secreción de mediadores y citoquinas que incrementan la permeabilidad, estimulan la secreción disminuyendo la absorción del área afectada, además estos procesos pueden ir acompañados por fiebre (McClarren, Lynch, & Nyayapati, 2011).

Por otra parte las especies oxígeno reactivas (ROS) liberadas de los leucocitos dañan o matan a las células intestinales epiteliales que se reemplazan por células inmaduras del borde cepillado de los enterocitos, que son deficientes en enzimas y transportadores necesarios para la absorción de agua y nutrientes.

La relación entre marcadores de respuesta inflamatoria, infección y diarrea y la utilidad de biomarcadores de inflamación (PCR y AGP) en la predicción de la diarrea infecciosa no está suficientemente establecida y los datos son aún limitados. Por una parte, algunos estudios reportan correlación entre diarrea y proteínas de fase aguda. Así, en un estudio de cohorte en Brasil, en niños de 6 a 24 meses, se observó que los niveles de PCR se incrementaron en los niños que sufrieron diarrea o fiebre en el día o semana previa a la medición (DeBoer et al., 2017).

Así también, en otro estudio en Egipto, en niños de 3 a 36 meses, se mostró que los niveles de PCR, Procalcitonina (PCT) y el receptor soluble de células mieloides (STREM) fueron significativamente más altos en niños con diarrea aguda bacteriana en

comparación a niños con diarrea no bacteriana y controles (Al-Asy, Gamal, Albaset, Elsanosy, & Mabrouk, 2017). En un estudio en Tanzania en niños de 3 a 5 años, donde se evaluó a la PCR y AGP como indicadores para identificar la infección aguda (presencia de diarrea, fiebre o vomito) se observó que la combinación de ambas proteínas (a concentraciones de PCR $\geq 1,1$ mg/L y AGP $\geq 0,76$ g/L) eran útiles para la definición de infección aguda (Wander, Brindle, & O'Connor, 2012).

En otro estudio en niños de 6-59 meses y mujeres de 15-49 años de diferentes lugares (Bangladesh, Camerún, Colombia, Georgia, Kenia, Laos, Liberia, México, Nicaragua, Filipinas, Pakistán, Papua Guinea y Estados Unidos), se observó un patrón de asociación por una parte entre el incremento de proteína C reactiva con fiebre, diarrea reciente y malaria y por otra, entre AGP con diarrea o desnutrición crónica (Merrill et al., 2017).

Otro estudio en niños con diarrea aguda por rotavirus mostro altos niveles de IL-6 e INF- γ en contraste al grupo control sin diarrea. Por otro lado, los niños con fiebre y mayor número de episodios de diarrea presentaron mayores niveles de estas citoquinas que los niños sin estos síntomas. A su vez, el número de evacuaciones y el vómito se asociaron de forma negativa con los niveles de IL-2 e INF- γ , respectivamente (Jiang et al., 2003).

Otros autores sin embargo, no han detectado incremento de los niveles de PCR durante la diarrea independientemente de su etiología. Así el estudio de Brown y col. (Brown et al., 1993), en niños de 11 a 19 meses mostró que solo la anorexia y la fiebre se asociaron significativamente con mayores concentraciones de PCR, en contraste a la diarrea donde no se observó asociación alguna.

2.8.2 Inflamación, Infección y Biomarcadores Nutricionales

La concentración plasmática de varios biomarcadores nutricionales como retinol, hierro, ferritina, receptores de transferrina, zinc, carotenoides, vitamina C y otros están influenciadas por la inflamación, Además, las concentraciones de las proteínas de

transporte de albúmina, proteína de unión a retinol (RBP) y transferrina a menudo son bajas en niños expuestos frecuentemente a infecciones o traumatismos, observándose así en varios estudios que la concentración anormal de biomarcadores nutricionales va asociada generalmente a concentraciones elevadas de PCR y a otras evidencias de la presencia de inflamación. Si bien la infección y/o daño a los tejidos pueden ser identificados por sus efectos clínicos, las infecciones subclínicas o la inflamación solo se reconocen a través de los marcadores como PCR y AGP en la sangre. De esta manera, un proceso inflamatorio, puede alterar o enmascarar un cuadro que involucra al metabolismo de los marcadores nutricionales. Así, ante estados de infección/inflamación crónica o aguda se han descrito alteraciones en el metabolismo de los minerales y micronutrientes como mecanismo de respuesta de fase aguda. Por ejemplo, en el caso del hierro, la ferritina -una proteína de fase aguda- aumenta en el plasma durante un proceso inflamatorio o infeccioso sin que a veces realmente exista un cambio en los niveles de hierro en la sangre, o incluso en presencia de anemia. Por lo tanto, este marcador podría estar subestimando la deficiencia de hierro, por lo que el valor de la ferritina debe ser también ajustada a los niveles de inflamación. Se ha encontrado que los valores de deficiencia de hierro pueden variar entre un 8% a 30% en regiones con alta prevalencia de infecciones.

Por otro lado, es importante considerar que las infecciones por patógenos dependientes de hierro se estimularían por efecto de las citoquinas proinflamatorias como IL-6, IL-1, IL-22 e interferón a la hipoferremia aguda que coadyuvaría a la inhibición del crecimiento y proliferación de los patógenos.

En el caso del zinc, existen varios factores que afectan los niveles de zinc en el plasma, sobre todo considerando que su concentración es menor al 0.2% del contenido total de zinc en el cuerpo. Se ha visto que las concentraciones de zinc en el plasma, disminuyen rápidamente durante la respuesta de fase aguda a diferentes estímulos como estrés, infección y traumatismo (Galloway, McMillan, & Sattar, 2000). Así, varios estudios muestran que la concentración de zinc en el plasma disminuye durante la infección (Brown, 1998; Halsted & Smith, 1970) y que la magnitud del decremento es

proporcional a la severidad de la infección (Mwangi, McOdimba, & Logan-Henfrey, 1995). Asimismo se ha reportado que niños con concentraciones elevadas de PCR presentaban concentraciones de zinc en el plasma más bajas que aquellos con bajas concentraciones de PCR (Lartey, Manu, Brown, & Dewey, 2000) . Otro estudio muestra que la concentración de zinc fue menor en niños con disentería, fiebre y concentración elevada de PCR (Strand, Adhikari, Chandyo, Sharma, & Sommerfelt, 2004). En consecuencia, bajo condiciones inflamatorias, el zinc se transporta a los compartimentos celulares, donde se lo utiliza para la síntesis de proteínas, neutralización de los radicales libres, y para prevenir la invasión microbiana. Esta redistribución de zinc durante eventos inflamatorios esta mediada por las citoquinas. A su vez, el zinc puede influir en la producción y señalización de numerosas citoquinas inflamatorias en una variedad de tipos de células.

Finalmente, en el caso de la deficiencia de vitamina A, los niveles de retinol y de la proteína de unión al retinol (RBP) están afectados por la respuesta de fase aguda observándose decrementos de ambos marcadores hasta un 40% en presencia de inflamación. Por lo que los valores de RBP y retinol deben ajustarse en base a los niveles de PCR y AGP. Sin embargo, este efecto puede ser variable en función de la edad del niño (Burke et al., 2018).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Contribuir al conocimiento de la diarrea ambulatoria y su relación con la infección por enteropatógenos, el estado nutricional, biomarcadores de inflamación y los factores sociodemográficos, mediante un estudio de cohorte prospectivo de una población de niños menores a 12 meses de edad, pertenecientes a dos redes de salud de la ciudad de El Alto.

3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el estado nutricional y la presencia de inflamación en la población de estudio a lo largo del primer año de vida.
- Describir las características principales de la diarrea ambulatoria (prevalencia, incidencia, tipo, severidad) en la población de estudio.
- Evaluar la asociación potencial de la diarrea ambulatoria, con las características sociodemográficas, de nutrición, de inflamación y de tipo de lactancia en la población de estudio.
- Evaluar la prevalencia de los patógenos entéricos (DEC, NV y RV) de forma individual y conjunta y su asociación con la diarrea en la población en estudio.
- Evaluar la distribución de patógenos circulantes en niños menores y mayores a 6 meses
- Evaluar la infección y la diarrea por norovirus a lo largo de los primeros 12 meses de vida y su relación con marcadores nutricionales y de inflamación.

4 METODOLOGÍA

4.1 Área de estudio

El área de estudio comprende las redes de salud a las que pertenecen el hospital de los Andes y el hospital Corea de la ciudad del Alto.

4.1.1 Población en estudio

Este estudio es parte del Proyecto Nutrición, Inmunología y Diarrea Infantil (NIDI). Este Proyecto estuvo diseñado y tuvo como primer objetivo central evaluar el efecto del estado nutricional en la respuesta a la vacunación por rotavirus, el mismo que en el presente trabajo de tesis no está considerado.

Desde el mes de Junio del 2013 a marzo del 2015, un total de 461 pares de madre-niño fueron enrolados en la cohorte del estudio. De estos; 115 abandonaron el estudio (5 fallecieron y 110 no pudieron ser localizados o no aceptaron la toma de muestra de sangre). Para el análisis de las características generales (sexo, bajo peso al nacer, datos sociodemográficos, educación de la madre, etc.) y nutricionales del niño, se consideró inicialmente una población total de 461 niños que fueron reclutados en el estudio NIDI (Tablas 6-7).

A partir de esta población, para realizar el análisis general de la incidencia y prevalencia de la diarrea, se consideró luego, un total de 357 niños (que permanecieron en el estudio hasta completar al menos el primer año de vida (Tabla 8-9, Figura 12-13).

Para el análisis de patógenos de la diarrea, en función a la disponibilidad de muestras y datos, se han agrupado a tres subpoblaciones cada una pareada por edad: la subpoblación 1 (N=186) que comprende el análisis de niños hasta los 12 meses de edad, la subpoblación 2 (N=249) con niños hasta los 5 meses de edad y la subpoblación 3 (N=107) que comprende niños hasta los 12 meses de edad que contaron con ≥ 4 muestras de heces (Figura 11). Por una parte, el total de muestras diarreicas analizadas en la subpoblación 2 (47) son parte de las muestras diarreicas analizadas en la subpoblación 1 (47+61=108). Por otra, solo 43 de 287 muestras no diarreicas de la subpoblación 2, son parte de las muestras no diarreicas de la subpoblación 1 (43+66=109). De esta manera

un 41.5% de las muestras de la población 2 (que corresponde a los primeros 5 meses de edad) se encuentra en la población 1 por lo que los datos de ambas subpoblaciones en parte se complementan (niños ≤ 5 meses y niños >5 meses ≤ 12 meses).

Con objeto de facilitar el seguimiento al análisis de datos en cada población/subpoblación analizada, al inicio de la sección de resultados correspondiente a cada una de las mismas, se presenta un esquema específico, detallando número de muestras diarreicas y no diarreicas, edad de los niños, etc.

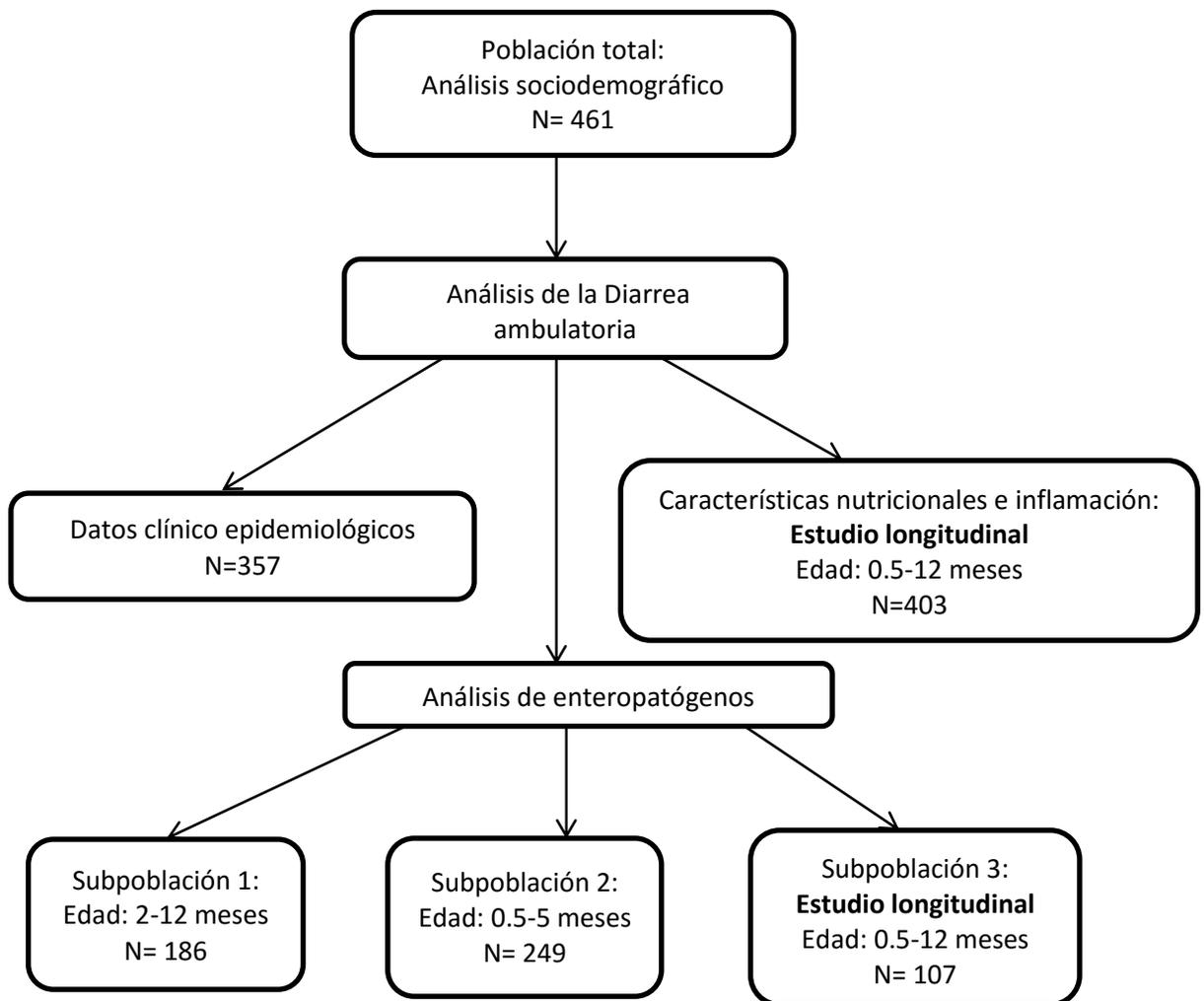


Figura 11. Población y subpoblaciones de estudio. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

El seguimiento de los niños se realizó desde el 1 mes de vida mediante 8 visitas como se esquematiza en la Figura 12.

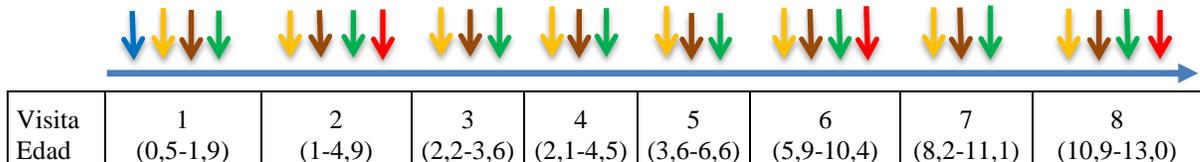


Figura 12. Detalle de las visitas y rango de edad de los niños. Las flechas indican las visitas donde se registraron diferentes tipos de datos o se tomaron muestras: datos sociodemográficos (tipo de alcantarillado, recolección de basura, hacinamiento, tipo de baño, etc.) (azul), datos clínicos (presencia de fiebre, diarrea, vómitos, enfermedad de base, vacunas recibidas, etc.) (naranja), registro de medidas antropométricas (peso y talla) (café) y recolección de muestras de heces (verde) y de sangre (rojo).

En cada visita se llenó un formulario para la colección de datos sociodemográficos (tipo de alcantarillado, recolección de basura, hacinamiento, tipo de baño, etc.), clínicos (presencia de fiebre, diarrea, vómitos, enfermedad de base, vacunas recibidas, etc.) y medidas antropométricas (peso y talla). Asimismo, se recolectaron muestras de heces de los niños en cada visita, en función al consentimiento y disponibilidad de la madre. Las muestras de sangre se obtuvieron en la segunda, sexta y octava visita previo consentimiento informado.

4.2 Recolección de la muestra de heces

Las muestras de heces diarreicas y no diarreicas se recolectaron de los niños cuando estos acudían a la visita médica con sus madres.

Las muestras de heces fueron recolectadas en pañales o frascos estériles que fueron transportados en el medio de transporte Carry-Blair a 4°C, hasta el laboratorio del IBMB hasta su procesamiento.

4.3 Criterios de caso

Se tomó en cuenta a las siguientes definiciones para la asignación de la muestra con o sin presencia de diarrea:

- Niños con diarrea: Niños que presentaron 3 o más evacuaciones líquidas o semilíquidas durante las últimas 24 horas, con evolución inferior a 14 días (OMS).
- Niños sin diarrea: Niños que presentaron deposiciones fecales normales en el día de la toma de muestra y por lo menos 15 días antes de la misma.

4.4 Definición de diarrea aguda

Los episodios de diarrea fueron clasificados diarrea aguda con hasta 6 días de diarrea, prolongada de 7 – 14 días, y persistente hasta 15 o más días.

4.5 Índice de Vesikari modificado

El puntaje de severidad fue calculado para cada episodio usando los parámetros del puntaje de Vesikari pero modificados (Tabla 4)

Tabla 4. Índice de Vesikari modificado. Sistema de puntaje para determinar la severidad de la diarrea ambulatoria

| | 1 puntos | 2 punto | 3 puntos |
|--------------------|------------------------|-----------|------------|
| Nº de vómitos | 1-2 veces | 3-6 veces | 7-12 veces |
| Nº de deposiciones | 1-4 veces | 5-7 veces | 8-15 veces |
| Fiebre | Reportada por la madre | -- | -- |
| Días de diarrea | 1-6 días | 7-14 días | 15 o más |
| Vomito | Reportada por la madre | -- | -- |

4.6 Cepas de referencia

Las cepas de referencia para la identificación de los diferentes patotipos de *E. coli* diarreogénica fueron:

- Cepa de referencia H17 para ETEC (Lt, stp y sth),
- Cepa de referencia 042 para EAEC (paa)
- Cepa de referencia 12b para EPEC (eae).

En el caso de RV y NV se usaron los controles positivos con los que cuenta el IBMB.

4.7 Muestras de sangre

Durante las visitas 2da, 6ta y 8va, se colectó 1 ml de sangre venosa de los niños usando jeringas y tubos libres de zinc para realizar las mediciones de hemoglobina, ferritina, sTRF, RBP, zinc, proteína C reactiva (PCR) y alfa glicoproteína 1 (AGP). Los tubos fueron congelados a -20°C y enviados a la Universidad de EMORY (USA) para su análisis respectivo.

Los marcadores de inflamación se analizaron en el laboratorio VitMin Lab (Willstaett, Alemania) mediante la técnica de ELISA sándwich, para PCR (marcador de inflamación aguda, con un límite de detección de [LOD]: (0.5 mg/L), AGP (marcador de inflamación crónica, LOD: 0.1 g/L). La inflamación se definió como un valor de PCR > 5mg/L o de AGP > 1g/L.

Los marcadores nutricionales se analizaron en el laboratorio VitMin Lab, mediante la técnica de ELISA sándwich para la proteína de unión al retinol (RBP, LOD: 0.05 mol/L), ferritina (Ferritina, LOD: 2 g/L), y el receptor soluble de transferrina (sTFR, LOD: 0.5 mg/L (Biesalski, & Craft, 2004).

La detección de hemoglobina (Hb) fue medida usando un sistema de HemoCue® Hb (HemoCue América, Brea, CA, USA). La anemia fue definida como Hb < 13,7g/dl (3750 mnm) para los niños.

Los parámetros analizados incluyeron un factor de corrección considerando la presencia de inflamación: en el caso de transferrina soluble (sTRF > 8.3 µg/L), ferritina (ferritina < 12 µg/L), vitamina A (RBP < 0.7), zinc (método Thurnham).

4.8 Procesamiento de las muestras de heces

Para la *Escherichia coli* diarreogénica (DEC), las muestras fueron cultivadas en caldo de enriquecimiento *E. coli* e incubadas a 37° C por 18 horas. Las bacterias cultivadas se sembraron en agar Mac Conkey y se incubaron a 37°C por 18 horas.

4.9 Obtención de DNA bacteriano

Se tomaron cinco colonias fermentadoras de lactosa para la obtención del DNA bacteriano y fueron suspendidas en 400 ul de agua destilada estéril. La lisis se realizó

mediante exposición al calor a 99° C por 10 minutos (hervido). Posteriormente se colocó en hielo y se centrifugó a 13000 rpm por 3 minutos. El sobrenadante se usó como templete para la amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa.

4.10 Identificación de *E. coli* diarreogénica

Para la identificación de los diferentes patotipos de *E. coli* diarreogénica (DEC): ETEC (lt, sth, stp), EPEC (eae), EAEC (pAA), se realizó la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) usando los cebadores especificados según la Tabla 5. Después de la amplificación se realizó la electroforesis de los productos de amplificación en geles de agarosa al 2% y 1,5% teñidos con red gel y posteriormente visualizados por medio del transiluminador UV.

Tabla 5. Genes marcadores de los patotipos de *E. coli* patogénica.

| Cebador | Secuencia cebador (5' ---- 3') | Tamaño del producto | Referencia |
|---------------------|---|------------------------|------------------------|
| eaeF eaeR | CCCGAATTCGGCACAAGCATAAGC CCCGGATTCGTCTCGCCAGTATTCG | 863 | Vidal et al, 2004 |
| ltF ltR | ACGGCGTACTATCCTCTC TGGTCTCGGTCAGATTAGTG | 274 | Sjöling et al., 2007 |
| stpF stpR | TCCTTTCCCCTCTTTTAGTCAG ACAGGCAGGATTACAACAAAG | 166 | Sjöling et al., 2007 |
| sthFnew sthF'new | TTCACCTTTCCCTCAGGATG CTATTCATGCTTTCAGCACCA | 120 | Sjöling et al., 2007 |
| paaF para | CTGGCGAAAGCATGTATCAT CAATGTATAGAAATCCGCTGTT | 690 | Young Moon et al, 2005 |

4.11 Identificación de rotavirus

Las muestras diarreicas, fueron evaluadas para la detección de rotavirus mediante ELISA (ROTACLONE) según instrucciones del fabricante.

4.12 Identificación de norovirus

La extracción de RNA de las muestras de heces se realizó mediante el método de guanidina-silica- etanol. Con el RNA extraído se procedió a la obtención de cDNA y luego se procedió a la detección de norovirus mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa usando cebadores específicos indicados en la Tabla 6.

Tabla 6. Genes marcadores para la detección de norovirus por RT-RCP

| Primer específicos | Cebadores 5` 3` | Producto | Referencia |
|--------------------|-----------------------------|----------|---------------------------------|
| MON 432F (GI) | TGG ACI CGY GGI CCY AAY CA | | Richards <i>et al</i> , 2004 |
| MON 434R(GI) | GAA SCG CAT CCA RCG GAA CAT | 213 | |
| MON 431F (GII) | TGG ACI AGR GGI CCY AAY CA | | |
| MON 433R (GII) | GGA YCT CAT CCA YCT GAA CAT | 213 | |

4.13 Análisis estadístico

Los datos se procesaron en el programa SPSS (versión 22.0) por medio de un análisis univariado, determinando frecuencias, tendencia central y dispersión de las variables continuas y análisis bivariado, mediante el test de Fisher y los valores de p.

Para el análisis de factores de riesgo (riesgo relativo) ajustado por edad y sexo asociados entre los diferentes agentes etiológicos y las características socio demográficas se realizó una regresión logística binaria con intervalos de confianza de 95%. También se realizó un análisis discriminante para ver asociación significativa de las diferentes variables con la diarrea.

4.14 Permisos bioética

Este estudio tiene aval del Comité Nacional de Bioética dado por la comisión de Nacional de Bioética (Bolivia) y el comité de Bioética de la Universidad de EMORY (USA) y el correspondiente consentimiento informado de los padres o tutores del niño (Anexo A).

5 RESULTADOS

5.1 Características generales de la población en estudio

En la población total (N= 461), 252 niños que pertenecen al sexo masculino representaron el 54,7%. Entre las características generales de la madre, se observó una edad promedio de 25.5 ± 6.4 . Respecto al nivel de educación, se registró que 81 (16,7%) mujeres cursaron la primaria completa (Tabla 6).

Entre los datos sociodemográficos se observó un promedio de 3 ± 1.3 personas que conviven en una habitación. El número de familias con fuente de agua dentro la vivienda alcanzaron a 170 (36.9%) y con baño privado a 265 (57.5%) (Tabla 7).

Tabla 7. Características generales de la población y subpoblaciones. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)

| | Población total: N= 461 N(%) media ± ds | Población : N= 357 N(%) media ± ds | Subpoblación 1: N= 186 N(%) media ± ds | Subpoblación 2: N= 249 N(%) media ± ds | Subpoblación 3: N= 107 N(%) media ± ds |
|--|---|--|--|--|--|
| Características del niño | | | | | |
| Edad(días) al inicio del estudio | 33 ± 8 días ^(a) | 33 ± 8 días | 33 ± 8 días | 33 ± 8 días | 33 ± 8 días |
| Masculino | 252 (54.7) | 191 (53,5) | 105 (55,6) | 133 (53,4) | 58(54.2) |
| Prematuros (<37 semanas de edad gestacional) | 70 (19.2) | 37 (19,6) | 37 (19,6) | 49 (19,8) | 21(19,6) |
| Bajo peso al nacer < 2500g | 24 (6.4) | 22 (6.2) | 14 (7,4) | 16 (6,4) | 7 (6,5) |
| Características de la madre | | | | | |
| Edad materna (años) | 25.5 ± 6.4 ^(a) | | 25.0 ± 6.3 | 25.0 ± 6.2 | 25.0 ± 6.2 |
| IMC* materno | 26.4 ± 3.8 ^(a) | 26.4 ± 3.8 | 26.7 ± 3.9 | 26.6 ± 4.0 | 26.6 ± 3.9 |
| Educación materna | | | | | |
| Primaria completa | 81 (16,7) | 49 (13,7) | 30 (16,2) | 41 (16,5) | 18 (16,4)) |
| Secundaria o mas | 378 (82,0) | 307 (86) | 156 (83,6) | 208 (83,5) | 89 9 (83,6) |
| Datos sociodemográficos | | | | | |
| Madre con trabajo | 117 (25.4) | 90 (25,2) | 52 (27.5) | 62 (25.0) | 27 (25.2) |
| N° persona/ habitación | 3 ± 1.3 | 3 ± 1.3 | 3 ± 1.4 | 3 ± 1.4 | 3 ± 1.4 |
| Agua domicilio | 170 (36.9) | 132 (37,0) | 63 (33.7) | 82 (32.9) | 35 (32.7) |
| Baño privado | 265 (57.5) | 206 (57,7) | 105 (56.1) | 139 (55.8) | 60 (56,0) |

*Índice de masa corporal (IMC); ^(a) media ± ds

Subpoblación 1: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 5,7 meses y el grupo con diarrea con un promedio de 6,0 meses.

Subpoblación 2: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 2,9 meses y el grupo con diarrea un promedio de 2,4 meses.

Subpoblación 3: muestra de niños que registraron ≥ de cuatro visitas de la población total que fue analizada para la presencia de norovirus; con promedio de edad de 5,0 meses en los niños sin diarrea y 5,6 meses con diarrea.

Prueba de regresión logística P>0,05: No se encuentran diferencias significativas entre las características sociodemográficas de la población y las subpoblaciones Tampoco se hallaron diferencias significativas con la prueba discriminante.

Como se puede observar en la Tabla 3, la población total y las subpoblaciones del estudio no presentaron diferencias significativas entre ellas (prueba logística y discriminante), respecto a las características de los niños, las maternas y los datos sociodemográficos.

Todas estas características fueron además analizadas comparando la población de niños pertenecientes a las redes de salud del hospital Corea con la del hospital Los Andes no encontrándose diferencias significativas entre ambas (Datos no mostrados).

5.2 Características nutricionales e inflamación de la población de estudio

En la población total a lo largo del estudio, entre los datos obtenidos se observó al menos en alguna visita, la presencia de los siguientes indicadores:

- 160 niños presentaron desnutrición crónica (34,7%), 26 desnutrición aguda (5,7%), 95 bajo peso (20,6%) y 365 anemia (79,2%).
- El análisis de la deficiencia de hierro, medido través de la cuantificación de ferritina y del receptor soluble de la transferrina, mostró que 187 niños presentaron deficiencia de ferritina (40,6%) y 55 niños con incremento del receptor soluble de la transferrina (11,9%).
- Se observó una proporción importante de deficiencia de micronutrientes, donde 382 niños presentaron deficiencia de zinc (82,9%) y 248 de vitamina A (69,5%).
- De igual manera, 79 (17,1 %) niños presentaron inflamación aguda inferida mediante la medición de la proteína C reactiva (PCR) y 58 (12,6%) mediante la alfa-glicoproteína 1 (AGP).

La población total y las subpoblaciones mostraron similares características en cuanto al estado nutricional, deficiencia de micronutrientes e inflamación (Tabla 8), no observándose diferencias estadísticas entre ambas.

Tabla 8. Características del estado nutricional e inflamación de la población de niños. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | POBLACION NIÑOS: N= 461 (%) | POBLACION NIÑOS: N= 357 (%) | SUB - POBLACION 1 NIÑOS: N= 186 (%) | SUB – POBLACION 2 NIÑOS: N= 249 (%) | DATOS DE REFERENCIA A NIVEL NACIONAL (%) | REFERENCIA |
|--|--|--|--|--|---|---|
| ESTADO NUTRICIONAL | | | | | | |
| DESNUTRICION CRONICA | 160 (34,7) | 132 (37,0) | 69 (37,1) | 103 (41,4) | 27 | (UNICEF, 2009) |
| DESNUTRICION AGUDA | 26 (5,6) | 25 (7,0) | 10 (5,4) | 14 (5,6) | 3 | (UNICEF, 2009) |
| BAJO PESO | 95 (20,6) | 79 (22,1) | 36(19,4) | 52 (20,9) | 14 | (UNICEF, 2009) |
| ANEMIA | 365 (79,2) | 327 (91,6) | 168 (90,3) | 227 (91,2) | 62.3 | (MUJICA-COOPMAN ET AL., 2015) |
| DEFICIENCIA DE VITAMINA A | 248(69,5) | 221 (61,9) | 127 (68,3) | 168 (67,5) | 41 | (CEDIEL, OLIVARES, BRITO, LOPEZ DE ROMAÑA, ET AL., 2015) |
| DEFICIENCIA DE ZINC | 382 (82,9) | 314 (88,0) | 166 (89,2) | 231 (92,8) | 40.1 | (CEDIEL, OLIVARES, BRITO, CORI, & LOPEZ DE ROMAÑA, 2015) |
| DEFICIENCIA DE FERRITINA | 187(40,6) | 181 (50,7) | 90(48,4) | 123(49,4) | SD | |
| INCREMENTO DE sTRF ^(a) | 55(11,9) | 54 (15,1) | 30 (16,1) | 49 (19,7) | SD | |
| ESTADO DE INFLAMACION | | | | | | |
| INFLAMACION AGUDA (PCR) ^(b) | 79 (17,1) | 77 (21,6) | 33 (17,7) | 36 (14,5) | NC | |
| INFLAMACION CRONICA (AGP) ^(c) | 58 (12,6) | 57 (16,0) | 30 (16,1) | 29 (11,6) | NC | |

SD= Sin dato; NC= No corresponde; a) sTRF= Transportador soluble de ferritina; b) PCR=Proteína C reactiva;

c) AGP= alfa-Glicoproteína 1

Subpoblación 1: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 5,7 meses y el grupo con diarrea con un promedio de 6,0 meses.

Subpoblación 2: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 2,9 meses y el grupo con diarrea un promedio de 2,4 meses.

Prueba de regresión logística; P>0,05: No se encuentran diferencias significativas entre las características nutricionales y de inflamación en la población y las subpoblaciones de niños analizada.

Tampoco se hallaron diferencias significativas con la prueba discriminante.

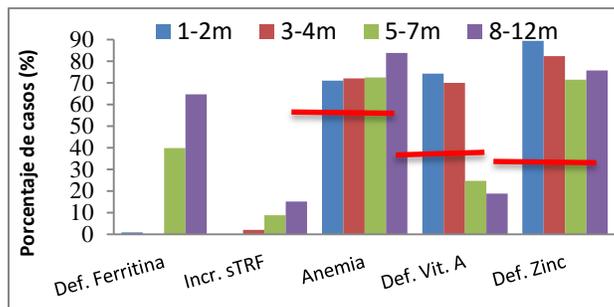
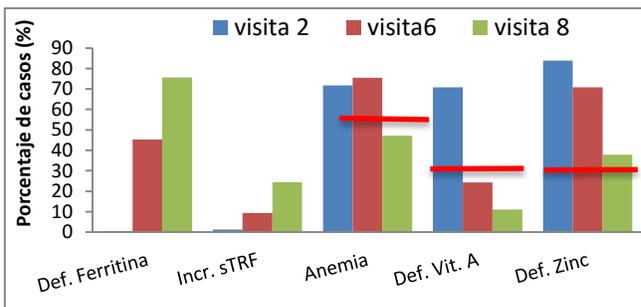
Para evaluar los parámetros nutricionales en relación a la edad del niño, se analizaron cada uno de ellos en función a los datos obtenidos en los puntos de medición a los 2, 6 y 8 meses de edad. En la población analizada (N= 403 niños) (Figura 13), se observó que la anemia se presentó desde los primeros meses con una alta prevalencia (por encima del valor promedio nacional) hasta el año de edad. Así también, se observó que la deficiencia de ferritina es baja (por debajo del 1%) en los primeros meses de edad (hasta los 4 meses) y luego se incrementa desde los 5 a 7 meses hasta un 40% y hasta un 65% entre los 8 a 12 meses de edad. En niños mayores a 5 meses el 62.3% de los casos de anemia corresponden a anemia por deficiencia de hierro, estos valores son menores (0.7%) en niños menores a 5 meses. Similar patrón se observó en el caso del incremento de sTRF aunque con porcentajes menores (Figura 13A). En general, en toda la población el 28.7% de casos con anemia se deben a deficiencia de hierro. En cuanto a la deficiencia de vitamina A, se observó un mayor porcentaje en los primeros 4 meses de vida, el cual luego se reduce en un 45,2% entre los 5-7 meses de edad y llega a 18,7% entre los 8 y 12 meses de edad, quedando desde los 5 meses de edad por debajo del promedio nacional. La deficiencia de zinc encontrada fue muy alta (89%) en los 2 primeros meses de vida, con un patrón de reducción paulatina a lo largo de la edad hasta un 61% a los 8-12 meses de edad, quedando aun por encima del valor del promedio nacional (Figura 13 A). En resumen, estos datos en conjunto reflejan que la población estudiada presentó deficiencia múltiple de micronutrientes a diferentes rangos de edad por una parte la presencia de anemia, deficiencia de vitamina A y zinc desde el primer mes de edad con reducción paulatina de los dos últimos biomarcadores con la edad y por otra, deficiencia de ferritina e incremento de sTRF a partir del 5to mes hasta el año de edad.

En relación a la desnutrición crónica en la población de estudio, se observó que la misma alcanza a 19,6 % en los primeros 4 meses de edad, disminuyendo hasta un 12,8% entre 5-7 meses de edad para luego incrementarse nuevamente hasta 19.1% entre los 8 a 12 meses (Figura 13B).

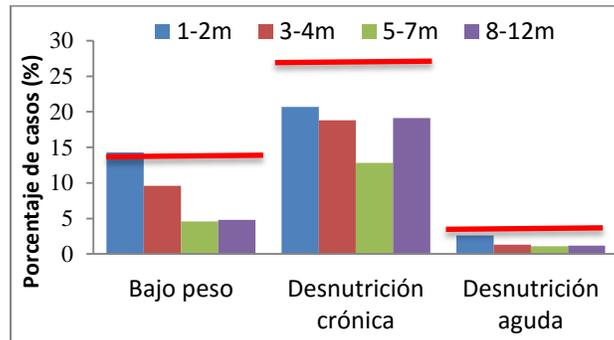
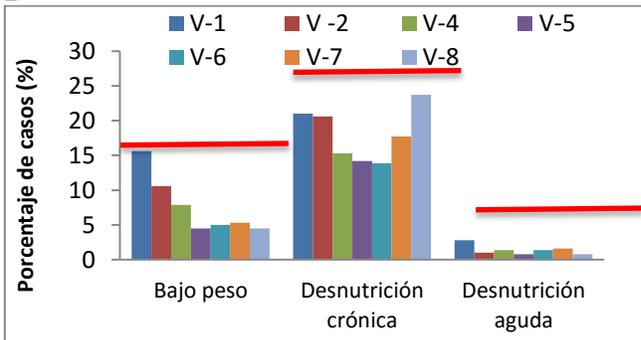
En cuanto a las características de inflamación, se observó a la inflamación aguda medida a través de PCR y AGP en un 9% y 7% respectivamente en los dos primeros meses de vida, con un incremento a los 5-7 meses de 17.5% y 11,2%. A los 8 y 12 meses de edad la PCR disminuyó hasta 11.5%, a diferencia de AGP que incremento hasta un 14% (Figura 13C).

En cuanto a la lactancia parcial o pasada se observó que la misma va incrementando paulatinamente con la edad desde 43% entre 5-6 mes de edad hasta 92% entre los 8-12 meses de edad.

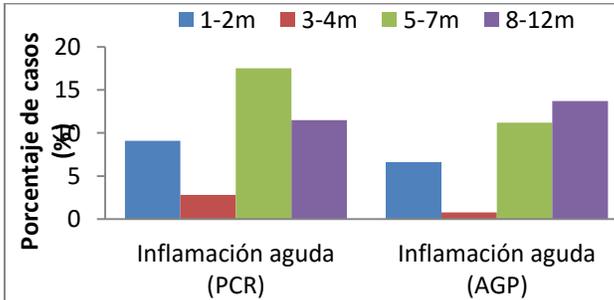
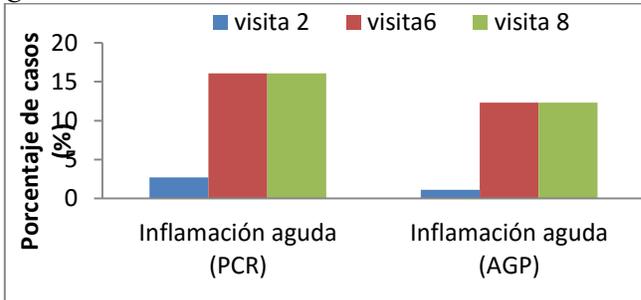
A



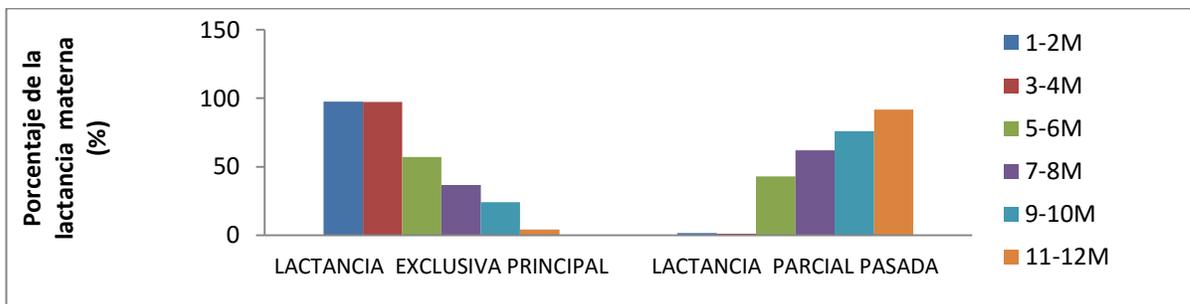
B



C



D



— : Promedio porcentaje a nivel nacional

Figura 13. Prevalencia de la anemia, micronutrientes, inflamación y lactancia materna en los 12 primeros meses de vida de la población de niños, A: por visita y B: por edad (N= 403 niños, 759 muestras). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.3 Incidencia y prevalencia de la diarrea de la población en estudio

Para el análisis de la diarrea se consideró una cohorte de 357 niños que permanecieron en el estudio hasta completar al menos el primer año de vida, con un total de 2591 muestras colectadas (con y sin diarrea). En esta población, se registró la ocurrencia de la diarrea con al menos un episodio de diarrea reportado durante el primer año de vida en un 62,4% (223/357). Se observó un total de 414 episodios de diarrea que fueron clasificados en diarrea aguda 261 (62,8%), prolongada 26 (6,3%) y persistente 3 (0,7%) (Tabla 9).

Tabla 9. Tipos de diarrea registrados en la población de niños del estudio (Número total de episodios registrados= 414). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| Clasificación de diarrea | N= 414 muestras de 223 niños N (%) |
|--------------------------|---------------------------------------|
| Aguda | 260 (62,8) |
| Prolongada | 26 (6,3) |
| Persistente | 3 (0,7) |
| No determinado | 113 (27,3) |
| Sin dato | 12 (2,9) |

Los casos con diarrea aguda en su mayoría (72,7%) (189/260), presentaron un valor de severidad promedio de $3,8 \pm 1,6$ mediante el puntaje modificado de Vesikari (Figura 14).

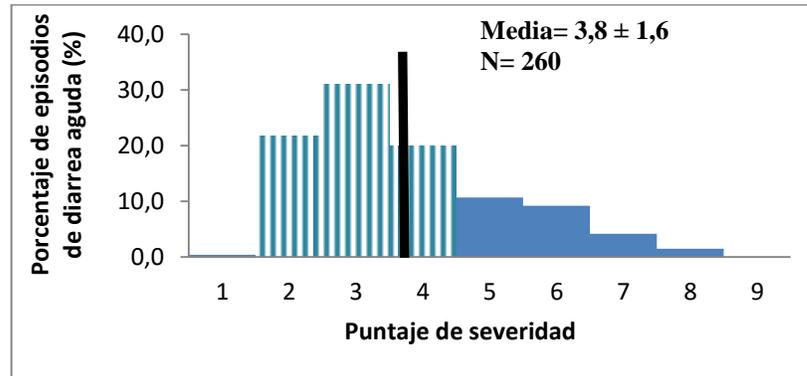


Figura 14. Puntaje de severidad de la población de niños con diarrea aguda (N=260) acorde a puntaje de Vesikari modificado. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

Los episodios de diarrea reportados representan una incidencia total de 1,16 episodios por niño por año. El rango observado fue de entre 1 a 8 episodios por niño por año, con un promedio de duración de 3,0 días por episodio por niño por año (Tabla 9). El número total de días de diarrea registrados fue de 873, con un rango de 1 a 19 días por niño por año (datos no mostrados). Como se observa en la Tabla 10, no se han encontrado diferencias significativas entre los datos de incidencia de diarrea entre los niños reclutados de las redes de salud del hospital Los Andes y del hospital Corea.

Tabla 10. Incidencia de la diarrea en la población de niños por las redes de salud de los hospitales de procedencia. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | Total | Red hospital Los Andes* | Red hospital Corea* |
|--------------------------------------|-----------|-------------------------|---------------------|
| Población inicial | 357 | 181 | 176 |
| N° de episodios de diarrea | 414 | 217 | 197 |
| Incidencia | 1,16 | 1,20 | 1,12 |
| Tasa de incidencia | 0,44 | 0,46 | 0,43 |
| Días de diarrea ($\bar{x} \pm DS$) | 3,2 ± 2,7 | 3,1 ± 3,0 | 2,9 ± 2,4 |

- Mediante la prueba de regresión logística, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los valores reportados en la tabla entre ambas redes de salud.

La prevalencia de la diarrea y su incremento a lo largo de los primeros 12 meses de vida se presenta en la figura 15, observándose un pico al 6to y otro al 11avo mes de vida. El porcentaje acumulativo de la diarrea en el sexto mes, alcanzó el 60%.

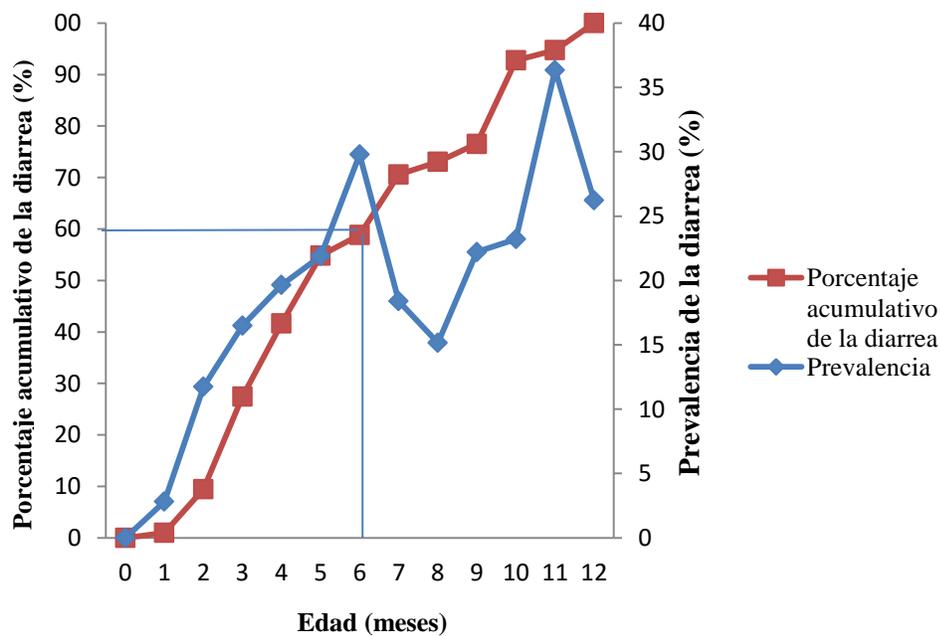


Figura 15. Prevalencia y porcentaje acumulativo de la diarrea en los primeros 12 meses de vida en la población de niños analizada. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013- Marzo 2015) (N= 357).

5.4 Diarrea y características sociodemográficas de la población en estudio

Las características sociodemográficas en ambas subpoblaciones de niños con diarrea y sin diarrea, no muestran diferencias significativas ($p > 0.05$) como se observa en la Tabla 11. Asimismo, realizando el análisis de regresión logística y de discriminación tampoco se observaron diferencias significativas (datos no mostrados).

Tabla 11. Características sociodemográficas de los niños con y sin diarrea. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS | POBLACIÓN TOTAL (N= 461) | | POBLACIÓN (N= 357) | | SUBPOBLACIÓN 1 (N= 186) | | SUBPOBLACIÓN 2 (N= 249) | | SUBPOBLACIÓN 3 (N= 107) | |
|-----------------------------------|-----------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|----------------------------|-------------------|
| | CD(N=275) N(%) | SD(N=186) N(%) | CD(N=275) N(%) | SD(N=186) N(%) | CD(N=95) N(%) | SD(N= 92) N(%) | CD(N= 46) N(%) | SD(N=203) N(%) | CD(N=59) N(%) | SD(N= 48) N(%) |
| Sexo masculino | 143(52,0) | 109(58,6) | 115(53,0) | 76(54,3) | 56(58,3) | 49(53,3) | 56(58,3) | 33(51,6) | 34(57,6) | 31(64,6) |
| Educación Madre (Primaria) | 50(18,2) | 31(16,7) | 32(14,7) | 17(12,1) | 15(15,8) | 12(13,0) | 7(15,2) | 28(13,7) | 9(15,3) | 7(14,5) |
| Eliminación adecuada de la basura | 233(84,7) | 148(79,6) | 184(84,8) | 113(80,7) | 82(85,4) | 73(79,3) | 82(85,4) | 54(84,4) | 54(91,5) | 43 (89,6) |
| Agua en el domicilio | 104(37,8) | 66(35,5) | 81(37,3) | 51(36,4) | 34(35,4) | 18(28,1) | 34(35,4) | 18(28,1) | 24(40,7) | 18(37,5) |
| Alcantarillado en el domicilio | 220(80,0) | 137(73,7) | 179(82,5) | 106(75,7) | 77(80,2) | 62(67,4) | 77(80,2) | 47(73,4) | 48(79,2) | 47(81,8) |
| Baño compartido | 90(32,7) | 76(40,9) | 70(32,3) | 63(45,0) | 41(42,7) | 30(32,6) | 41(42,7) | 20(31,3) | 28(47,5) | 17(35,4) |
| Edad madre < a 20 años | 51(18,5) | 38(20,4) | 38(17,5) | 29(20,7) | 18(18,8) | 17(18,5) | 18(18,8) | 11(17,2) | 11(18,6) | 9 (18,7) |

Subpoblación 1: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 5,7 meses y el grupo con diarrea con un promedio de 6,0 meses.

Subpoblación 2: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 2,9 meses y el grupo con diarrea un promedio de 2,4 meses.

Subpoblación 3: muestra de niños que registraron \geq de cuatro visitas de la población total que fue analizada para la presencia de norovirus; con promedio de edad de 5,0 meses en los niños sin diarrea y 5,6 meses con diarrea.

Prueba de regresión logística y de discriminación $P>0,05$: No se encuentran diferencias significativas entre las características sociodemográficos en las subpoblaciones con diarrea y sin diarrea.

5.5 Diarrea y características nutricionales, de inflamación y tipo de lactancia de la población en estudio

El análisis de las características nutricionales, de inflamación, lactancia y del registro concomitante de la ocurrencia de la diarrea, evaluados a lo largo del estudio, a diferentes tiempos (toma de muestra de sangre en la 2da, 6ta y 8va visita) se presenta en la tabla 12 donde se observó mediante la prueba discriminante, diferencias significativas entre la población con y sin diarrea para la variable inflamación aguda (PCR y AGP), lactancia exclusiva o principal y la lactancia parcial o pasada. En el análisis de riesgo relativo (RR), se encontró que la inflamación aguda medida por PCR y AGP, mostró un RR ajustado por edad y sexo de 2,2 (IC 95%: 1,5-3,1; $p= 0,001$) y 1,9 (1,3-2,9; $p= 0,004$) respectivamente. A su vez se observó un RR ajustado por edad y sexo para la lactancia exclusiva o principal de 0,7 (IC 95%: 0,5-0,9; $p= 0,006$) y la lactancia parcial o pasada de 1,4 (IC 95%: 1,0-1,9; $p= 0,032$).

Similar aproximación se realizó para el análisis de las tres subpoblaciones del estudio (1-3). El análisis en la subpoblación 1 (con promedio de edad de 5,7 meses en los niños sin diarrea y 6,0 meses en los niños con diarrea) mostró diferencias significativas para la variable inflamación aguda (PCR) con un RR ajustado por edad y sexo de 6,6 (IC 95%: 3,8-11,7; $p= 0,000$). A su vez, en la subpoblación 2 (con promedio de edad de 2,9 meses en los niños sin diarrea y 2,4 meses con diarrea) se encontró diferencias significativas para la inflamación aguda (PCR) con un RR ajustado por edad y sexo de 4,5 (IC 95%: 2,3-8,7; $p= 0,001$). Finalmente, en la subpoblación 3 (niños que registraron \geq de cuatro visitas; con promedio de edad de 5,0 meses en los niños sin diarrea y 5,6 meses con diarrea) se encontró diferencias significativas para la inflamación aguda (AGP) con un RR ajustado por edad y sexo de 6,4 (IC 95%: 2,7-15,2; $p= 0,002$).

Tabla 12. Factores del estado nutricional, inflamación y lactancia asociados con la enfermedad diarreica. Población total (N=461), subpoblación 1 (N= 186) y subpoblación 2 (N= 249). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)

| | Inflamación aguda | Población con diarrea N(%) | Población sin diarrea N(%) | Valor p | Razón de probabilidades ajustado IC (95%) | Riesgo relativo ajustado IC (95%) |
|-----------------|-------------------|----------------------------|----------------------------|---------|---|-----------------------------------|
| Población total | PCR | 25 (17,4) | 62 (7,3) | 0,001 | 2,7 (1,6-4,3) | 2,2 (1,5-3,1) |
| | AGP | 19 (13,8) | 46 (6,5) | 0,004 | 2,3 (1,3-4,0) | 1,9 (1,3-2,9) |
| Subpoblación 1 | PCR | 21 (65,6) | 2 (2,8) | 0,000 | 65,8 (13,5-321,0) | 65,8 (13,5-321,0) |
| Subpoblación 2 | PCR | 4 (13,3) | 2 (1,3) | 0,001 | 11,39(2,0-65,4) | 11,39(2,0-65,4) |
| Subpoblación 3 | AGP | 2(5,4) | 1 (0,3) | 0,002 | 17,3 (1,5-195,2) | 17,3 (1,5-195,2) |

| | | Población con diarrea N(%) | Población sin diarrea N(%) | Valor p | Razón de probabilidades ajustado IC (95%) | Riesgo relativo ajustado IC (95%) |
|-----------------|---------------------|----------------------------|----------------------------|---------|---|-----------------------------------|
| Población total | Lactancia parcial | 75 (15,6) | 313 (44,4) | 0,032 | 1,5 (1,0-2,1) | 1,4 (1,0-1,9) |
| | Lactancia exclusiva | 58 (42,0) | 387 (54,9) | 0,006 | 0,6 (0,4-0,2) | 0,7 (0,5-0,9) |

Subpoblación 1: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 5,7 meses y el grupo con diarrea con un promedio de 6,0 meses.

Subpoblación 2: muestra (pares madre-niño) de la población total que fue analizada para la presencia de patógenos entéricos (muestra de niños), donde el grupo sin diarrea tiene un promedio de 2,9 meses y el grupo con diarrea un promedio de 2,4 meses.

Subpoblación 3: muestra de niños que registraron \geq de cuatro visitas de la población total que fue analizada para la presencia norovirus; con promedio de edad de 5,0 meses en los niños sin diarrea y 5,6 meses con diarrea.

En la figura 16 se observa como era de esperar que la lactancia exclusiva va disminuyendo a medida que aumenta la edad del niño. En contraste, la lactancia parcial incrementa con la edad a partir de los 5 a 6 meses y coincide con el incremento de la diarrea cuyo primer pico se observó a los 6 meses de edad.

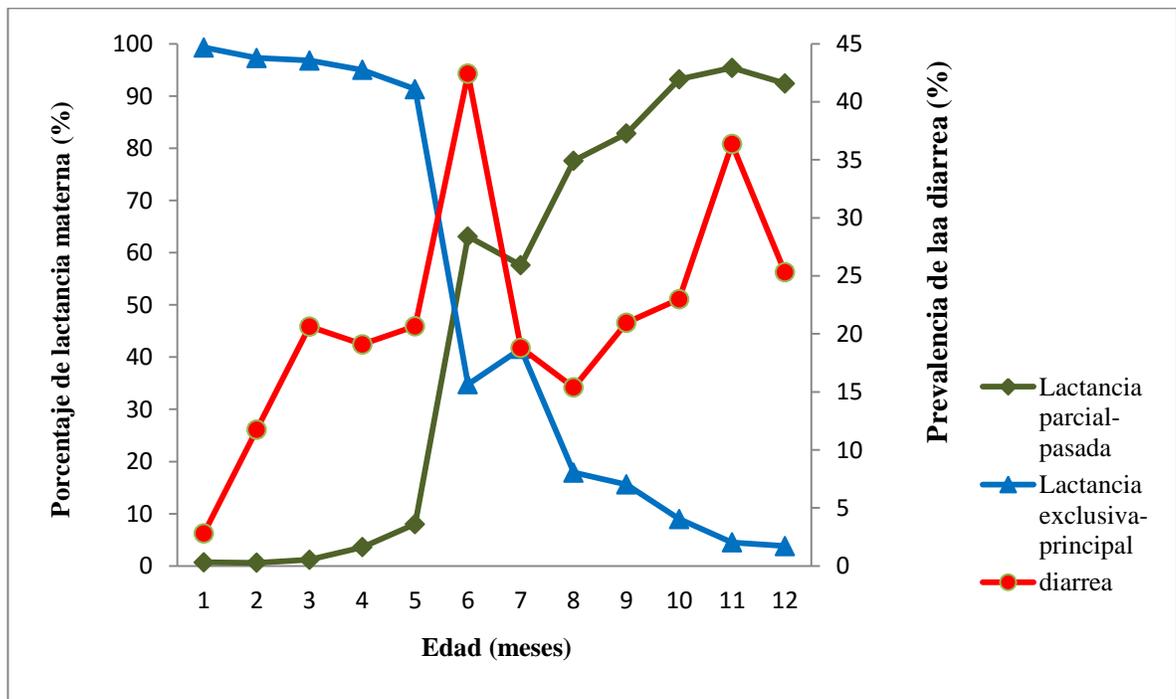


Figura 16. Prevalencia de la diarrea y la lactancia parcial y exclusiva en los 12 primeros meses de vida de la población de niños. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

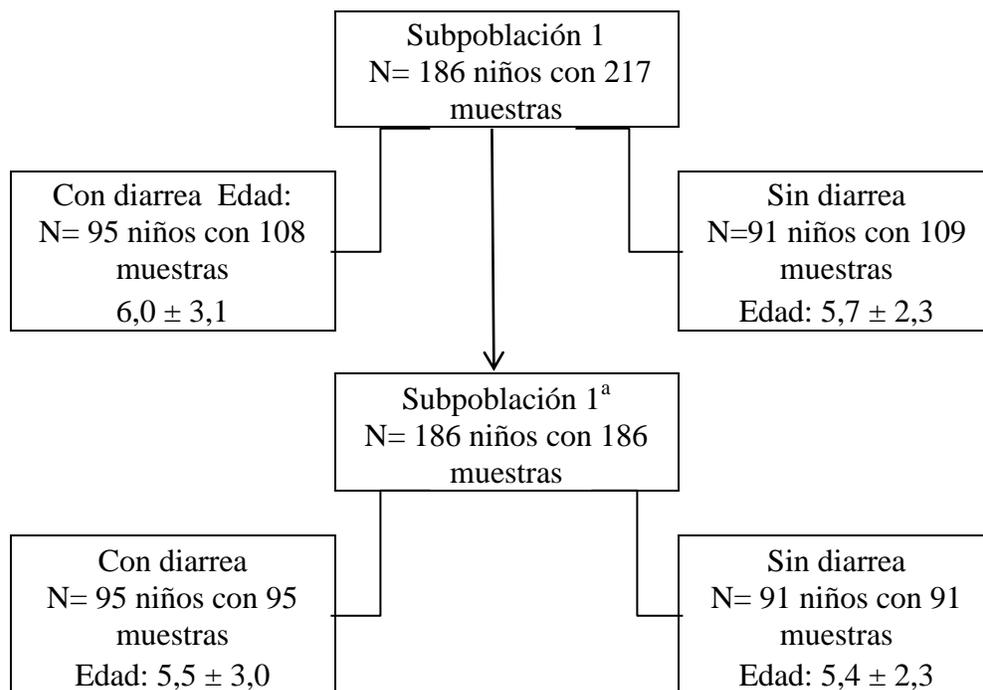
5.6 Diarrea y patógenos entéricos

5.6.1 Subpoblación 1

5.6.1.1 Prevalencia de patógenos entéricos y diarrea: DEC, norovirus y rotavirus

Población en estudio para el análisis de DEC, norovirus y rotavirus, en base al grupo de muestras disponibles que fueron evaluadas conjuntamente para estos patógenos (materiales y métodos), se incluyó un tamaño muestral de 217 muestras de heces correspondientes a 186 niños comprendidos entre los 2 a 12 meses de edad (subpoblación 1). De estas; 108 son muestras de diarrea provenientes de 95 niños (1,2 muestras/niño) y 109 son muestras no diarreicas provenientes de 91 niños (1,2 muestras/niño) (Figura 17). Las muestras diarreicas corresponden a muestras recolectadas durante el evento de diarrea y corresponden en un 87,9% (95/108) y 12,0% (13/108) a un episodio (promedio de edad: $5,5 \pm 3,0$) y a dos o más episodios (promedio de edad $7,6 \pm 2,2$) de diarrea respectivamente. A su vez, las muestras no diarreicas, corresponden a niños que en el día de la visita programada (donde se recolectó la muestra), la madre reportó la ausencia de episodio de diarrea tanto en el momento de la visita como 15 días previos a la misma. Estas muestras corresponden en un 83,5% (91/109) y 16,5% (18/109) a una visita (promedio de edad: $5,4 \pm 2,3$) y a dos o más visitas (promedio de edad: $7,1 \pm 2,2$) respectivamente (Figura 17).

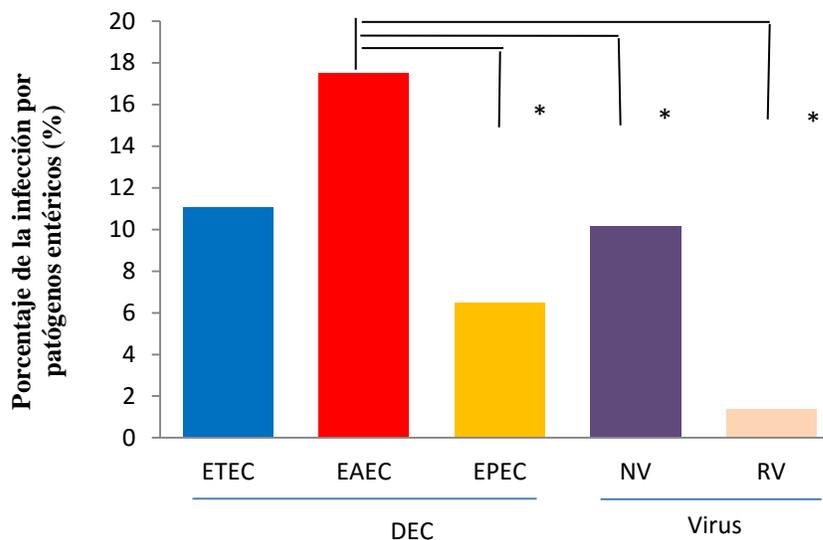
De la subpoblación 1 se derivó la subpoblación 1^a que comprende a 186 muestras recolectadas durante una visita (un punto de muestreo).



- (a) Subpoblación 1 abarca un total de 186 niños con un total de 217 muestras que fueron recolectadas en su mayoría a lo largo de dos visitas.
- (b) Subpoblación 1ª abarca a 186 niños con un total de 186 muestras que corresponden a una sola visita en cualquier punto del muestreo.

Figura 17. Características generales de la subpoblación 1-1ª. Distribución de las muestras en relación a la presencia o ausencia de episodios de diarrea, con datos que incluyen la edad del niño y el número de visitas registradas. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz – Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

En la Figura 18 se muestra la frecuencia de infección por patógenos entéricos encontrada en la subpoblación 1, se observa que el 46,5% (101/217) de la población analizada presentó infección con al menos alguno de los patógenos testados, de los cuales el 35,0% (76/217) representa DEC principalmente EAEC (17,5%) (38/217) y ETEC (11,1%) (24/217), en contraste a la infección viral (11,5%) (25/217) principalmente causada por norovirus (10,1%) (22/217), debido a que rotavirus alcanzó solo un 1,4% (3/217). Se observan diferencias significativas en las frecuencias de infección entre diferentes patógenos entéricos, como EAEC respecto a las otras categorías de DEC y las infecciones virales.



*p<0.05

Figura 18. Porcentaje de infección por patógenos entéricos en las muestras de heces de los niños de la subpoblación 1. (ETE: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

En la Figura 19 y Tabla 13, se muestra la distribución de patógenos entéricos testados en la subpoblación 1 que presentó diarrea, en contraste a la que no reportó diarrea. En el 48,1% (52/108) de las muestras con diarrea analizadas, se identificó al menos a uno de

los cinco patógenos testados en contraste al 32,1% (35/109) encontrado en las muestras de heces sin diarrea, con una fracción atribuible de 27,9%, observándose diferencias entre ambos tipos de muestras ($p=0,016$). De igual manera, la proporción de muestras negativas a los patógenos testados en el grupo con diarrea y sin diarrea fue de 51,9% (56/116) y 67,9% (74/109) respectivamente, observándose diferencias entre ambos tipos de muestras ($p= 0,016$). La presencia de patógenos se asoció con la diarrea como un factor de riesgo, con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,4 (IC 95%: 1,2–1,7; $p= 0,016$). A su vez, la ausencia de patógenos, como un factor protector en contra de la diarrea con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 0,7 (IC 95%: 0,6-0,9; $p= 0,016$) (Tabla 13). Del mismo modo, este análisis se realizó para la población 1ª (análisis de una sola visita), observándose un patrón similar (Tabla 13).

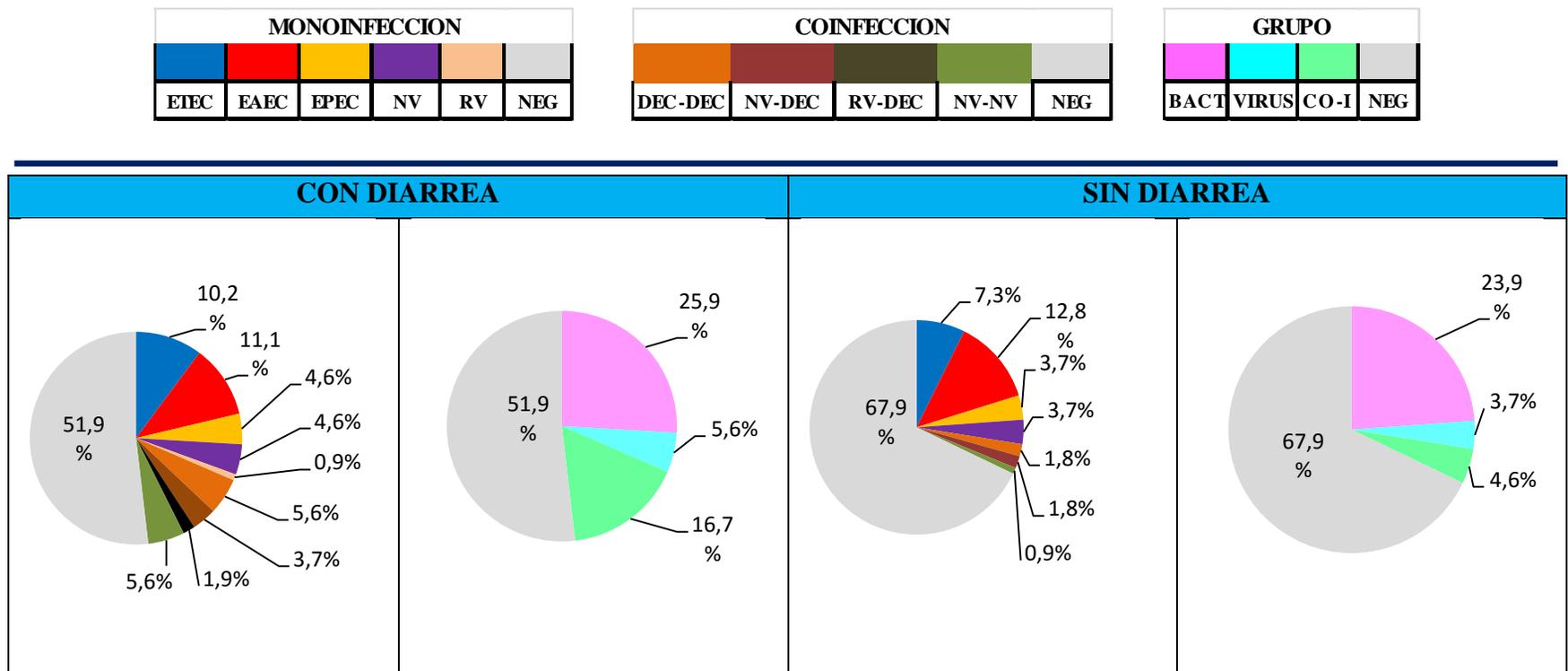


Figura 19. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces de niños con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 1: (N= 186 niños, 217 muestras de heces). (EIEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatógena*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, NEG: Negativo, BACT: Bacterias, CO-I: coinfecciones). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). A: monoinfecciones y coinfecciones específicas entre patógenos, B: patógenos bacterianos, virales y coinfecciones entre patógenos en general.

Tabla 13. Valores de razón de probabilidades y riesgo relativo ajustados por edad y sexo de las muestras con diarrea y sin diarrea en relación a la presencia o ausencia de patógenos en las subpoblaciones 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces), 1^a(N= 186 niños, 186 muestras de heces). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto-La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | Patógenos | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor P | Razón de probabilidades ajustado IC (95%) | Riesgo relativo ajustado IC (95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|---|-----------|----------------------|----------------------|--------------|---|---|-------------------------|--|
| Subpoblación 1 (1 y ≥ 2 visitas) | (+) | 52 (48,1) | 35 (32,1) | 0,016 | 2,0 (1,4-3,0) | 1,4 (1,2-1,7) | 27,9 (5,2-50,6) | 13,5 |
| | (-) | 56 (51,9) | 74 (67,9) | | 0,5 (0,3-0,7) | 0,7 (0,6-0,9) | | |
| Subpoblación 1 ^a (1 visita) | (+) | 46 (48,4) | 28 (30,8) | 0,014 | 2,1 (1,4-3,3) | 1,4 (1,2-1,7) | 29,6 (6,0-53,2) | 14,3 |
| | (-) | 49 (51,6) | 63 (69,2) | | 0,5 (0,3-0,7) | 0,7 (0,5-0,9) | | |

5.6.1.2 Características clínicas de los cuadros diarreicos

Se realizó la comparación de las características clínicas del cuadro diarreico de los casos en cuyas muestras se detectó al menos a un enteropatógeno, en contraste a los que fueron negativos a los enteropatógenos testados. Como se observa en la tabla 14, el promedio del valor del puntaje de severidad modificado de Vesikari en los casos positivos, fue mayor que el observado en los casos negativos, observándose diferencias al límite elegido de la significancia ($p=0,060$) mediante la prueba de T de student. Las características clínicas que mostraron diferencias significativas fueron la presencia de vómitos ($p= 0,035$) y de fiebre ($p=0,007$) que sugiere la presencia de procesos infecciosos (Tabla 14).

Tabla 14. Características de los episodios diarreicos en la presencia y ausencia de patógenos (N= 108). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015)

| | Diarrea con patógenos | Diarrea sin patógenos | Valor p |
|----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------|
| N° de deposiciones | 5,5±2,3 | 5,1±2,2 | 0,412 |
| N° de vómitos | 2,4±1,3 | 2,1±1,3 | 0,413 |
| Presencia de sangre | 0,1±0,2 | 0,1±0,2 | 0,520 |
| Presencia de vómito | 0,6±0,5 | 0,4±0,5 | 0,035 |
| Presencia de fiebre | 0,6±0,5 | 0,4±0,5 | 0,007 |
| Puntaje de severidad | 3,3±1,9 | 2,6±1,6 | 0,060 |

5.6.1.3 Número, promedio y tipo de patógenos entéricos en las muestras con diarrea y sin diarrea

El análisis del número y promedio de patógenos entéricos presentes en las muestras con y sin diarrea en la subpoblación 1 se presenta en la tabla 15A. Se observó que la frecuencia de la infección con un solo patógeno en las muestras con diarrea [31,5% (34/108)] respecto a la encontrada en las muestras no diarreicas [27,5% (30/109)] no es significativamente diferente. Sin embargo, la frecuencia de muestras con dos o más patógenos es 3,6 veces mayor en las muestras con diarrea [16,7% (18/108)] en contraste

a las muestras sin diarrea [4,6% (5/109)], observándose una diferencia significativa entre ambas ($p=0,004$). Asimismo, se observaron diferencias significativas ($p=0,024$) entre el promedio de patógenos entéricos encontrados entre las muestras con diarrea ($0,7 \pm 0,8$) respecto a las sin diarrea ($0,4 \pm 0,6$). Así, el presentar dos o más patógenos representó un factor de riesgo asociado a la diarrea con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,7 (IC 95%: 1,4-2,0; $p= 0,004$) (Tabla 15A).

En la población 1^a (N= 186 niños y 186 muestras) en las muestras con diarrea, se observó un patrón similar donde existen diferencias significativas entre el número de patógenos entéricos ($p= 0,010$) y el promedio de los mismos ($p= 0,020$) entre las muestras con diarrea con relación a las que no presentaron diarrea. Encontrándose que, la presencia de más de 1 patógeno representó un factor de riesgo asociado a la diarrea con un RR ajustado por edad y sexo de 1,7 (IC 95%: 1,4-2,0, $p= 0,010$) (Tabla 15B).

Tabla 15. Número de patógenos entéricos encontrados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea. A: subpoblación 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces). B: subpoblación 1^a (N= 186 niños, 186 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | Nro. de patógenos | CON DIARREA N(%) | SIN DIARREA N(%) | Valor p | Razón de probabilidades IC (95%) | Riesgo relativo IC (95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|---|-------------------|---------------------|---------------------|--------------|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|--|
| A | 1 | 34(31,5) | 30(27,5) | 0,696 | 0,6 (0,2-1,2) | 0,7 (0,3-1,1) | -- | -- |
| | ≥2 | 18(16,7) | 5(4,6) | 0,004 | 4,2 (2,4-9,3) | 1,7 (1,4-2,0) | 40,7(13,1-68,3) | 6,8 |
| | Promedio | 0,7 ± 0,8 | 0,4 ± 0,6 | 0,024 | | | | |
| B | 1 | 31 (32,6) | 24 (26,4) | 0,350 | 1,4 (0,9-2,2) | 1,2 (0,9-1,4) | -- | -- |
| | ≥2 | 15 (15,8) | 4 (4,4) | 0,010 | 4,1 (2,1-9,9) | 1,7 (1,4-2,0) | 39,3(9,3-69,3) | 6,2 |
| | Promedio | 0,6 ± 0,8 | 0,4 ± ,6 | 0,020 | | | | |

En la subpoblación 1, el análisis de cada patógeno por separado ya sea como mono infección o cuando está presente en coinfecciones o en ambas (cualquier infección), en las muestras con y sin diarrea se presenta en la Tabla 16. Como se observa, si bien los patógenos entéricos testados se presentaron en general (a excepción de la mono infección por EAEC) en mayor proporción en las muestras no diarreicas que en las diarreicas, únicamente norovirus a nivel de cualquier infección, mostro un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,4(IC 95%:1,9-2,2; p= 0,068), cercano al límite de significancia elegido. De igual manera, en la subpoblación 1^a, norovirus (cualquier infección) presento un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,5(IC 95%:1,2-1,8) muy cercano a la significancia (p= 0,059) (Tabla 17). En ambas subpoblaciones (1 y 1^a), el análisis de las infecciones virales (NV y RV), aun pese a la baja frecuencia de RV circulante mostro significancia a nivel de cualquier infección con valor de RR ajustado por edad y sexo de 1.5 y 1.4 respectivamente. Este patrón contrastó con el observado para DEC (tablas 16-17).

En general, el análisis del conjunto de las coinfecciones (CO-I total), estas mostraron significancia en la asociación con la diarrea. Así, al agrupar todas las CO-I se encontró significancia tanto en la subpoblación 1 (p=0,004) y subpoblación 1^a (p=0.010), observándose valores de RR ajustados por edad y sexo de 1,7 (IC 95%:1,4-2,0) y 1,6 (IC 95%:1,4-2,0) respectivamente (Tablas 16-17).

El análisis de las CO-I relacionadas a los patógenos virales bacterianos y la diarrea, mostro que las CO-I de norovirus mostraron en la subpoblación 1, un valor de RR ajustado por edad y sexo significativo de 1,6 (IC 95%:1,3-1,9; p= 0,043). En ambas subpoblaciones (1 y 1^a), las CO-I donde están presentes los virus presentaron significancia con valores de 0,015 y de 0,053. Respecto a las bacterias, EAEC presentó significancia tanto en las subpoblaciones 1 (p=0,026) como 1^a (p=0,053), con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,6 (IC 95%:1,3-2,0) y 1,6 (IC 95%:1,2-1,9) respectivamente. Asimismo, las CO-I en las que está presente DEC, presentaron valores

de significancia de asociación con la diarrea tanto en las subpoblaciones 1 ($p=0,036$) y 1^a ($p=0,053$), con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,6 (IC 95%:1,3-2,0) y 1,6 (IC 95%:1,2-1,9) respectivamente.

Tabla 16. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces), con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo (ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, CO-I: coinfecciones). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|-------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--|
| DEC | CUALQUIER INFECCION | 40 (37,0) | 30 (27,5) | 0,134 | 1,6(1,0-2,4) | 1,2(1,0-1,5) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 28 (25,9) | 26 (23,9) | 0,724 | 1,1(0,7-1,7) | 1,1(0,8-1,3) | -- | -- |
| | COI-DEC | 12 (11,1) | 4 (3,7) | 0,036 | 3,3(1,7-10,0) | 1,6(1,2-1,9) | 36,3(2,4-70,3) | 4,0 |
| | DEC-DEC | 6 (5,6) | 2 (1,8) | 0,171 | 3,2(1,1-8,8) | 1,5(1,0-2,1) | -- | -- |
| | DEC-VIRUS | 6 (5,6) | 2 (1,8) | 0,171 | 3,2(1,2-8,8) | 1,5(1,1-1,9) | -- | -- |
| ETEC | CUALQUIER INFECCION | 15(13,9) | 9 (8,3) | 0,186 | 1,8(0,9-4,2) | 1,3(0,9-1,7) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 11 (10,2) | 8 (7,3) | 0,458 | 1,4(0,7-3,3) | 1,2(0,8-1,6) | -- | -- |
| | COI-ETEC | 4 (3,7) | 1 (0,9) | 0,212 | 4,2(0,9-7,7) | 1,6(1,0-2,2) | -- | -- |
| | ETEC-DEC | 4 (3,7) | 1 (0,9) | 0,212 | 4,2 (0,9-7,7) | 1,6(1,0-2,2) | -- | -- |
| EAEC | CUALQUIER INFECCION | 23 (21,3) | 17 (15,6) | 0,279 | 1,4(1,0-2,4) | 1,2(1,0-1,5) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 12 (11,1) | 14 (12,8) | 0,694 | 0,8(0,5-1,6) | 0,9(0,7-1,2) | -- | -- |
| | COI-EAEC | 11 (10,2) | 3 (2,8) | 0,026 | 4,0(1,9-13,5) | 1,6(1,3-2,0) | 39,2(4,7-73,7) | 4,0 |
| | EAEC-DEC | 5 (4,6) | 1 (0,9) | 0,119 | 5,2(1,3-8,2) | 1,7(1,2-2,2) | -- | -- |
| | EAEC-VIRUS | 6 (5,6) | 2 (1,8) | 0,171 | 3,2(1,2-8,8) | 1,5(1,1-1,9) | -- | -- |
| EPEC | CUALQUIER INFECCION | 8 (7,4) | 6 (5,5) | 0,568 | 1,4(0,7-3,4) | 1,2(0,8-1,6) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 5 (4,6) | 4 (3,7) | 0,748 | 1,3(0,5-4,1) | 1,1(0,7-1,6) | -- | -- |
| | COI-EPEC | 3 (2,8) | 2 (1,8) | 0,683 | 1,5(0,5-4,4) | 1,2(0,7-2,1) | -- | -- |
| | EPEC-DEC | 3 (2,8) | 2(1,8) | 0,643 | 1,5(0,5-4,4) | 1,2(0,7-2,1) | -- | -- |
| VIRUS | CUALQUIER INFECCION | 18 (16,7) | 7 (6,4) | 0,018 | 2,9(1,7-5,9) | 1,5(1,3-1,8) | 34,9(6,0-63,8) | 5,8 |
| | INFECCION UNICA | 6 (5,6) | 4 (3,7) | 0,508 | 1,5(0,7-6,3) | 1,2(0,9-1,8) | -- | -- |
| | COI-VIRUS | 12 (11,1) | 3 (2,8) | 0,015 | 4,4(2,2-8,6) | 1,7(1,4-2,0) | 40,6(7,8-73,4) | 4,5 |
| | VIRUS-DEC | 6 (5,6) | 2 (1,8) | 0,171 | 3,2 (1,2-9,0) | 1,5(1,1-1,9) | -- | -- |
| | VIRUS-VIRUS | 6 (5,6) | 1 (0,9) | 0,065 | 6,4(4,1-9,2) | 1,8(1,6-2,0) | 43,3(-0,6-87,3) | 2,4 |
| NV | CUALQUIER INFECCION | 15 (13,9) | 7 (6,4) | 0,068 | 2,4(1,4-4,8) | 1,4(1,2-1,7) | 30,1(-2,3-62,4) | 4,2 |
| | INFECCION UNICA | 5 (4,6) | 4 (3,7) | 0,748 | 1,3(0,5-5,3) | 1,1(0,6-1,7) | -- | -- |
| | COI-NV | 10 (9,3) | 3 (2,8) | 0,043 | 0,4 (1,8-7,1) | 1,6(1,3-1,9) | 37,6(1,1-74,0) | 3,5 |
| | NV-DEC | 4 (3,7) | 2 (1,8) | 0,445 | 2,1(0,7-6,2) | 1,4(0,8-1,8) | -- | -- |
| | NV-NV | 6 (5,6) | 1 (0,9) | 0,065 | 6,4(4,1-9,2) | 1,8(1,6-2,0) | -- | -- |
| RV | CUALQUIER INFECCION | 3 (2,8) | 0 (0,0) | 0,122 | NA | 2,0(1,9-2,2) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 1 (0,9) | 0 (0,0) | 0,498 | NA | 2,0(1,9-2,2) | -- | -- |
| | COI-RV | 2 (1,9) | 0 (0,0) | 0,247 | NA | 2,0(1,9-2,2) | -- | -- |
| | RV-DEC | 2 (1,9) | 0 (0,0) | 0,247 | NA | 2,0(1,9-2,2) | -- | -- |
| | CO-I TOTAL | 18 (16,7) | 5 (4,6) | 0,004 | 4,2(2,4-9,1) | 1,7(1,4-2,0) | 40,7(13,1-68,3) | 6,8 |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea

Tabla 17. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 1^a (N= 186 niños, 186 muestras de heces) con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo (ETEC: *E. coli* enterotoxigénica, EAEC: *E. coli* enteroagregativa, EPEC: *E. coli* enteropatogénica, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, CO-I: coinfecciones). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|-------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---|
| DEC | CUALQUIER INFECCION | 36 (37,9) | 25 (27,5) | 0,130 | 1,6(1,1-2,5) | 1,3(1,0-1,5) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 26 (27,4) | 22 (24,2) | 0,619 | 1,1(0,8-1,9) | 1,1(0,9-1,3) | -- | -- |
| | COI-DEC | 10 (10,5) | 3 (3,3) | 0,053 | 3,5(1,6-11,3) | 1,6(1,2-1,9) | 36,1(-0,5-72,8) | 3,8 |
| | DEC-DEC | 5 (5,3) | 1 (1,1) | 0,212 | 5,0(1,5-7,7) | 1,7(1,2-2,1) | -- | -- |
| | DEC-VIRUS | 5 (5,3) | 2 (2,2) | 0,445 | 2,5(0,8-7,2) | 1,4(0,9-1,8) | -- | -- |
| ETEC | CUALQUIER INFECCION | 12 (12,6) | 8 (8,8) | 0,398 | 1,5(0,8-3,7) | 1,2(0,9-1,6) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 9 (9,5) | 8 (8,8) | 0,872 | 1,0(0,5-2,6) | 1,0(0,7-1,5) | -- | -- |
| | COI-ETEC | 3 (3,2) | 0 (0,0) | 0,246 | NA | 2,0(1,8-2,2) | 49,7(-7,3-106,8) | 1,6 |
| | ETEC-DEC | 3 (3,2) | 0 (0,0) | 0,246 | NA | 2,0(1,8-2,2) | 49,7(-7,3-106,8) | 1,6 |
| EAEC | CUALQUIER INFECCION | 22 (23,2) | 14 (15,4) | 0,180 | 1,7(1,0-3,0) | 1,3(1,0-1,6) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 12 (12,6) | 11 (12,1) | 0,910 | 1,1(0,6-2,1) | 1,0(0,7-1,4) | -- | -- |
| | COI-EAEC | 10 (10,5) | 3 (3,3) | 0,053 | 3,5(1,6-11,3) | 1,6(1,2-1,9) | 36,1(-0,5-72,8) | 3,8 |
| | EAEC-DEC | 5 (5,3) | 1 (1,1) | 0,212 | 5,0(1,5-7,7) | 1,7(1,2-2,1) | -- | -- |
| | EAEC-VIRUS | 5 (5,3) | 2 (2,2) | 0,445 | 2,5(0,9-7,2) | 1,4(0,9-1,8) | -- | -- |
| EPEC | CUALQUIER INFECCION | 7 (7,4) | 4 (4,4) | 0,390 | 1,7(0,8-6,1) | 1,3(0,9-1,7) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 5 (5,3) | 3 (3,3) | 0,721 | 1,6(0,6-6,2) | 1,2(0,8-1,7) | -- | -- |
| | COI-EPEC | 2 (2,1) | 1 (1,1) | 1,000 | 1,9(0,8-2,3) | 1,3(0,9-2,1) | -- | -- |
| | EPEC-DEC | 2 (2,1) | 1 (1,1) | 1,000 | 1,9(0,8-2,3) | 1,3(0,9-2,1) | -- | -- |
| VIRUS | CUALQUIER INFECCION | 15 (15,8) | 5 (5,5) | 0,023 | 3,2(0,8-7,0) | 1,4(0,9-1,9) | 35,7(4,8-66,7) | 5,6 |
| | INFECCION UNICA | 5 (5,3) | 2 (2,2) | 0,445 | 2,5(0,9-6,8) | 1,4(0,9-2,0) | -- | -- |
| | COI-VIRUS | 10 (10,5) | 3 (3,3) | 0,053 | 3,4(1,7-6,7) | 1,6(1,3-1,8) | 36,1(-0,5-72,8) | 3,8 |
| | VIRUS-DEC | 5 (5,3) | 2 (2,2) | 0,445 | 2,5(0,9-7,2) | 1,4(0,9-1,8) | -- | -- |
| | VIRUS-VIRUS | 5 (5,3) | 1 (1,1) | 0,212 | 5,0(2,9-7,4) | 1,7(1,5-1,9) | -- | -- |
| NV | CUALQUIER INFECCION | 13 (13,7) | 5 (5,5) | 0,059 | 2,7(1,5-6,1) | 1,5(1,2-1,8) | 32,4(-1,2-66,1) | 4,4 |
| | INFECCION UNICA | 4 (4,2) | 2 (2,2) | 0,683 | 2,0(0,6-5,9) | 1,3(0,8-2,0) | -- | -- |
| | COI-NV | 9 (9,5) | 3 (3,3) | 0,087 | 3,1(1,5-6,1) | 1,5(1,2-1,8) | 34,1(-4,9-73,1) | 3,2 |
| | NV-DEC | 4 (4,2) | 2 (2,2) | 0,683 | 2,0(0,6-5,8) | 1,3(0,7-1,7) | -- | -- |
| | NV-NV | 5 (5,1) | 1 (1,1) | 0,212 | 5,0(2,9-7,7) | 1,7(1,5-1,9) | -- | -- |
| RV | CUALQUIER INFECCION | 2 (2,1) | 0 (0,0) | 0,498 | NA | 2,0(1,8-2,1) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 1 (1,1) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,1) | -- | -- |
| | COI-RV | 1 (1,1) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,1) | -- | -- |
| | RV-DEC | 1 (1,1) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,1) | -- | -- |
| | CO-I TOTAL | 15 (15,8) | 4 (4,4) | 0,010 | 4,1(2,2-9,2) | 1,6(1,4-2,0) | 39,3(9,3-69,4) | 6,2 |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea

5.6.1.4 Coinfecciones entre patógenos testados

En un análisis más a detalle de las CO-I, en el total de muestras, se observó que en la subpoblación 1, el porcentaje encontrado de las mismas entre los patógenos entéricos testados alcanzó un 10,6% (23/217), donde se observaron; COI- DEC (7,4%), COI-virus (6,9%), DEC-DEC (3,7%), virus-virus, (3,2%). Entre las COI de categorías individuales de DEC se observó que las COI-EAEC fueron más frecuentes que el resto de los patotipos de DEC y presentaron frecuencias similares a COI-NV. Asimismo, las coinfecciones NV-NV y NV-EAEC fueron mayores a las coinfecciones ETEC-EAEC, ETEC-EPEC, EPEC-EAEC.

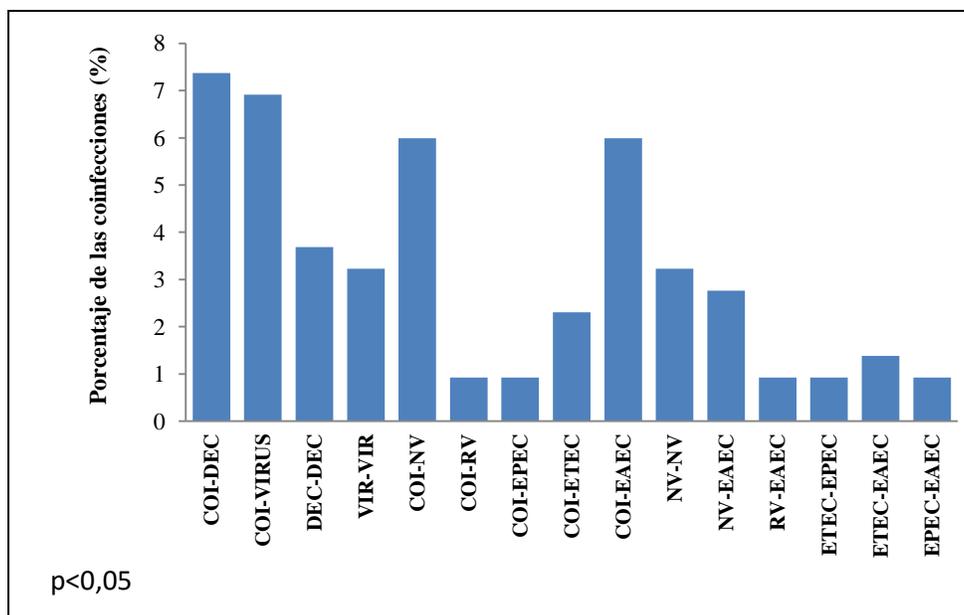


Figura 20. Coinfecciones por patógenos entéricos en el total de las muestras analizadas en la subpoblación 1 (N= 186 niños, 217 muestras de heces), Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, COI-NV: coinfección de norovirus [comprende la infección mixta de diferentes genogrupos de NV (NV-NV) y/o la coinfección NV-EAEC], CO-I: coinfecciones entre patógenos entéricos). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.1.5 Distribución de patógenos en niños ≤ 6 y > 6 meses

El análisis de la distribución de patógenos testados, al agrupar por edad las muestras de la subpoblación 1 entre niños ≤ 6 meses (N= 111 muestras) y > 6 meses (N= 106 muestras), se presenta en la Figura 21A, donde se observa que en el grupo etáreo ≤ 6 meses, los patotipos EAEC y ETEC se presentaron en mayor proporción que los otros patógenos (EPEC, NV) y que las coinfecciones. A su vez, en el grupo etáreo > 6 meses, se observa el incremento de la infección tanto por NV, como de las CO-I en general (Figura 21A). Se observaron diferencias significativas ($p= 0.002$) en la distribución de patógenos dentro de cada grupo.

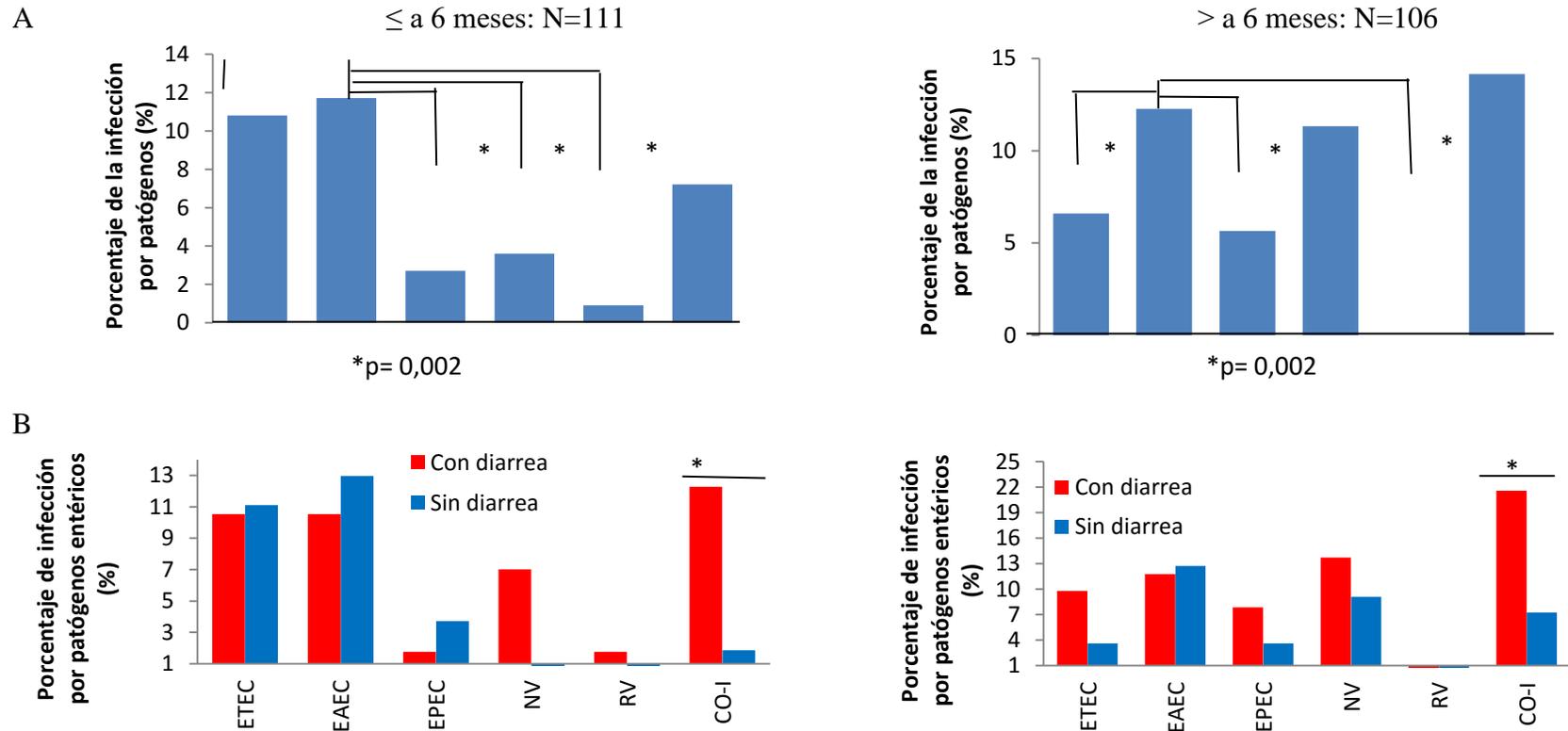


Figura 21. Patógenos entéricos identificados en las muestras de niños de la subpoblación 1 agrupadas por edad: ≤ a 6 meses y > de 6 meses. A: Porcentaje de infección por patógenos entéricos en niños ≤ a 6 meses (N=111) y > de 6 meses (N=106). B: Porcentaje de infección por patógenos entéricos en las muestras de niños ≤ a 6 meses con diarrea (N= 57) y sin diarrea (N=54) y de niños > de 6 meses con diarrea (N=51) y sin diarrea (N= 55). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015). (ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, CO-I: coinfecciones entre patógenos entéricos).

En las muestras de niños menores a 6 meses, al comparar todos los patógenos testados en las muestras con y sin diarrea, se observó que tanto NV como RV están presentes únicamente en las muestras con diarrea (Figura 21B), siendo NV el único que mostró significancia estadística al borde del límite ($p= 0,057$), mostrándose asociado a la diarrea con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 2,0 (IC 95%: 1,9-2,3). Asimismo, las coinfecciones entre patógenos fueron significativas al límite ($p= 0,061$) con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,8 (IC 95%: 1,4-2,2). Por otra parte, se observó que tanto los patotipos individuales de DEC (ETEC, EAEC, EPEC) como los agrupados (DEC) presentan proporciones relativamente similares tanto en las muestras con diarrea y sin diarrea sin observarse diferencias significativas entre éstas (Figura 21B, Tabla 18A).

En las muestras de niños mayores a 6 meses, similar análisis mostró que solo las coinfecciones entre patógenos analizados presentaron significancia ($p= 0,035$) con un valor de RR ajustado por edad y sexo asociado a la presencia de diarrea de 1,7 (IC 95%: 1,3-2,2) (Tabla 19). Por otra parte y en contraste al grupo de niños \leq a 6 meses, se observó que patotipos individuales de DEC (ETEC, EPEC) como los agrupados (DEC) presentan proporciones mayores en las muestras con diarrea que en muestras no diarreicas, sin observarse sin embargo, diferencias significativas entre éstas (Tabla 19B, Figura 21B).

Tabla 18. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños \leq a 6 meses (N= 111 muestras de heces), con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo.(ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, CO-I: coinfecciones). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | | Con diarrea ^a N ^o (%) | Sin diarrea ^b N ^o (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|-------|---------------------|--|--|---------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---|
| DEC | CUALQUIER INFECCION | 18 (17,5) | 16 (16,5) | 0,824 | 1,1(0,6-1,9) | 1,1(0,8-1,4) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 13 (14,4) | 15 (13,6) | 0,547 | 0,8(0,4-1,4) | 0,9(0,6-1,2) | -- | -- |
| | COI-DEC | 5 (3,1) | 1 (2,9) | 0,207 | 5,1(1,8-7,4) | 1,7(1,3-2,2) | -- | -- |
| | DEC-DEC | 3 (2,1) | 1 (1,9) | 0,619 | 2,9(0,7-5,3) | 1,5(0,9-2,1) | -- | -- |
| | DEC-VIRUS | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| ETEC | CUALQUIER INFECCION | 8 (14,0) | 7 (13,0) | 0,869 | 1,1(0,5-2,9) | 1,1(0,8-1,5) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 6 (10,5) | 6 (11,1) | 0,921 | 0,9(0,4-2,8) | 1,0(0,6-1,5) | -- | -- |
| | COI-ETEC | 2 (3,5) | 1 (1,9) | 1,000 | 1,9(0,4-4,2) | 1,3 (0,6-2,1) | -- | -- |
| | ETEC-DEC | 2 (3,5) | 1 (1,9) | 1,000 | 1,9(0,4-4,2) | 1,3 (0,6-2,1) | -- | -- |
| EAEC | CUALQUIER INFECCION | 11 (19,3) | 7 (13,0) | 0,365 | 1,6(0,8-3,7) | 1,2(0,9-1,6) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 6 (10,5) | 7 (13,0) | 0,690 | 0,8(0,4-1,8) | 0,9(0,6-1,3) | -- | -- |
| | COI-EAEC | 5 (8,8) | 0 (0,0) | 0,057 | NA | 2,0(1,9-2,3) | -- | -- |
| | EAEC-DEC | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 0,244 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | EAEC-VIRUS | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 1,9(1,8-2,2) | -- | -- |
| EPEC | CUALQUIER INFECCION | 2 (3,5) | 3 (5,6) | 0,673 | 0,6(0,3-2,0) | 0,8(0,5-1,3) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 1 (1,8) | 2 (3,7) | 0,611 | 0,5(0,2-1,1) | 0,6(0,4-1,0) | -- | -- |
| | COI-EPEC | 1 (1,8) | 1 (1,9) | 1,000 | 0,9(0,4-1,1) | 1,0(0,6-2,1) | -- | -- |
| | EPEC-DEC | 1 (1,8) | 1 (1,9) | 1,000 | 0,9(0,4-1,1) | 1,0(0,6-2,1) | -- | -- |
| VIRUS | CUALQUIER INFECCION | 7 (12,3) | 0 (0,0) | 0,013 | NA | 2,1(1,9-2,3) | 51,9(13,7-90,2) | 6,4 |
| | INFECCION UNICA | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 0,244 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | COI-VIRUS | 4 (7,0) | 0 (0,0) | 0,119 | NA | 2,0(1,9-2,2) | -- | -- |
| | VIRUS-DEC | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | VIRUS-VIRUS | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| NV | CUALQUIER INFECCION | 5 (8,8) | 0 (0,0) | 0,057 | NA | 2,0(1,9-2,3) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | COI-NV | 3 (5,3) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | NV-DEC | 1 (1,8) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | NV-NV | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| RV | CUALQUIER INFECCION | 2 (3,5) | 0 (0,0) | 0,496 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 1 (1,8) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | COI-RV | 1 (1,8) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | RV-DEC | 1 (1,8) | 0 (0,0) | 1,000 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | CO-I TOTAL | 7 (12,3) | 1 (1,9) | 0,061 | 7,4(2,6-10,3) | 1,8(1,4-2,2) | -- | -- |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea. ^aN= 57, ^bN=54

Tabla 19. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños > a 6 meses (N= 106 muestras de heces), con infección única, coinfección y ambas. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. (ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, CO-I: coinfecciones). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | | Con diarrea N ^a (%) | Sin diarrea N ^b (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|-------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---|
| DEC | CUALQUIER INFECCION | 22 (43,1) | 14 (25,5) | 0,055 | 2,2(1,2-4,3) | 1,5(1,1-1,9) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 15 (29,4) | 11 (20,0) | 0,260 | 1,7(0,8-3,4) | 1,3(0,9-1,7) | -- | -- |
| | COI-DEC | 7 (13,7) | 3 (5,5) | 0,191 | 2,8(1,0-9,6) | 1,5(1,0-2,1) | -- | -- |
| | DEC-DEC | 3 (5,9) | 1 (1,8) | 0,350 | 3,4(0,6-6,1) | 1,6(0,8-2,4) | -- | -- |
| | DEC-VIRUS | 4 (7,8) | 2 (3,6) | 0,425 | 2,3(0,7-7,0) | 1,4(0,8-1,9) | -- | -- |
| ETEC | CUALQUIER INFECCION | 7(13,7) | 2 (3,6) | 0,085 | 4,2(1,2-13,0) | 1,7(1,1-2,4) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 5 (9,8) | 2 (3,6) | 0,258 | 02,9(0,9-9,0) | 1,5(0,9-2,3) | -- | -- |
| | COI-ETEC | 2 (3,9) | 0 (0,0) | 0,229 | NA | 2,1(1,9-2,5) | -- | -- |
| | ETEC-DEC | 2 (3,9) | 0 (0,0) | 0,229 | NA | 2,1(1,9-2,5) | -- | -- |
| EAEC | CUALQUIER INFECCION | 12 (23,5) | 10 (18,2) | 0,498 | 1,4(0,7-2,8) | 1,2(0,8-1,6) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 6 (11,8) | 7 (12,3) | 0,880 | 0,9(0,3-2,1) | 1,0(0,5-1,4) | -- | -- |
| | COI-EAEC | 6 (11,8) | 3 (5,5) | 0,307 | 2,3(0,9-7,8) | 1,4(0,9-2,0) | -- | -- |
| | EAEC-DEC | 2 (3,9) | 1 (1,8) | 0,607 | 2,2(0,5-4,0) | 1,4(0,7-2,4) | -- | -- |
| | EAEC-VIRUS | 4 (7,8) | 2 (3,6) | 0,425 | 2,3(0,7-7,0) | 1,4(0,7-1,9) | -- | -- |
| EPEC | CUALQUIER INFECCION | 6 (11,8) | 3 (5,5) | 0,307 | 2,3(0,6-7,2) | 1,4(0,9-2,1) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 4 (7,8) | 2 (3,7) | 0,425 | 2,3(0,6-7,2) | 1,4(0,7-2,2) | -- | -- |
| | COI-EPEC | 2 (3,9) | 1 (1,8) | 0,607 | 2,2(0,4-4,3) | 1,4(0,6-2,3) | -- | -- |
| | EPEC-DEC | 2 (3,9) | 1 (1,8) | 0,607 | 2,2(0,4-4,3) | 1,4(0,6-2,3) | -- | -- |
| VIRUS | CUALQUIER INFECCION | 11 (21,6) | 7 (12,7) | 0,302 | 1,9(1,0-4,1) | 1,3(1,0-1,8) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 3 (5,9) | 4 (7,3) | 1,000 | 0,7(0,2-3,1) | 0,9(0,4-1,6) | -- | -- |
| | COI-VIRUS | 8 (15,7) | 3 (5,4) | 0,119 | NA | 2,0(1,9-2,2) | -- | -- |
| | VIRUS-DEC | 3 (5,9) | 2 (3,6) | 0,670 | NA | 2,0(1,8-2,2) | -- | -- |
| | VIRUS-VIRUS | 5 (9,8) | 1 (1,8) | 0,103 | 5,9(3,8-8,8) | 1,8(1,6-2,1) | -- | -- |
| NV | CUALQUIER INFECCION | 10 (19,6) | 7 (12,7) | 0,335 | 1,7(0,9-3,6) | 1,3(0,9-1,7) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 3 (5,9) | 4 (7,3) | 1,000 | 0,7(0,2-3,1) | 0,9(0,4-1,6) | -- | -- |
| | COI-NV | 7 (13,7) | 3 (5,5) | 0,191 | 2,8(1,3-5,9) | 1,5(1,1-2,0) | -- | -- |
| | NV-DEC | 3 (5,9) | 2 (3,6) | 0,670 | 1,7(0,4-5,6) | 1,3(0,6-1,8) | -- | -- |
| | NV-NV | 4 (7,8) | 1 (1,8) | 0,193 | 4,6(2,8-7,2) | 1,7(1,4-2,0) | -- | -- |
| RV | CUALQUIER INFECCION | 1 (2,0) | 0 (0,0) | 0,481 | NA | 2,1(1,8-2,4) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 0 (0,0) | 0 (0,0) | -- | -- | -- | -- | -- |
| | COI-RV | 1 (2,0) | 0 (0,0) | 0,481 | NA | 2,1(1,8-2,4) | -- | -- |
| | RV-DEC | 1 (2,0) | 0 (0,0) | 0,481 | NA | 2,1(1,8-2,4) | -- | -- |
| | CO-I TOTAL | 11 (21,6) | 4 (7,3) | 0,035 | 3,5(1,7-8,0) | 1,7(1,3—2,2) | 40,0(2,8-77,3) | 8,6 |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea. ^aN= 51, ^bN= 55

5.6.1.6 *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC): Perfil de genotipos de toxinas

En la subpoblación 1, el análisis de la infección por ETEC portadora de diferentes genotipos de toxinas mostró que existe una proporción 2 veces mayor de los genotipos ETEC (stp) y ETEC (lt-stp), en relación al genotipo ETEC-lt (Figura 22A).

Por otra parte, el análisis entre el perfil de toxinas observado en las muestras con diarrea en relación a las sin diarrea, reveló que ETEC (lt-stp) se presentó en mayor proporción (5,2%) en las muestras con diarrea que en las no diarreicas (1,8%) (Figura 22B).

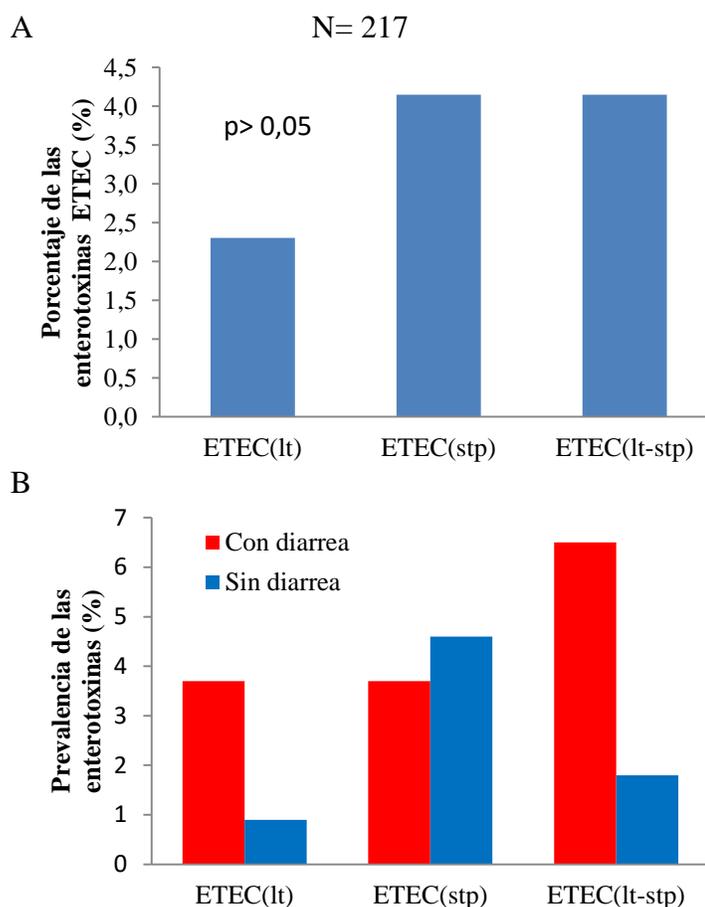


Figura 22. Genotipos de las toxinas de cepas ETEC circulantes en la subpoblación 1. A: Total de muestras. B: Muestras con y sin diarrea de los niños. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.1.7 Genogrupos de norovirus: GI y GII

En cuanto a la distribución de genogrupos GI y GII de norovirus en la subpoblación 1 se observó que el porcentaje de infección por NV(GII) (3,2%), fue mayor a la infección por NV(GI) (0,9) y similar a la infección mixta entre GI y GII [NV(GI/GII)] (Figura 23A).

Por otra parte, se observó que tanto NV(GII) como la infección mixta con ambos genogrupos [NV(GI/GII)] se encuentran en mayor proporción en las muestras con diarrea que en las no diarreicas, observándose para la infección mixta NV(GI/GII) diferencia estadística muy cercana al límite de la significancia ($p=0,065$) con un valor de RR ajustado por edad y sexo asociado a la diarrea de 1,8 (IC 95%: 1,6-1,9) (Figura 23B).

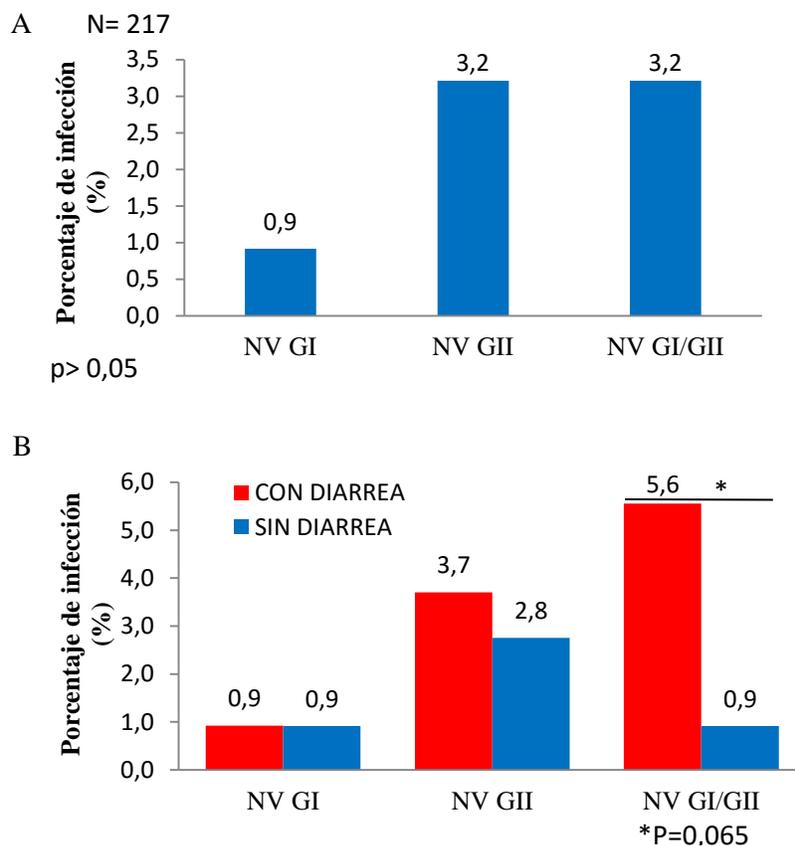


Figura 23. Prevalencia de la infección con genogrupos GI y GII de norovirus circulantes en la subpoblación 1. A: total de muestras. B: muestras con diarrea y sin diarrea. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.1.8 Porcentaje acumulativo de la infección por patógenos entéricos en la subpoblación 1: DEC y norovirus

En la Figura 24A, se observa el porcentaje acumulativo de la infección tanto por DEC como por NV en la subpoblación 1, donde a los 6 meses de edad la infección por DEC alcanzó rápidamente un 48,3% en contraste a NV (25,0%). Posteriormente a edades >6 meses, a los 8 meses NV mostró un incremento brusco del porcentaje acumulativo en 3 veces, hasta alcanzar un 81,3%, sobrepasando a DEC (67,2%).

Asimismo, el análisis desglosado de los diferentes patotipos de DEC y de norovirus (Figura 24B) mostró que entre todos los patotipos de DEC, la infección por ETEC se presentó tempranamente y ya al llegar a los 6 meses alcanzó el mayor porcentaje acumulativo (63,2%). Este patrón contrasta con EPEC (25,0%) que se encuentra en esta edad en el rango alcanzado por NV. EPEC luego incrementó su porcentaje acumulativo entre los 6-9 meses de edad alcanzando un 60%. A la edad de 10 meses de edad el porcentaje acumulativo de todos los patotipos de DEC y de norovirus alcanzó al menos el 90%.

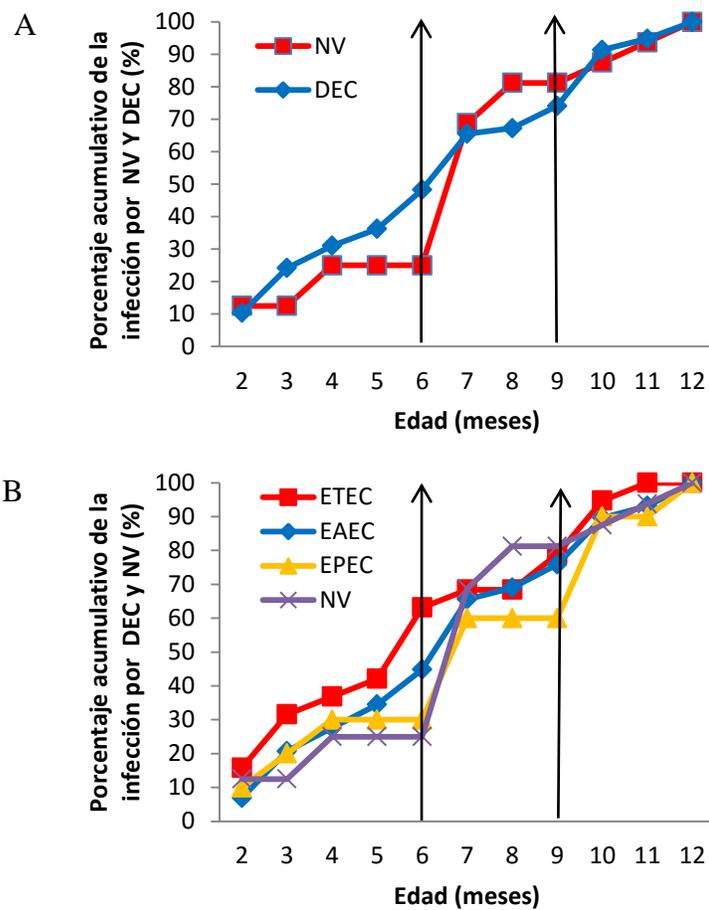


Figura 24. Distribución del porcentaje acumulativo de la infección por patógenos entéricos (DEC y NV) a lo largo del primer año de vida: A: NV y DEC, B: NV y los diferentes patotipos de DEC en muestras de la subpoblación 1. (ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

El análisis en la subpoblación 1 de la infección de cada patógeno por separado o agrupado (DEC), en las muestras con diarrea y sin diarrea, se presenta en la Figura 25 (A-E). En relación a norovirus (Figura 25A), se observó que el virus se presentó a lo largo de los primeros seis meses de vida asociado a la diarrea. Posteriormente, a mayor edad el virus incrementó su porcentaje acumulativo en la subpoblación, tanto en el grupo con diarrea como en el sin diarrea. Así, a los 6 meses de edad el porcentaje acumulativo

de infección por norovirus en el grupo con diarrea alcanzo a 36,4%, mientras que en el grupo sin diarrea de esta subpoblación, no se registraron infecciones de NV. A los 9 meses de edad, se encontró un porcentaje acumulativo de infección por norovirus de 81.8% y 80.0% en el grupo con diarrea y sin diarrea respectivamente. De esta manera, en el rango de edad de 2 a 6 meses se observó diferencia estadística significativa ($p=0,013$) mediante la prueba de Kolmogorof-Smirnov, en el porcentaje acumulativo de infección por norovirus entre el grupo con diarrea y sin diarrea.

En relación a DEC, en la Figura 25B se observa que el porcentaje acumulativo de la infección por DEC durante los primeros 6 meses de edad, alcanzo el 55.6% en las muestras sin diarrea, mientras que en las muestras con diarrea el 41.9%. Posteriormente, el porcentaje acumulativo de la infección alcanza a los 9 meses de edad un 88,9% y 61,3% en las muestras sin y con diarrea respectivamente, encontrándose una diferencia significativa ($p=0,039$) entre el 7-mo y 10-mo mes mediante el análisis de Kolmogorof-Smirnov.

El análisis de cada patotipo de DEC de forma individual, mostró en el caso de ETEC que a los 6 meses de edad, el porcentaje acumulativo de la infección por ETEC alcanzó un 54,5% y 75,0% en muestras con y sin diarrea respectivamente, en contraste a los 9 meses de edad donde un 72,7% y 87,5% corresponden a muestras con y sin diarrea respectivamente (Figura 25C). Por lo que, mediante el análisis de Kolmogorof-Smirnov, se observó una diferencia significativa ($p=0,037$) entre el 6-to a 9-mo mes.

El análisis para EAEC mostró en los primeros meses de edad un incremento similar del porcentaje acumulativo de la infección en ambos grupos (con y sin diarrea). La infección por EAEC alcanzó a los 6 meses un 42,9% y 46,7% y a los 9 meses un 57,1% y 93,3% en el grupo con diarrea y sin diarrea respectivamente. Se observó una diferencia significativa ($p=0,012$), mediante la prueba de Kolmogorof-Smirnov, entre el 7-mo a 12-vo mes, entre el grupo con diarrea y sin diarrea (Figura 25D).

El análisis para EPEC mostró a los 6 meses de edad un porcentaje acumulativo de infección en el grupo con diarrea de 16,7%, el mismo que fue menor al encontrado en el grupo sin diarrea (50,0%). Posteriormente, al alcanzar los 9 meses este porcentaje alcanzó un 50,0% y 75,0% en el grupo con y sin diarrea respectivamente. Se observó una diferencia significativa ($p= 0,012$), mediante la prueba de Kolmogorof-Smirnov, entre el 2-do a 6-to mes, entre el grupo con diarrea y sin diarrea (Figura 25E).

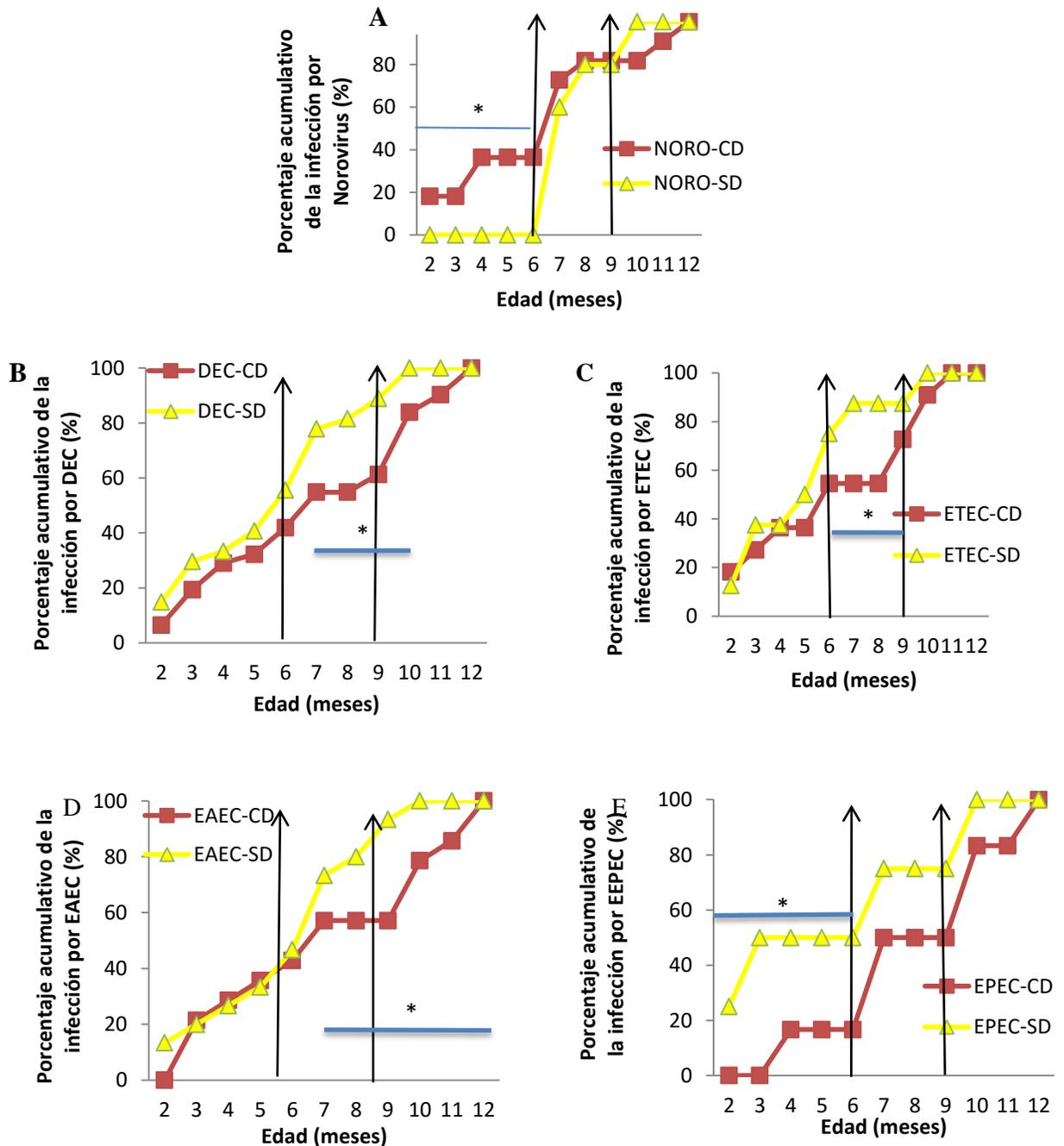


Figura 25. Distribución porcentual acumulativo de norovirus y de los patotipos de DEC detectados por mes en muestras diarreas y no diarreas de la subpoblación 1 (N= 226 muestras de heces) (ETEC: *E. coli* enterotoxigénica, EAEC: *E. coli* enteroagregativa, EPEC: *E. coli* enteropatogénica, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.2 Subpoblación 2

5.6.2.1 Prevalencia de patógenos entéricos y diarrea: DEC, norovirus y rotavirus

La subpoblación 2 comprende a niños hasta los 5 meses de edad, donde en base a la disponibilidad de muestras, se ha incluido -comparando con la subpoblación 1- un mayor número de muestras sin diarrea (pareadas por edad con las muestras diarreicas). Por lo que, en esta población se analizó las mismas muestras diarreicas presentes en la subpoblación 1 (en número y procedencia) hasta los 5 meses incluidos, pero incrementando el número de muestras no diarreicas. De esta manera, la razón entre muestras no diarreicas sobre diarreicas alcanzo a un valor de 6.1 (287/47). Asimismo, a diferencia de la subpoblación 1 la subpoblación 2 comprende niños evaluados desde el primer mes de vida (Tabla 20), donde el promedio de edad de la subpoblación analizada fue de $2,4 \pm 1,1$ en contraste al promedio de edad de $5,7 \pm 2,7$.

Tabla 20. Características generales de la subpoblación 2. Distribución de las muestras en relación a la presencia o ausencia de episodios de diarrea del grupo etéreo de 1 a 5 meses. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| SUBPOBLACION 2 1 a 5 MESES (N= 249 niños con 334 muestras) | | | | |
|--|---|-------------------|---|-------------------|
| Meses de edad | CON DIARREA (N= 46 niños con 47 muestras) Edad: $2,9 \pm 1,0$ | | SIN DIARREA (N= 203 niños con 287 muestras) Edad: $2,4 \pm 1,1$ | |
| | N(%) ^a | N(%) ^b | N(%) ^a | N(%) ^b |
| 1 | 0 (0) | 0 (0) | 31 (10,8) | 31 (100) |
| 2 | 8(17,0) | 8(9,6) | 75 (26,1) | 75 (90,4) |
| 3 | 18 (38,3) | 18 (14,1) | 110 (38,3) | 110 (85,9) |
| 4 | 14 (29,8) | 14 (25,5) | 42 (14,6) | 42 (75,0) |
| 5 | 7(14,9) | 7(18,9) | 30 (10,5) | 30 (81,1) |

a= Porcentaje calculado sobre el total de 47 y 287 de muestras, con y sin diarrea respectivamente.

b= Porcentaje calculado sobre el total de muestras colectadas en cada intervalo de edad (1er mes: N=31; 2do mes: N=83; 3er mes: N= 228; 4to mes: N= 56; 5to mes: N= 37)

En la Figura 26 se muestra la frecuencia de infección por patógenos entéricos encontrada en la subpoblación 2. Se observa que el 32,9% (110/334) de la subpoblación analizada presentó infección con al menos alguno de los patógenos testados, de los cuales el 31,4% (105/334) representa DEC principalmente ETEC (14,7%) (49/334) y EAEC (12,3%) (41/334) en contraste a la infección viral (5,1%) (17/334) principalmente causada por norovirus (4,5%) (15/334), debido a que rotavirus alcanzó solo un 0,6% (2/334). Se observó que existen diferencias significativas ($p= 0,000$) en las frecuencias de infección entre diferentes patógenos entéricos.

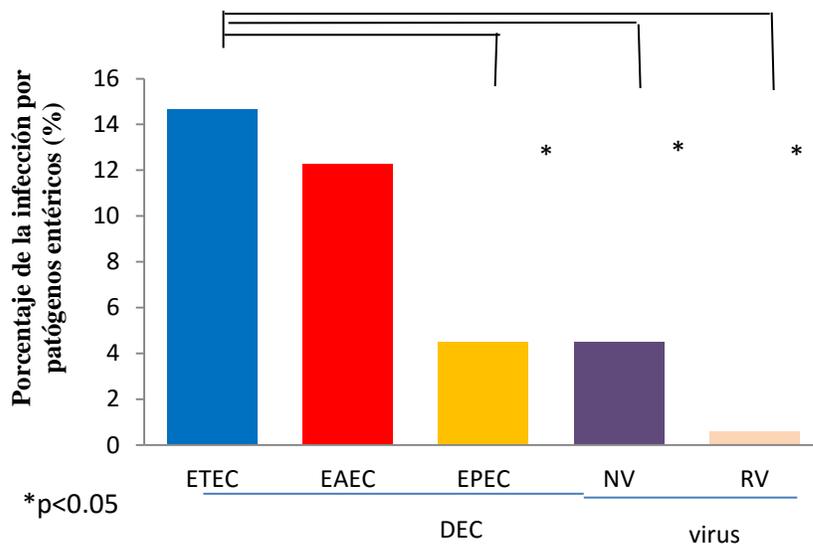


Figura 26. Porcentaje de infección por patógenos entéricos en las muestras de heces de los niños de la subpoblación 1. (ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.2.2 Número, promedio y tipo de patógenos entéricos en las muestras con diarrea y sin diarrea

El análisis del número y promedio de patógenos entéricos presentes en las muestras con y sin diarrea en la subpoblación 2 se presenta en la tabla 20. Se observó que la proporción de la infección con un solo patógeno en las muestras con diarrea [27,7% (13/47)] respecto a las no diarreicas [28,2% (81/287)] no es significativamente diferente.

Sin embargo, la proporción de muestras con dos o más patógenos es 3,7 veces mayor en las muestras con diarrea [14,9% (7/47)] en contraste a las muestras sin diarrea [3,1% (9/287)], observándose una diferencia significativa entre las mismas ($p=0,013$). Asimismo, el promedio de patógenos entéricos encontrados entre las muestras con diarrea ($0,6 \pm 0,7$) respecto a las sin diarrea ($0,4 \pm 0,6$) muestra diferencias cercanas al límite de la significancia elegido ($p=0,069$). Así, el presentar dos o más patógenos representó un factor de riesgo asociado a la diarrea con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 3,5 (IC 95%: 1,8-5,8; $p= 0,000$) (Tabla 21).

Tabla 21. Número de patógenos entéricos encontrados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea de la subpoblación 2 (N= 249 niños, 334 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| Número de patógenos | CON DIARREA N(%) 47 | SIN DIARREA N(%) 287 | Valor p | Razón de probabilidades IC (95%) | Riesgo relativo IC (95%) | Fracción atribuible (%) IC (95%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|---------------------|------------------------|-------------------------|--------------|-------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|--|
| 1 | 13(27,7) | 81(28,2) | 0,937 | 1,0(0,5-1,6) | 1,0(0,6-1,5) | -- | -- |
| ≥2 | 7(14,9) | 9(3,1) | 0,000 | 5,4(2,1-14,2) | 3,5(1,8-5,8) | 71,3(31,3-111,2) | 10,6 |
| Promedio | 0,6 ± 0,7 | 0,4 ± 0,6 | 0,069 | | | | |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea

En la Figura 27 se muestra la distribución de patógenos entéricos testados en la subpoblación 2 que presentó diarrea, en contraste a la sin diarrea. En el 42,6% (20/47) de las muestras con diarrea analizadas, se identificó al menos a uno de los cinco patógenos testados en contraste al 31,4% (90/287) en las muestras de heces sin diarrea, no encontrándose diferencia significativa entre ellas.

El análisis por cada patógeno entérico identificado en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea de la subpoblación 2, ya sea a nivel de mono-infección, coinfección o en conjunto (cualquier infección), se presenta en la Figura 27 y Tabla 22, donde se observaron diferencias estadísticas significativas para infección por rotavirus (cualquier infección) ($p= 0,013$) con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 7,4 (IC 95%: 6,0-9,5). Se observó también en este grupo etéreo, que norovirus ($p= 0,058$), y EAEC ($p= 0,042$) mostraron significancia a nivel de cualquier infección. Asimismo, el conjunto de las coinfecciones fueron significativas ($p= 0,000$) con un RR ajustado por edad y sexo de 3,2 (IC 95%: 1,1-6,4). Todas las CO-I virales analizadas en conjunto fueron significativas. Las CO-I entre DEC en conjunto fueron también significativas ($p= 0,016$) así como las CO-I donde estaba presente EAEC ($p= 0,004$) (Tabla 25).

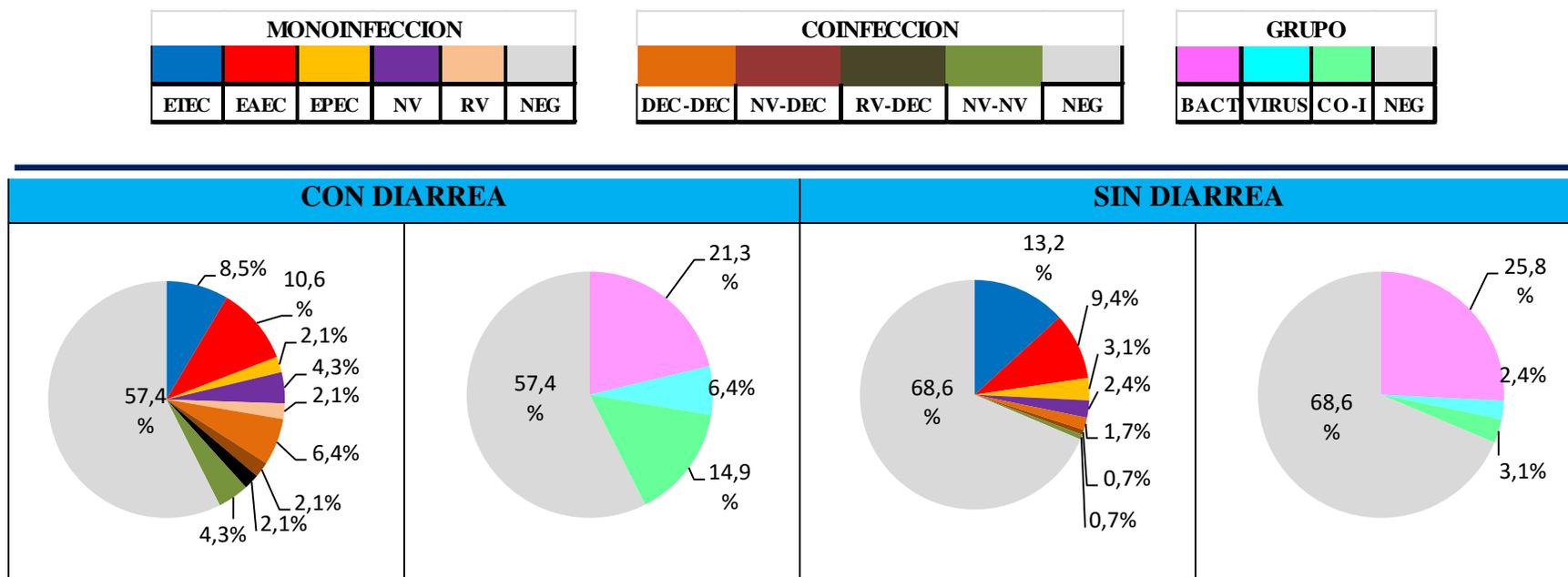


Figura 27. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces de niños con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 2. A: niños con diarrea (N= 46 niños, 47 muestras de heces). B: niños sin diarrea (N= 203 niños, 287 muestras de heces). (ETEC: *E. coli* enterotoxigénica, EAEC: *E. coli* enteroagregativa, EPEC: *E. coli* enteropatogénica, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, NEG: Negativo, BACT: Bacterias, CO-I: coinfecciones). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

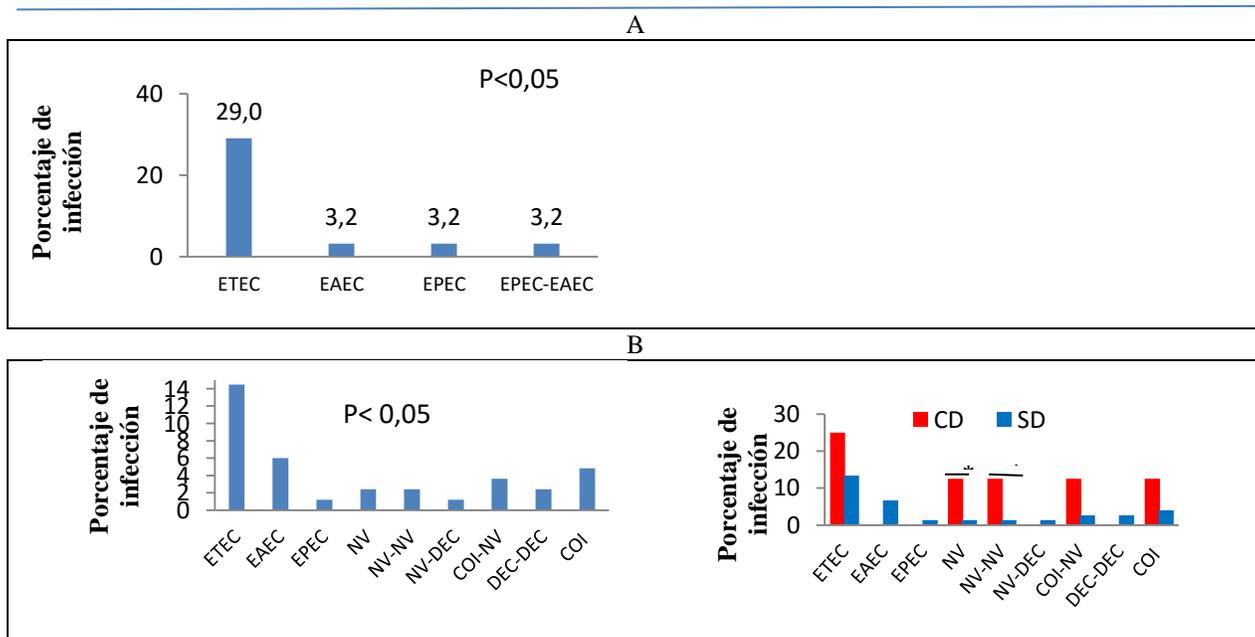
Tabla 22. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños de hasta 5 meses (N= 249 niños, 334 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatogénica*, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, CO-I: coinfecciones entre patógenos entéricos. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|-------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------|------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---|
| DEC | CUALQUIER INFECCION | 15 (31,9) | 81 (28,2) | 0,604 | 1,2(0,7-2,1) | 1,2(0,7-1,9) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 10 (21,3) | 74 (25,8) | 0,509 | 0,8(0,4-1,4) | 0,8(0,4-1,3) | -- | -- |
| | COI-DEC | 5 (10,6) | 7 (2,4) | 0,016 | 4,8(1,6-13,1) | 3,2(1,5-5,4) | 68,7(20,6-116,8) | 7,3 |
| | DEC-DEC | 3 (6,4) | 5 (1,7) | 0,088 | 3,9(1,0-14,0) | 2,8(1,0-5,2) | 64,0(-1,0-129,1) | 4,1 |
| | DEC-VIRUS | 2 (4,3) | 2 (0,7) | 0,097 | 6,3(1,5-22,1) | 3,7(1,5-8,1) | -- | -- |
| ETEC | CUALQUIER INFECCION | 6 (12,8) | 43 (15,0) | 0,691 | 0,8(0,3-1,7) | 0,9(0,3-1,6) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 4 (8,5) | 38 (13,2) | 0,365 | 0,6(0,2-1,3) | 0,7(0,2-1,3) | -- | -- |
| | COI-ETEC | 2 (4,3) | 5(1,7) | 0,257 | 2,5(0,7-12,3) | 2,1(0,8-4,9) | -- | -- |
| | ETEC-DEC | 2 (4,3) | 4 (1,4) | 0,201 | 3,1(0,9-18,4) | 2,4(0,9-5,7) | -- | -- |
| | ETEC-VIRUS | 0 (0,0) | 1 (0,3) | 1,000 | NA | 1,2(1,1-1,2) | -- | -- |
| EAEC | CUALQUIER INFECCION | 10 (21,3) | 31 (10,8) | 0,042 | 2,2(1,1-4,2) | 1,9(1,1-3,1) | 48,2(1,6-94,8) | 10,3 |
| | INFECCION UNICA | 5 (10,6) | 27 (9,4) | 0,790 | 1,2(0,4-2,5) | 1,1(0,5-2,1) | -- | -- |
| | COI-EAEC | 5 (10,6) | 4 (1,4) | 0,004 | 8,4(2,7-31,7) | 4,3(2,3-6,7) | 76,7(35,3-118,2) | 8,2 |
| | EAEC-DEC | 3 (6,4) | 3 (1,0) | 0,039 | 6,5(1,5-27,9) | 3,7(1,4-6,3) | 73,2(17,0-129,3) | 4,7 |
| | EAEC-VIRUS | 2 (4,3) | 1 (0,3) | 0,053 | 2,7(2,7-25,3) | 4,9(2,3-8,7) | 79,6(20,3-138,9) | 3,4 |
| EPEC | CUALQUIER INFECCION | 2 (4,3) | 13 (4,5) | 1,000 | 0,9(0,4-2,7) | 1,0(0,4-2,2) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 1(2,1) | 9 (3,1) | 1,000 | 0,7(0,4-2,7) | 0,7(0,4-2,2) | -- | -- |
| | COI-EPEC | 1(2,1) | 4 (1,4) | 0,534 | 1,5(0,9-7,4) | 1,4(0,9-4,1) | -- | -- |
| | EPEC-DEC | 1(2,1) | 3 (1,0) | 0,456 | 2,1(1,2-12,1) | 1,8(1,1-4,7) | -- | -- |
| | EPEC-VIRUS | 0 (0,0) | 1 (0,3) | 1,000 | NA | 1,2(1,1-1,2) | -- | -- |
| VIRUS | CUALQUIER INFECCION | 7 (14,9) | 11 (3,8) | 0,007 | 4,4(1,9-10,5) | 3,1(1,7-5,0) | 67,5(25,0-110,0) | 10,1 |
| | INFECCION UNICA | 3 (6,4) | 7 (2,4) | 0,154 | 2,7(0,8-8,9) | 2,2(0,8-4,3) | -- | -- |
| | COI-VIRUS | 4 (8,5) | 4 (1,4) | 0,016 | 6,6(1,8-30,2) | 3,8(1,6-7,0) | 73,6(24,8-122,4) | 6,3 |
| | VIRUS-DEC | 2 (4,3) | 2 (0,7) | 0,097 | 6,3(1,6-21,8) | 3,7(1,5-8,1) | 72,7(4,2-141,3) | 3,1 |
| | VIRUS-VIRUS | 2 (4,3) | 2 (0,7) | 0,097 | 6,3(1,4-25,1) | 3,7(1,4-8,3) | 72,7(4,2-141,3) | 3,1 |
| NV | CUALQUIER INFECCION | 5(10,6) | 11 (3,8) | 0,058 | 3,0(1,2-7,2) | 2,4(1,2-4,1) | 57,7(1,9-113,6) | 6,1 |
| | INFECCION UNICA | 2 (4,3) | 7 (2,4) | 0,369 | 1,8(0,6-6,0) | 1,6 (0,6-3,6) | -- | -- |
| | COI-NV | 3 (6,4) | 4 (1,4) | 0,061 | 4,8(1,3-22,4) | 3,2(1,2-6,5) | 68,6(7,9-129,4) | 4,4 |
| | NV-DEC | 1 (2,1) | 2(0,7) | 0,366 | 3,1(1,3-7,5) | 2,4(1,3-7,9) | -- | -- |
| | NV-NV | 2 (4,3) | 2 (0,7) | 0,097 | 6,3(1,4-25,1) | 3,7(1,4-8,3) | 72,7(4,2-141,3) | 3,1 |
| RV | CUALQUIER INFECCION | 2 (4,3) | 0 (0,0) | 0,019 | NA | 7,4(6,0-9,5) | 86,5(38,1-134,8) | 3,7 |
| | INFECCION UNICA | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 0,141 | NA | 7,2(5,8-9,2) | 86,2(17,9-154,4) | 1,8 |
| | COI-RV | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 0,141 | NA | 7,2(5,9-9,5) | 86,2(17,9-154,4) | 1,8 |
| | RV-DEC | 1 (2,1) | 0 (0,0) | 0,141 | NA | 7,2(5,9-9,5) | 86,2(17,9-154,4) | 1,8 |
| | CO-I | 7(14,9) | 9(3,1) | 0,003 | 5,4(2,1-15,7) | 3,5(1,9-5,9) | 71,3(31,3-111,2) | 10,6 |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea

5.6.2.3 Distribución de patógenos en los 5 primeros meses de vida

Como se observa en la Figura 28 y Tabla 23, ya en el primer mes de vida, pese a no registrarse cuadro de diarrea alguno, se encontraron patógenos entéricos (DEC) y coinfecciones en las muestras sin diarrea, presentándose ETEC en mayor proporción que EAEC, EPEC. En el 2do mes, se observó el incremento de EAEC y la aparición de norovirus, donde ETEC continúa siendo el patotipo más frecuente ($p= 0,005$). A esta edad se observó la aparición de nuevas coinfecciones. Por otra parte, tanto norovirus de forma individual como dentro de las coinfecciones es más frecuente en las muestras con diarrea. En el 3er mes de edad, las coinfecciones de DEC (ETEC-EAEC y RV-EAEC) fueron más frecuentes en las muestras diarreicas. Finalmente en el 4to y 5to mes persistieron los patotipos de DEC y el incremento de las coinfecciones.



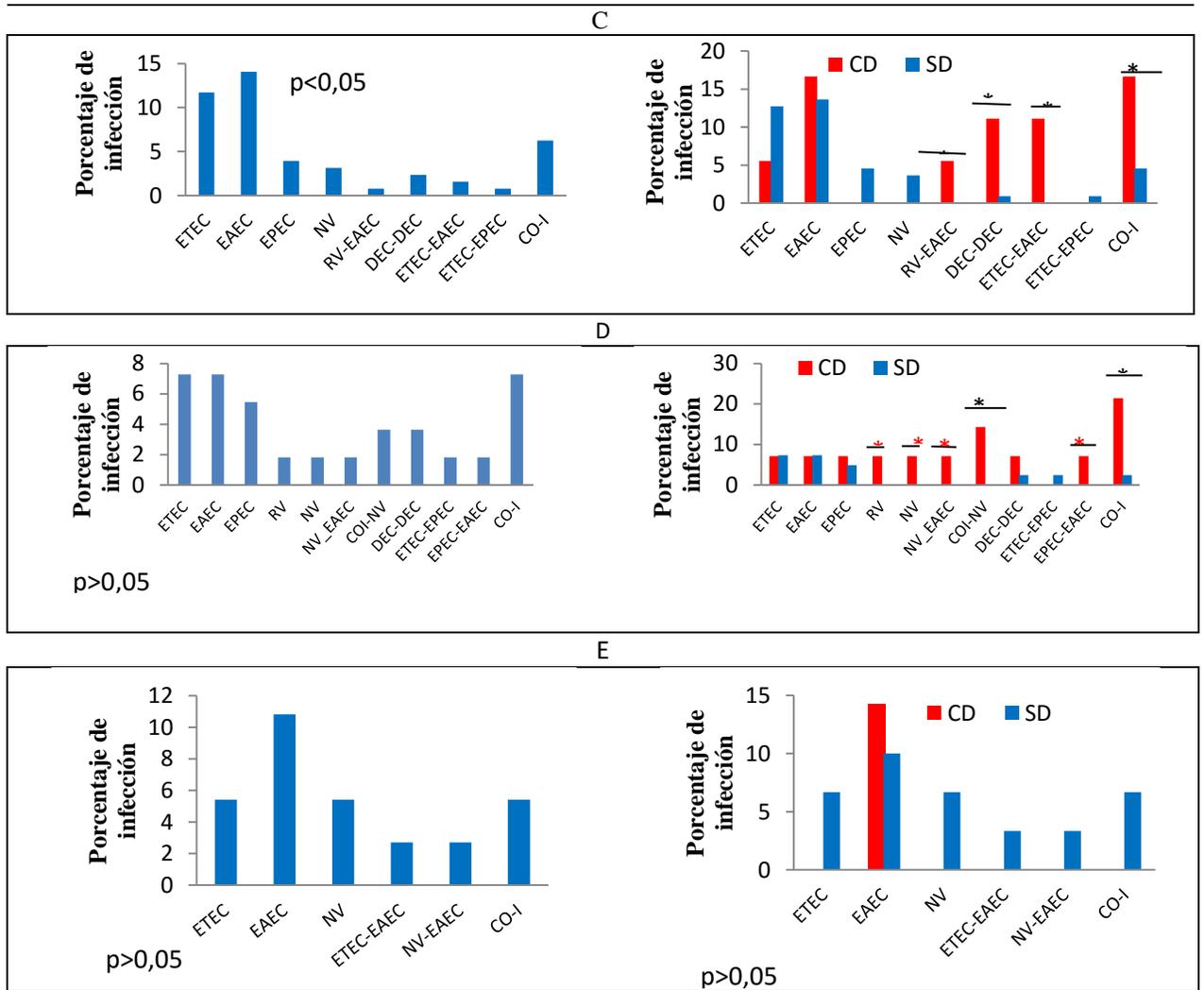


Figura 28. Distribución de los patógenos entéricos en la subpoblación 2 (N= 249 niños, 334 muestras de heces). A-E: (ETEC: *E. coli* enterotoxigénica, EAEC: *E. coli* enteroagregativa, EPEC: *E. coli* enteropatogénica, NV: norovirus, RV: rotavirus, DEC: *E. coli* diarreogénica, CO-I: coinfecciones). A la izquierda se presenta el porcentaje de infección por patógenos entéricos y a la derecha el porcentaje de infección por patógenos entéricos en muestras diarreicas y no diarreicas. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

Tabla 23. Patógenos entéricos identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea por meses. B) 2do mes, C) 3er mes D) 4to mes y E) 5to mes (N= 249 niños, 334 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. ETEC: *E. coli enterotoxigénica*, EAEC: *E. coli enteroagregativa*, EPEC: *E. coli enteropatógena*, NV: norovirus, RV: rotavirus. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI). El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

B

| | CON DIARREA N(%) 8 | SIN DIARREA N(%) 75 |
|--------|--------------------|---------------------|
| ETEC | 2 (25,0) | 10 (13,3) |
| EAEC | 0(0,0) | 5 (6,7) |
| EPEC | 0(0,0) | 1 (1,3) |
| NV | 1(12,5) | 1 (1,3) |
| NV-NV | 1(12,5) | 1 (1,3) |
| NV-DEC | 0(0,0) | 1 (1,3) |
| COI-NV | 1(12,5) | 2(2,7) |
| COI | 1(12,5) | 3(4,0) |

C

| | CON DIARREA N(%) 18 | SIN DIARREA N(%) 110 |
|-----------|---------------------|----------------------|
| ETEC | 1 (5,6) | 14 (12,7) |
| EAEC | 3(16,7) | 15 (13,6) |
| EPEC | 0(0,0) | 5 (4,5) |
| NV | 0(0,0) | 4 (3,6) |
| DEC-DEC | 2(11,1) | 1(0,9) |
| ETEC-EAEC | 2(11,1) | 0(0,0) |
| ETEC-EPEC | 0(0,0) | 1(0,9) |
| RV-EAEC | 1(5,6) | 0(0,0) |
| CO-I | 3(16,7) | 5(4,5) |

D

| | CON DIARREA N(%) 14 | SIN DIARREA N(%) 41 |
|-----------|---------------------|---------------------|
| ETEC | 1 (7,1) | 3 (7,3) |
| EAEC | 1 (7,1) | 3 (7,3) |
| EPEC | 1 (7,1) | 2 (4,9) |
| RV | 1(7,1) | 0(0,0) |
| NV | 1(7,1) | 0(0,0) |
| NV-EAEC | 1(7,1) | 0(0,0) |
| COI-NV | 2(14,3) | 0 (0,0) |
| DEC-DEC | 1(7,1) | 1(2,4) |
| ETEC-EPEC | 0(0,0) | 1(2,4) |
| EPEC-EAEC | 1(7,1) | 0(0,0) |
| CO-I | 3(21,4) | 1(2,4) |

E

| | CON DIARREA N(%) 7 | SIN DIARREA N(%) 30 |
|-----------|--------------------|---------------------|
| ETEC | 0(0,0) | 2(6,7) |
| EAEC | 1(14,3) | 3(10,0) |
| NV | 0(0,0) | 2(6,7) |
| ETEC-EAEC | 0(0,0) | 1(3,3) |
| NV-EAEC | 0(0,0) | 1(3,3) |
| CO-I | 0(0,0) | 2(6,7) |

5.6.3 Subpoblación 3: Infección por norovirus y su asociación con la EDA (estudio longitudinal)

En la subpoblación 3, la cual comprende muestras de niños que registraron \geq de cuatro visitas, se realizó únicamente el análisis de norovirus. Esta subpoblación contiene un total de 107 niños (promedio de edad de $5,0 \pm 3,5$ meses) con 582 muestras (promedio de 5,4 muestras por niño) (Figura 29).

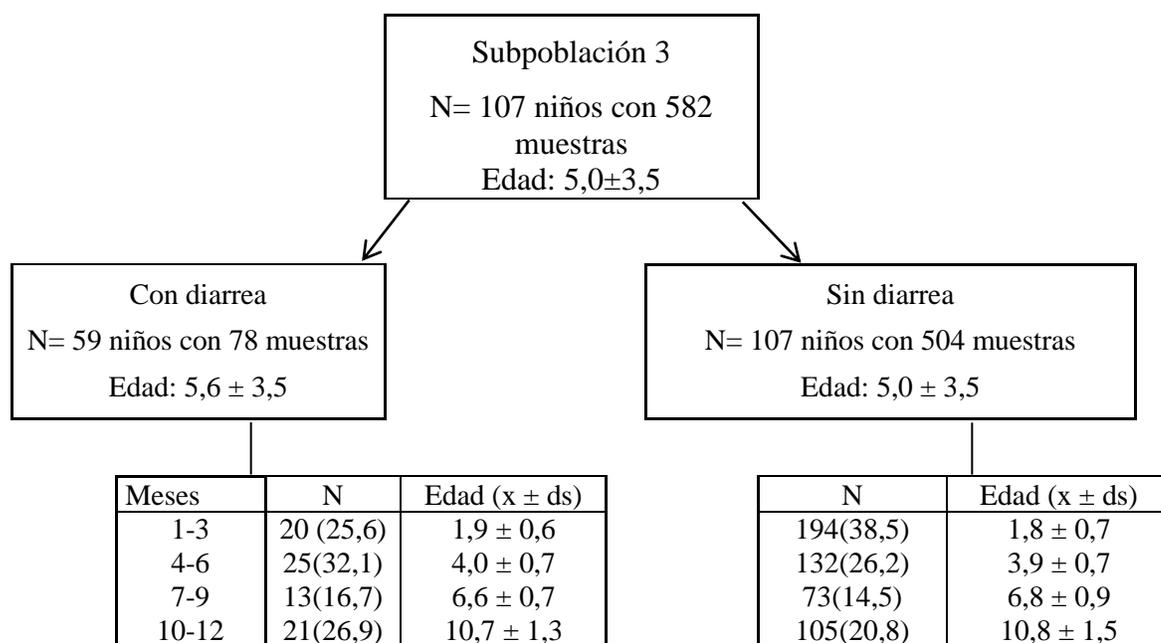


Figura 29. Distribución de las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en la subpoblación 3 (N= 107 niños, 582 muestras de heces). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.3.1 Diarrea e infección por norovirus

En el periodo de estudio, el análisis de los niños que corresponden a la subpoblación 3 se realizó durante un periodo que comprende desde el primer mes hasta los 12 meses de edad.

Del total de muestras analizadas (582), 55 muestras fueron positivas para NV (9,5%= 55/582). Se encontró un 19,2% (15/78) y un 7,9% (40/504) de infección por norovirus (a nivel de cualquier infección) en la subpoblación con y sin diarrea respectivamente (Figura 30 y Tabla 24), observándose diferencias significativas ($p= 0,002$). De igual manera las infecciones por GI (cualquier infección) ($p= 0,012$) o GII (cualquier infección) ($p= 0,016$), fueron significativas con valores de RR ajustados por edad y sexo de 2,4 (IC 95%: 1,0-4,1), 2,5 (IC 95%:1,0-5,2) y 2,1 (IC 95%: 1,0-3,5) respectivamente (Tabla 27).

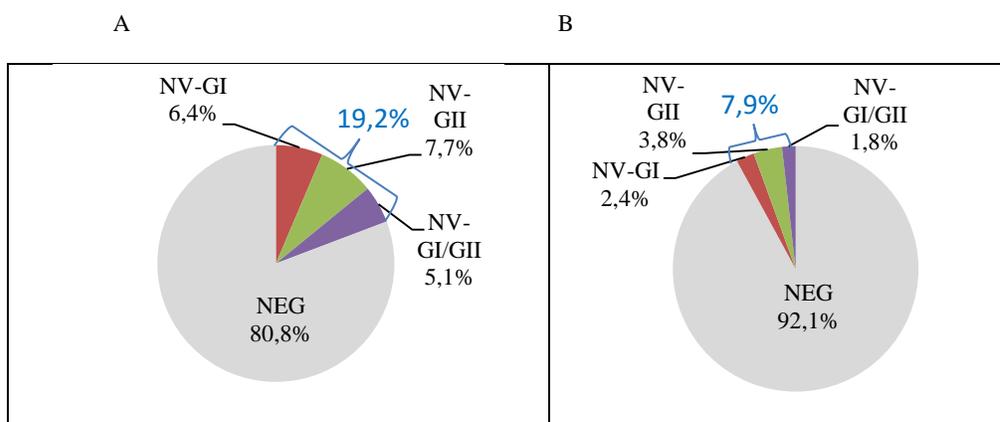


Figura 30. Porcentaje de la infección por Norovirus en A: muestras diarreicas y B: no diarreicas de los niños analizados (N= 107 niños, 582 muestras de heces). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

Tabla 24. Norovirus identificados en las muestras de heces con diarrea y sin diarrea en niños de hasta los 12 meses (N= 107 niños, 582 muestras de heces). Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. CO-I NV-NV: coinfecciones norovirus GI/GII. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|--------|------------------------|----------------------|----------------------|--------------|---------------------------------------|-------------------------------|----------------------------|---|
| NV | CUALQUIER INFECCION | 15 (19,2) | 40 (7,9) | 0,002 | 2,8(1,3-5,1) | 2,3(1,2-3,5) | 56,2(21,5-90,9) | 10,8 |
| | INFECCION UNICA | 11(14,1) | 31(6,2) | 0,012 | 2,5(1,1-4,9) | 2,1(1,1-3,4) | | |
| GI | CUALQUIER INFECCION | 9 (11,5) | 21 (4,2) | 0,012 | 3,0(1,0-7,0) | 2,4(1,0-4,1) | 58,3(16,6- 100,1) | 6,7 |
| | INFECCION UNICA | 5 (6,4) | 12 (2,4) | 0,064 | 2,8(0,8-7,3) | 2,3(0,8-4,1) | 56,1(0,2-112,0) | 3,6 |
| GII | CUALQUIER INFECCION | 10 (12,8) | 28 (5,6) | 0,016 | 2,5(1,0-5,2) | 2,1(1,0-3,5) | 52,5(9,9-95,1) | 6,7 |
| | INFECCION UNICA | 6 (7,7) | 19 (3,8) | 0,129 | 2,1(0,6-5,1) | 1,9(0,6-3,4) | -- | -- |
| GI/GII | COINFECCION | 4 (5,1) | 9 (1,8) | 0,083 | 3,0(0,6-10,1) | 2,4(0,7-4,7) | 57,7(-3,13- 118,6) | 3,0 |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea

En esta subpoblación se encontró que 59 niños (55,1%) presentaron 1 o más episodios de diarrea detectándose una media de $1,3 \pm 0,5$ episodios de diarrea por niño (rango de 0 a 3 episodios). Del total de muestras diarreicas (78), 61 corresponden a un episodio de diarrea (78,2%) y 17 (21.8%) a ≥ 2 episodios (Figura 31A). Asimismo, entre los niños infectados por NV (infección sintomática o asintomática), un 83,6% (46/55) presentó una infección, con un promedio de edad de $7,1 \pm 3,3$, durante los 13 primeros meses de vida y el 19,6% (9/46), ≥ 2 infecciones con un promedio de edad de $8,0 \pm 3,2$ (Figura 31B). Por otra parte, un 27,3% (15/55) de las muestras NV positivas, corresponden a muestras diarreicas de las cuales 14 (93,3%) pertenecen a un episodio y 1 (6,7%) a ≥ 2 episodios de diarrea (Figura 32C)

La incidencia de la infección por NV fue de 51 casos por 100 niños por año, y la incidencia de la diarrea por NV de 25 casos por 100 niños por año.

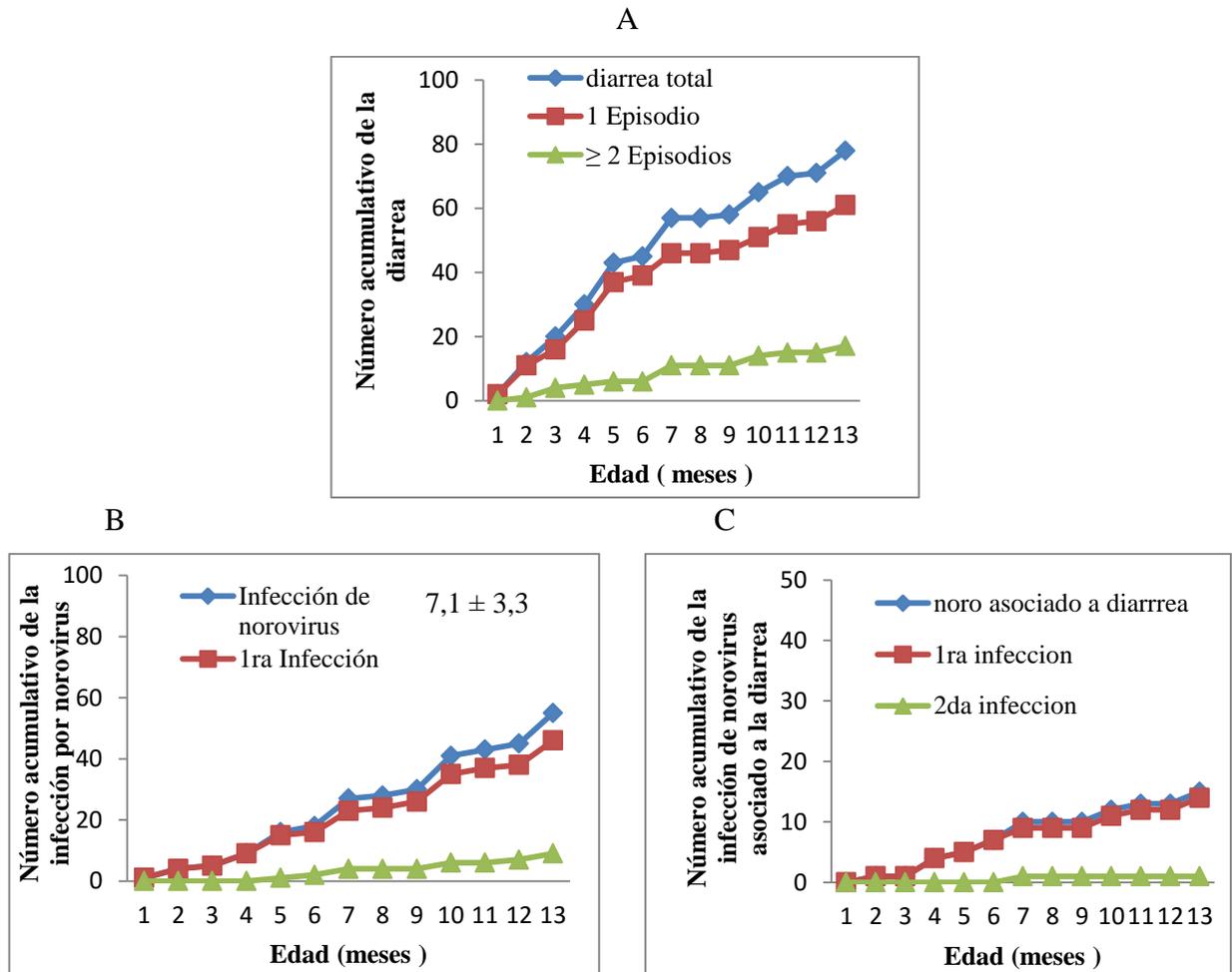


Figura 31. Número acumulativo de la infección por norovirus. A: Diarrea, B: Infección por norovirus y C: Diarrea por norovirus, de los niños analizados (N= 107 niños, 582 muestras de heces). El número acumulativo fue calculado desde el primer mes hasta los 12 meses de edad. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

El análisis de la infección de genogrupos de NV en la subpoblación analizada, así como en muestras diarreicas y no diarreicas, mostró que NV(GII) fue el más común a lo largo de los 12 meses, y que la infección de NV(GI) mostró un patrón similar con la coinfección por NV(GI/GII) (Figura 32A-C).

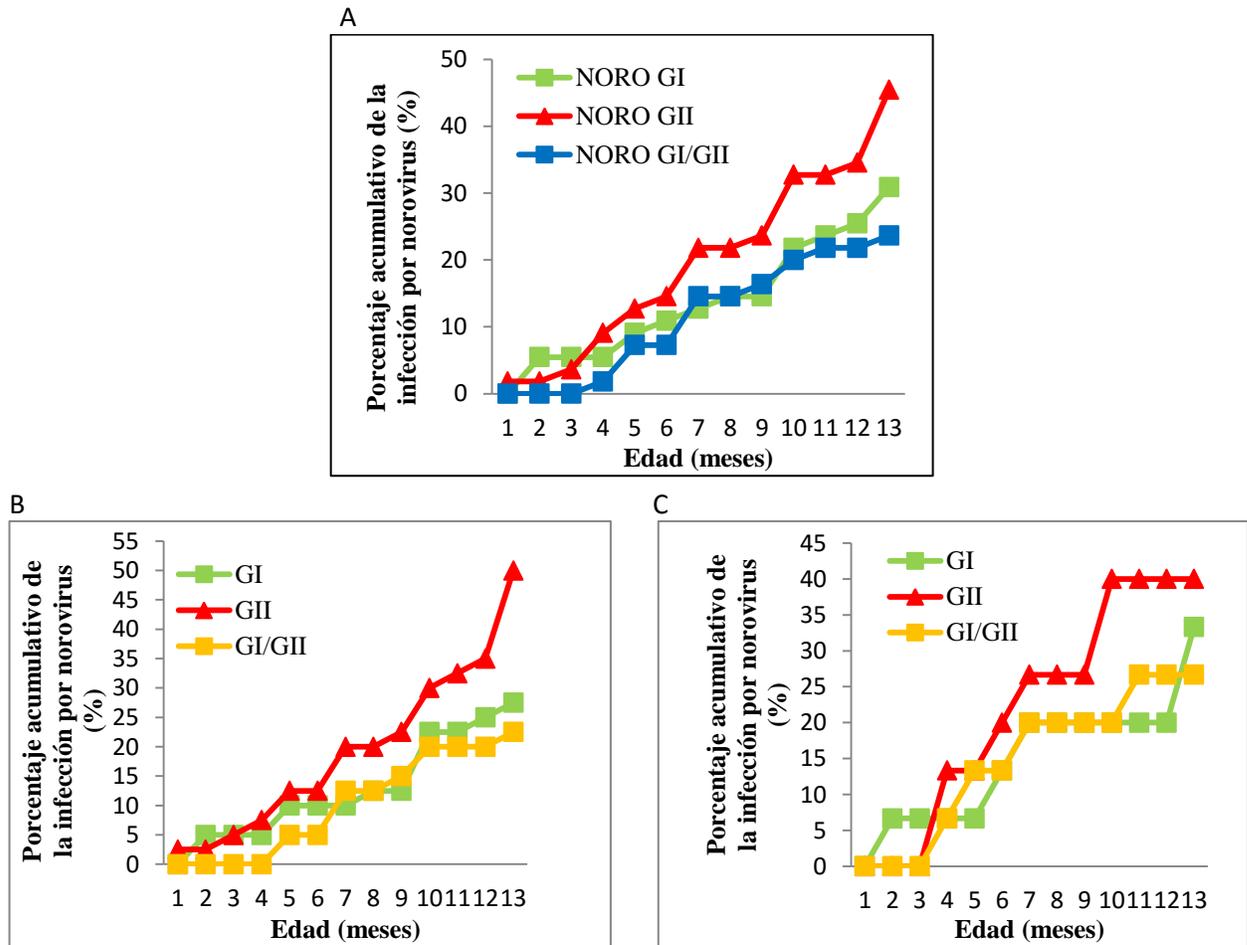


Figura 32. Genogrupos de norovirus detectados en A: total de muestras y B: en muestras diarreicas y C: no diarreicas (N= 107 niños, 582 muestras de heces). Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

5.6.3.2 Norovirus y grupo etéreo

En la Tabla 25 se observaron diferencias significativas en el grupo de ≤ 6 meses entre las muestras con diarrea y sin diarrea para mono infección y cualquier infección de norovirus. Asimismo, a nivel de cualquier infección para el genogrupo de NV(GI) ($p= 0,023$) y NV(GII) ($p= 0,009$) (Tabla 25).

No se observaron diferencias significativas en el grupo mayor a 6 meses.

Tabla 25. Norovirus identificados en las muestras de heces con y sin diarrea en: A: niños \leq 6 meses y B: $>$ a 6 meses. Los valores de razón de probabilidades y riesgo relativo fueron ajustados por edad y sexo. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

A

| | | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|--------|---------------------|----------------------|----------------------|--------------|------------------------------------|----------------------------|-------------------------|---|
| NV | CUALQUIER INFECCION | 7 (15,6) | 11 (3,4) | 0,003 | 5,3(2,6-11,5) | 3,6(2,2-5,6) | 72,3(32,6-112,1) | 8,6 |
| | INFECCION UNICA | 5 (11,1) | 9 (2,8) | 0,018 | 4,4(2,0-9,9) | 3,2(1,8-5,1) | 68,6(19,8-117,4) | 7,6 |
| GI | CUALQUIER INFECCION | 4 (8,9) | 6 (8,8) | 0,023 | 5,2(2,1-15,8) | 3,5(1,9-5,9) | 71,6(20,3-122,9) | 6,4 |
| | INFECCION UNICA | 2 (4,4) | 4 (1,2) | 0,157 | 3,7(1,2-15,1) | 2,8(1,2-5,7) | -- | -- |
| GII | CUALQUIER INFECCION | 5 (11,1) | 7 (2,1) | 0,009 | 5,7(2,4-19,8) | 3,7(2,0-6,5) | 73,2(20,3-122,9) | 8,1 |
| | INFECCION UNICA | 3 (6,7) | 5 (1,5) | 0,060 | 4,6(1,6-15,8) | 3,2(1,5-5,9) | -- | -- |
| GI/GII | COINFECCION | 2 (4,4) | 2 (0,6) | 0,074 | 7,5(1,8-23,2) | 4,3(1,7-8,8) | -- | -- |

B

| | | Con diarrea N (%) | Sin diarrea N (%) | Valor p | Razón de probabilidades IC(95%) | Riesgo relativo IC(95%) | Fracción atribuible (%) | Fracción atribuible a la población (%) |
|--------|---------------------|----------------------|----------------------|---------|------------------------------------|----------------------------|-------------------------|---|
| NV | CUALQUIER INFECCION | 8 (24,2) | 29(16,3) | 0,270 | 1,6(0,8-3,0) | 1,5(0,9-2,4) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 6 (18,2) | 22 (12,4) | 0,401 | 1,6(0,7-3,2) | 1,5(0,7-2,4) | -- | -- |
| GI | CUALQUIER INFECCION | 5 (15,2) | 15 (8,4) | 0,211 | 1,9(0,9-4,4) | 1,7(0,9-3,0) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 3 (9,1) | 8 (4,5) | 0,384 | 2,1(0,5-6,2) | 1,8(0,6-3,6) | -- | -- |
| GII | CUALQUIER INFECCION | 5 (15,2) | 21 (11,8) | 0,569 | 1,3(0,6-2,6) | 1,3(0,8-1,1) | -- | -- |
| | INFECCION UNICA | 3 (9,1) | 14 (7,9) | 0,734 | 1,2(0,3-2,7) | 1,1(0,4-2,2) | -- | -- |
| GI/GII | COINFECCION | 2 (6,1) | 7 (3,9) | 0,634 | 1,6(0,9-5,7) | 1,5(0,9-3,3) | -- | -- |

-- el patógeno no fue detectado o no se asoció estadísticamente con la diarrea

5.6.3.3 Norovirus y parámetros nutricionales

Al analizar la asociación de norovirus con variables cuantitativas de vitamina A, ferritina, receptor soluble de la transferrina, zinc, así como con medidas de talla y peso (LAZ), solo la concentración de vitamina A en sangre fue significativa mediante la prueba de regresión logística ($p=0,008$) observándose una tendencia negativa (coeficiente $\beta = -2,804$) (Tabla 26). Asimismo, el análisis discriminante identificó a la vitamina A como variable a ser incluida en la ecuación (datos no mostrados).

Tabla 26. Vitamina A y la infección por norovirus en muestras diarreicas y no diarreicas de los niños analizados (N= 107 niños, 582 muestras de heces). A: Mediante regresión logística. Estudio Nutrición Infantil, Diarrea e Inmunidad (NIDI): El Alto- La Paz –Bolivia (Junio 2013-Marzo 2015).

| | B | Error estándar | Wald | Gl | Sig. | Exp(B) |
|------------|---------------|----------------|-------|----|--------------|--------|
| Vitamina A | -2,804 | 1,055 | 7,065 | 1 | 0,008 | 0,061 |
| Ferritina | --- | 1,228 | --- | 1 | 0,268 | --- |
| sTRF | --- | 0,007 | --- | 1 | 0,933 | --- |
| Zinc | --- | 0,470 | --- | 1 | 0,493 | --- |
| Hb | --- | 0,103 | --- | 1 | 0,749 | --- |

6 DISCUSIÓN

6.1 Consideraciones generales

El presente estudio brinda información sobre la enfermedad diarreica ambulatoria en niños menores a 12 meses de edad de El Alto, y representa uno de los primeros y únicos estudios de cohorte donde se evalúa la diarrea infantil y la presencia de enteropatógenos en Bolivia a lo largo del primer año de vida. El área de estudio si bien no es representativo de la variedad de regiones geográficas del país, podría potencialmente ser válida para la región urbana del Altiplano. La ciudad de El Alto se caracteriza por ser una de las ciudades de mayor crecimiento y con mayor concentración de población urbana en parte migrante, que habita a 4000 msnm y con extensos y continuos asentamientos poblacionales no regulados provenientes del área rural. Los indicadores sociodemográficos (tasa de mortalidad, desnutrición global, tasa de analfabetismo, etc.) de la ciudad de El Alto se encuentran en general por debajo del promedio nacional y oscilan entre los valores encontrados en regiones rurales y urbanas, con tasas de mortalidad infantil y desnutrición global mayores al promedio nacional urbano (Bedregal, 2008). La población estudiada correspondiente a dos Redes de Salud de la Ciudad de El Alto, mostró un comportamiento similar en relación a los indicadores evaluados, y se consideró para el análisis como una sola población, ya que no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las mismas respecto a características sociodemográficas, nutricionales y prevalencia de la diarrea. Este estudio es parte de los objetivos secundarios del Proyecto Nutrición, Inmunología y Diarrea Infantil cuyo objetivo central fue evaluar la respuesta inmunológica a la vacuna anti-rotaviral y la enfermedad diarreica aguda en la población infantil de El Alto, Bolivia.

Una de las principales limitaciones del estudio, fue la fragmentación de la población total en diferentes subpoblaciones que redujeron el tamaño muestral. Así, se agruparon diferentes poblaciones/subpoblaciones, cada una con diferente tamaño muestral, en base a la disponibilidad de los datos, ya sea los reportados por la madre, los indicadores nutricionales y de inflamación obtenidos mediante la toma de sangre en las diferentes

visitas y/o las muestras de heces de los niños. La obtención de muestras de heces de los niños representó uno de los mayores obstáculos, por lo que la misma no fue siempre constante a lo largo del estudio, debido a las dificultades en la entrega de la muestra durante las visitas concertadas de la madre al hospital. Por ello, se tuvo que agrupar a diferentes subpoblaciones (1-3) pareadas por edad. Así, en base a las muestras disponibles, el análisis de patógenos entéricos (patotipos de DEC, NV y RV) en muestras con y sin diarrea, se realizó sobre dos subpoblaciones (subpoblación 1-2), evaluándose 2 diferentes grupos de edad, donde el promedio de edad de la subpoblación 1 fue de 5,7 meses en contraste al de la segunda de 2,9 meses y con un número promedio de muestras por niño de 1,2 y 1,3 respectivamente. En la subpoblación 1 (que abarca desde los 2 -12 meses), donde el análisis se extiende hasta el primer año de vida, el número de muestras sin diarrea (109) sobre muestras diarreicas (108) fue muy similar. Esto se debió a que a medida que incrementaba la edad del niño, la recolección de muestras fue logísticamente más complicada, al tratarse de visitas programadas de la madre al hospital (y no así al domicilio de la madre) ya que los niños no necesariamente evacuaban durante la misma o la madre no siempre traía consigo el pañal con la última evacuación (dos horas previas a la visita). Por lo tanto, entre las limitaciones que se derivan de esta reducción del tamaño muestral se deben considerar que podrían existir sesgos potenciales de selección, sobre todo en lo que se refiere a pérdidas en las oportunidades para la toma de la muestra de la población elegible. Sin embargo, es importante también hacer notar, que la pérdida de oportunidades fue un evento aleatorio por lo que es poco probable que se hubiera dado selección diferencial entre diferentes tipos de muestras. Así, al comparar las características sociodemográficas, de nutrición y de inflamación entre las subpoblaciones con la población total no se observaron diferencias significativas.

El análisis de la subpoblación 2 -por el contrario- comprende la exploración de la infección de los mencionados patógenos, durante los primeros meses de vida (1-5 meses), donde la razón de muestras sin diarrea sobre muestras diarreicas fue mayor de

6,1, por lo que existe una mejor inferencia estadística sobre el impacto de los patógenos en la diarrea a lo largo de este intervalo de edad en este grupo etáreo.

La subpoblación 3, por otra parte comprende un estudio de análisis de la infección por NV a lo largo de los primeros 12 meses de edad, donde se seleccionó al azar ≥ 4 muestras recolectadas por niño.

6.2 Características sociodemográficas, nutricionales, inflamación y diarrea

En Bolivia, así como en la mayor parte de los países en desarrollo, las diarreas son una importante causa de morbilidad y representan el 50% de la mortalidad infantil en niños menores de 5 años. Datos de UNICEF reportan que los niños bolivianos menores a 5 años presentan al menos hasta seis episodios de diarrea, con una prevalencia de 29.1% (UNICEF, 2016).

Los datos de incidencia y prevalencia de la diarrea encontrados en el presente estudio, se enmarcan dentro de este rango y son comparables por ejemplo a lo encontrado por O Ryan et al., 2009, en niños menores a 2 años de Chile (L O'Ryan et al., 2009) y por Sarkar et al en la India. (Sarkar et al., 2016). Los datos de incidencia y prevalencia de la diarrea pueden ser muy variables y en otros reportes se han observado valores mayores (rango de incidencias entre 3-13 episodios por niño por año) a los encontrados en este estudio. Estas diferencias pueden deberse a diversos factores como tipo y diseño del estudio, edad, sexo, región geográfica, saneamiento ambiental, lugar de estudio (urbano o rural), estrato poblacional, etc.

El incremento de la prevalencia de la diarrea con la edad y los picos de prevalencia de la diarrea encontrados, se explicarían en parte por el efecto del destete con el decremento de la lactancia exclusiva al 6to mes y el incremento observado de la lactancia parcial o pasada al 11avo mes, lo que remarca que el periodo del destete es crítico en la vida del niño, pues incrementa la exposición a nuevos agentes infecciosos y reduce el efecto protector de la leche materna. Asimismo, se muestra claramente el efecto potencial protector de la lactancia exclusiva contra la diarrea. Numerosos estudios han

documentado que la lactancia materna es un factor importante en la prevención y protección contra la diarrea en los primeros dos años de vida, siendo dicho efecto mayor en niños ≤ 6 meses y que, además permite reducir la incidencia, prevalencia, la mortalidad y la hospitalización por diarrea (Lamberti, Fischer Walker, Noiman, Victora, & Black, 2011; Santos, Santos, Santos, Leite, & Mello, 2015). Así, acorde a la OMS y UNICEF se calcula que la lactancia materna exclusiva evita anualmente aproximadamente 6 millones de muertes de niños/año y es una de las intervenciones en salud más costo-efectivas (UNICEF, 2009). El efecto protector de la lactancia es atribuido a una serie de factores innatos y adquiridos exclusivos de la leche materna como la presencia de anticuerpos secretores, lactoferrina, α lactalbúmina, lisozima, oligosacáridos, glicoconjugados, citoquinas, probióticos y otros compuestos con actividad antiinflamatoria, antiinfecciosa, e inmuno-reguladora (Ballard & Morrow, 2013). Por lo que es importante continuar, programas e intervenciones y acciones educativas tanto a nivel prenatal como posnatal que refuercen la promoción de la lactancia materna, con el objeto de incrementar su duración y con la introducción oportuna de alimentos nutricionales complementarios.

Por otra parte, contrario a lo que se esperaba, en este estudio no se encontró asociación de la diarrea con ninguna de las características sociodemográficas analizadas. Esto podría deberse en parte a que por un lado las preguntas de la encuesta no fueron lo suficientemente finas o precisas o que muchas respuestas no reflejaron la realidad (como el caso de eliminación adecuada de basura que se conoce en general como muy deficiente). Por otra parte, al tratarse de la diarrea ambulatoria, estos factores podrían no tener un efecto mayor en contraste a la diarrea que requiere hospitalización o que, otros elementos (uso efectivo de letrinas, frecuencia de defecación fuera del baño, etc.) no considerados en el análisis podrían haber reflejado mejor las diferencias potencialmente esperadas. Sin embargo, en los últimos años, se han evidenciado mejoras en las condiciones de vida e ingresos de la población de El Alto que podrían explicar lo observado.

6.3 Estado nutricional e Inflamación

La población de estudio mostró indicadores nutricionales preocupantes reflejados en bajo peso, deficiencia de hierro (anemia), desnutrición crónica, deficiencia de vitamina A, deficiencia de zinc, algunos de los cuales, con valores por encima de los promedios nacionales, además de deficiencia de ferritina e incremento de receptor soluble de transferrina, que en conjunto en parte reflejarían el estatus nutricional e inflamatorio de la población de El Alto desde el primer mes hasta el primer año de vida. Sin embargo, es necesario considerar que estos indicadores se evaluaron a lo largo de tres tiempos (tres visitas) por lo que hubo mayor oportunidad de detectar las deficiencias encontradas y por ello su comparación con los promedios nacionales podría estar en parte sobreestimada, además de no contarse con indicadores apropiados específicos para niños menores a 1 año. Sin embargo, pese a estas consideraciones, estos datos indican la prevalencia de deficiencia múltiple de micronutrientes a diferentes meses de edad a lo largo del primer año de vida, son inaceptables para la salud de nuestra población infantil. En parte, los índices de desnutrición crónica (talla baja) encontrados desde el primer mes de vida, en la cohorte de niños estudiada, contrastan con los datos de Línea de Base del Programa Desnutrición Cero (CONAN, 2008), que indican que la desnutrición crónica se inicia alrededor de los 6 meses. Esto es importante a considerar ya que la desnutrición estaría presente a edades más tempranas. La desnutrición crónica afecta profundamente al crecimiento y desarrollo del niño, compromete su desarrollo físico, mental y cognitivo determina además un mayor riesgo de enfermar y morir o a adquirir en edades adultas afecciones cardíacas, accidentes cardiovasculares y diabetes, con elevados costos a la salud pública. Por otra parte, la desnutrición afecta la inmunocompetencia del organismo e incrementa la incidencia, la severidad y la duración de enfermedades infecciosas (CONAN, 2008).

Asimismo, la prevalencia de deficiencia múltiple de micronutrientes involucra también a nivel fisiológico interacciones importantes entre nutrientes y no solamente a nivel del sitio de absorción, como es el caso de zinc y hierro. Por ejemplo, se ha visto que la

suplementación de vitamina A puede concomitantemente mejorar el estatus de hierro de la población (Al-Mekhlafi et al., 2013; Stuart Gillespie, 1997; Mejia & Arroyave, 1982).

Los datos obtenidos también muestran que desde temprana edad (desde el primer mes), una proporción importante de niños presenta anemia y dado que, Bolivia reporta una de las prevalencias más altas de anemia en niños preescolares (Mujica-Coopman et al., 2015), esto indicaría que la prevalencia de anemia con sus implicancias respectivas en el desarrollo físico y cognitivo del niño, podría acompañar al niño desde el nacimiento hasta edad pre-escolar. La deficiencia de hierro se observó desde los 5 meses de edad y a los 8-12 meses cerca del 64,8% presentó bajos niveles de ferritina. La diferencia observada entre la baja prevalencia de hierro en base a ferritina en relación a sTRF se explica por el hecho de que el hierro disminuye primero, y como respuesta a esta disminución luego sTRF incrementa (Burke et al., 2014). Las consecuencias de la deficiencia de hierro que afectan directamente el desarrollo físico y cognitivo de los niños (Gillespie & UNICEF, 1998), incluirían efectos pleiotrópicos sobre muchas otras funciones en el organismo (de Silva et al., 2003; Grantham-McGregor & Ani, 2001; Idjradinata & Pollitt, 1993). Datos recientes de Cordero *et al*, refuerzan y complementan estas observaciones donde en niños entre 6 a 59 meses se observa una alta prevalencia total de la anemia (mayor al 50%) a diferentes altitudes en regiones geográficas de Bolivia (Cordero, Aguilar, Casanovas, Vargas, & Lutter, 2019).

Existen también evidencias clínicas sobre la reducción en la inmunidad de individuos con deficiencia de hierro (Cherayil, 2010; Hassan et al., 2016; Rahmani S, 2015). Actualmente en el Programa de Desnutrición Cero del Ministerio de Salud de Bolivia se provee a los niños de chispitas nutricionales (conteniendo hierro, zinc, ácido fólico y vitamina C), a partir de los 6 meses de edad de vitamina A y sulfato ferroso (90 tabletas) y a las madres luego del embarazo. Las intervenciones en salud de provisión de hierro deberían evaluar la administración del mismo a edades más tempranas e incluso a las madres durante el embarazo. Además es importante recalcar en los programas de educación, la importancia de completar la dosis de sulfato ferroso ya que por su sabor no

es muy aceptado tanto entre las madres como entre los niños. Se requiere por lo tanto de nuevos estudios para evaluar el impacto actual de la provisión de las chispitas en la disminución de los índices de anemia y otras deficiencias.

Los datos del presente estudio, por otra parte también resaltan que del primer al quinto mes de vida, existirían otras causas de anemia no relacionadas a la deficiencia de hierro. Parte de las mismas involucraría a la deficiencia de zinc, aun en ausencia de deficiencia de hierro ya que el zinc es un agente catalítico de muchas enzimas necesarias para la producción de hemoglobina y la eritropoyesis (Badham, Zimmermann, & Kraemer, 2007). Estudios realizados en niños africanos han mostrado correlaciones entre la concentración de zinc en suero y la concentración de hemoglobinas, donde los niños con anemia presentaron mayor riesgo de tener deficiencia de zinc (Cole et al., 2010).

El rol de la vitamina A en el metabolismo de la hemoglobina y por consecuencia en la anemia es otro factor a considerar ya que ésta también modula la hematopoyesis. En nuestro estudio el patrón de disminución de la deficiencia de vitamina A lo largo del incremento de la edad, fue concomitante con el de la anemia no ferropénica. Reportes tempranos han señalado que la deficiencia crónica o moderada de la vitamina A, genera un factor de riesgo hacia la anemia (Fishman, Christian, & West, 2000). Un estudio en niños de Perú reporta que el suministro de vitamina A concomitante con hierro no tiene efecto sobre la respuesta hematológica en contraste al zinc (Alarcon et al., 2004). Por otra parte, las interacciones entre nutrientes se pueden ver alteradas ante la deficiencia de los mismos como podría ser el caso en los primeros cinco meses de edad ante la deficiencia concomitante de zinc y vitamina A, ya que se ha visto que el zinc regula el transporte intra e intercelular de la vitamina A, donde la deficiencia de zinc afecta la síntesis y transporte de la proteína de unión al retinol, que a su vez regula la movilización del retinol. Asimismo el zinc es un factor co-enzimático para la retinal oxidasa por lo que bajo la deficiencia de zinc se reducen los metabolitos del retinol activo (Christian & West, 1998).

El rol de la deficiencia de micronutrientes entre sí y en la anemia tanto no ferropénica como ferropénica como en la inflamación es probablemente pleiotrópico por lo que aún no están claras las interacciones y mecanismos de retroalimentación entre los mismos.

En conjunto los datos del presente estudio proveen -aunque de forma piloto-información en niños menores a un año de edad, sobre todo en los menores a seis meses donde no existían o aún existen pocos datos. Esta información es relevante para la Salud Pública y debería ser considerada por los tomadores de decisiones en Salud y responsables de programas de desnutrición para analizar estos indicadores en la población a una mayor escala. Asimismo, estos datos pueden servir de base para estudios poblacionales en el futuro para evaluar las causas de la anemia a corta edad, así como la biodisponibilidad del zinc, vitamina A y hierro, para revisar ajustar, reforzar y optimizar el Programa de Desnutrición Cero.

Si bien los indicadores nutricionales se calcularon incluyendo el factor de corrección para la inflamación, el efecto de esta última, así como de las infecciones asintomáticas (múltiples) o clínicas podrían estar afectando al verdadero estado nutricional del niño. Asimismo, los niños con infecciones frecuentes podrían mostrar falta de apetito o desordenes intestinales con riesgo a efectos de malnutrición más prolongados y de importancia clínica. De esta forma, los niños presentarían desnutrición crónica genuina o desnutrición crónica afectada por las infecciones asintomáticas y sintomáticas que conllevarían a inflamación clínica/subclínica, donde los biomarcadores usados para evaluar el estado nutricional estén sobrestimando el grado y extensión de la desnutrición.

Cabe señalar que la duración del incremento de la PCR es de más corta duración que la de los cambios inducidos por la inflamación/infección en algunos parámetros del estado de estos biomarcadores, por lo que en algunos individuos pudieran existir modificaciones de estos indicadores a consecuencia de una infección previa, pese a tener una PCR normal. En parte, estas discrepancias podrían ser evaluadas mediante la AGP que tiene una duración mayor y podría constituirse en un marcador de la inflamación crónica. Estudios realizados demuestran por ejemplo, que las alteraciones de la ferritina

pueden persistir por alrededor de tres semanas después de una infección leve (Thurnham, 2008). Un aspecto que une las manifestaciones de déficit de estos micronutrientes, es su relación con la anemia, aunque se sabe que en poblaciones vulnerables el déficit de hierro es el mayor contribuidor (50-80%) de anemia seguido de la inflamación. Dado que en nuestro estudio el déficit de hierro se presenta a partir de los 5 meses de edad, donde alrededor del 60% de los casos de anemia a esta edad son del tipo ferropénica, se podría inferir a partir de los datos obtenidos que tanto la inflamación como la infecciones subclínicas y clínicas, podrían también afectar al estatus de anemia en la población de niños analizada, sobre todo en los niños menores a 5 meses. Por otra parte, este estudio mostró también que tanto el retinol y la RPB están afectados por la inflamación, donde esta asociación varía con la edad (Burke et al., 2018), confirmando la relación entre la inflamación y el biomarcador de vitamina A.

En cuanto a los datos de inflamación, es interesante observar que tanto la PCR como la AGP incrementaron significativamente desde los 5 y 6 meses, aspecto que podría estar asociado al incremento de infecciones por enteropatógenos y a las coinfecciones observadas con la edad, así como también como la incorporación de nuevos alimentos, por lo que futuros estudios deberán corroborar estadísticamente, estos datos con un mayor tamaño muestral. Asimismo, en la población estudiada no se encontró asociación con ninguna medida antropométrica ni el índice de agua, saneamiento e higiene (WASH) con la inflamación. (Burke et al., 2016).

6.4. Estado nutricional, Inflamación y EDA

El análisis de inflamación y la diarrea muestra claramente que la inflamación aguda presentó asociación con la diarrea en la población total y en todas las subpoblaciones estudiadas (1-3). Dado que la diarrea está asociada al número de patógenos o al porcentaje de coinfecciones que infectan al niño, existirían efectos aditivos de los patógenos infectantes que desencadenarían el proceso de inflamación cuantitativamente a un mayor nivel (concentración de PCR o AGP) en relación con la población sin diarrea. Además la asociación de la lactancia pasada o parcial con la diarrea apoya

indirectamente estos datos, dado que como ya se señaló, al disminuir la lactancia se observa un incremento concomitante de la diarrea.

Ya que, en poblaciones vulnerables (baja seguridad y sanidad alimentaria), se considera a las enfermedades diarreicas y al insuficiente e inadecuado consumo de nutrientes como entre los determinantes inmediatos de la desnutrición (Checkley et al., 2008; Checkley et al., 2002; Danaei et al., 2016; Fischer Walker et al., 2012). La ausencia de asociación de la diarrea con la deficiencia de parámetros nutricionales no era lo que intuitivamente se esperaba, pese a encontrarse estos valores de deficiencia más elevados en el grupo con diarrea que sin diarrea, lo que implicaría poca fuerza en la asociación, probablemente debido a que en la población estudiada, la severidad de la diarrea no fue alta como el caso de una diarrea que requeriría hospitalización, así como a las altas tasas de infección asintomática por enteropatógenos y/o al efecto en la inflamación encontrado en la población. La disminución del tamaño de la muestra al agrupar diferentes sub poblaciones pudo también enmascarar el efecto potencial entre diarrea, desnutrición crónica y/o parámetros nutricionales. Un estudio reciente encontró asociación de la anemia con la presencia de diarrea ocurrida dentro de 15 días previos a la encuesta en niños menores a 5 años (Cordero, Aguilar, Casanovas, Vargas, & Lutter, 2019)

6.5 EDA y enteropatógenos:

6.5.1 Subpoblaciones 1 y 2

En el presente estudio, pese a que no fue posible acceder a un mayor número de muestras diarreicas por las limitaciones ya mencionadas, es importante considerar que las muestras de diarrea que fueron analizadas para enteropatógenos representan una fracción de 42.6% y 29,1% del total de niños cuyas madres reportaron la presencia de diarrea en la subpoblación 1 y 2 respectivamente,

La diferencia observada entre la presencia de patógenos de las muestras con y sin diarrea de 16% (población 1) y de 11.2% (población 2), mostró valores similares al rango encontrado a otros estudios de cohorte realizados en Asia, África y América (12%) (Platts-Mills et al., 2015), en África Sub-Sahariana y Asia (11%) (Kotloff et al., 2013).

Sin embargo, en otro estudio realizado en China, se encontró una mayor diferencia (35,2%) (Li et al., 2016) y en Tanzania (24,1%) (Moyo et al., 2017), probablemente debido a que los patógenos fueron detectados y analizados mediante RCP cuantitativo, lo que permitió una mayor resolución al comparar casos y controles.

Asimismo, el análisis de la fracción atribuible a la diarrea debido a la presencia de patógenos entéricos, mostró que en la población estudiada existe una proporción mayor de casos con fracción atribuible desconocida, que podría deberse en parte a patógenos no testados que tienen relevancia en la EDA, o a otros nuevos aun no descubiertos. En general, las diferencias encontradas en la proporción de diferentes enteropatógenos en las muestras diarreicas versus no diarreicas con otros estudios, pueden deberse en parte al tipo de poblaciones analizadas, disparidades en el diseño del estudio, métodos de detección utilizados, el número y tipo de patógenos analizados, la prevalencia de los patógenos en muestras asintomáticas, así como a la carga atribuida a patógenos relevantes no analizados en este estudio como es el caso de *Campylobacter spp*, *astrovirus*, *Cryptosporidium spp*, *Yersinia. spp*. En general, es de esperar que esta diferencia incremente con el mayor número de patógenos, por lo que futuros estudios deberán incluir a otros patógenos relevantes para la EDA, así como una evaluación de la carga cuantitativa de los mismos.

Si bien, la presencia de al menos un patógeno entérico detectado, representó el 48,1% y 42,6% de las muestras diarreicas analizadas en la subpoblación 1 y en la subpoblación 2 respectivamente, los resultados obtenidos al comparar los cuadros diarreicos positivos al menos a un patógeno, con los cuadros diarreicos negativos a los patógenos testados, en relación a los síntomas clínicos (mediante el índice de Vesikari modificado), sugieren que en los primeros, los episodios diarreicos fueron de relativa mayor severidad, lo que a su vez indicaría que los patógenos analizados y/o las combinaciones entre los mismos, tendrían en conjunto un impacto en la enfermedad o que podrían ser clínicamente más relevantes que aquellos patógenos putativos no detectados en las muestras negativas. Por otra parte, la proporción no detectada de patógenos en ambas subpoblaciones indica que

probablemente existen otros patógenos no analizados que están circulando, o bien, podría tratarse de una fracción de casos de diarrea no asociada a infecciones por patógenos.

En relación a la presencia de patógenos en la población 1 sin diarrea (32,1%), este estudio muestra que las infecciones asintomáticas, sobre todo por DEC, son muy comunes en nuestro medio, similar a lo observado en otros estudios en países en desarrollo (Bonkougou et al., 2013; Kabayiza et al., 2014; Moyo et al., 2017; Randremanana et al., 2012) y en claro contraste a los países desarrollados. Entre las posibles razones que puedan explicar estos hallazgos, estarían las prácticas, hábitos y condiciones higiénicas de la población, sumada a la contaminación por patógenos entéricos a nivel fecal, ambiental, así como en alimentos, que se supone muy común en nuestro medio, por lo que gran parte de los patógenos analizados tendrían circulación endémica y causarían mayor probabilidad de infección. En efecto, éste es uno de los pocos estudios en niños menores a 6 meses, donde se observa infección asintomática y coinfecciones por patógenos entéricos desde muy temprana edad. Este aspecto a su vez resalta la posibilidad de transmisión materna de la infección, en particular de ETEC que es preponderantemente el primer enteropatógeno que infecta a los niños. Asimismo, es importante considerar factores asociados a la susceptibilidad del huésped, la circulación asintomática en adultos (sobre todo en la madre), el efecto protector de la leche materna que podría limitar la multiplicación de los patógenos hasta niveles que desencadenen la diarrea, e incluso la presencia de casos de excreción prolongada de los patógenos, más allá del umbral delimitado en este estudio para incluir a los individuos considerados controles (>15 días luego de presentarse la diarrea), etc.

Por otra parte, la presencia de una proporción considerable de asintomáticos infectados con patógenos entéricos, podría ser también un factor relevante para la presencia de enteropatía ambiental en la población de estudio (Rogawski & Guerrant, 2017) que podría estar relacionada directa o indirectamente a los alarmantes indicadores nutricionales observados en la población a diferentes etapas de crecimiento a lo largo del primer año, los cuales como se ha visto en este estudio no se asocian específicamente

con la diarrea. Este aspecto es interesante e importante a ser evaluado en futuros estudios a nivel comunitario, por las implicaciones a largo plazo en el desarrollo cognitivo del niño.

El análisis de la presencia de patógenos específicos en muestras con diarrea *versus* sin diarrea en la población analizada de niños \leq a 1 año de edad (subpoblación 1), a nivel de mono infección no reveló asociación con alguno en particular a excepción de NV donde a nivel de cualquier infección, este virus está más cercano a presentar significancia asociada a la diarrea en claro contraste con los patógenos bacterianos. Este patrón se vio más claramente en los niños menores a 5 meses (subpoblación 2) donde tanto las infecciones NV (cualquier infección) y las por cualquier infección viral (NV y RV) se muestran significativas con la EDA. Esto sugiere en general que, en la población estudiada, a nivel de la diarrea ambulatoria, las infecciones virales, a nivel de cualquier infección son más relevantes para la diarrea, que las bacterianas. Esto contrasta con estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo en niños hospitalizados con diarrea con patógenos bacterianos como DEC (Gonzales Siles et al., 2013; Rivera et al., 2013). Sin embargo, cabe aquí también considerar que la asociación con la diarrea podría no revelarse debido al tamaño muestral,

Es interesante observar el patrón de infección de NV que difiere a diferentes rangos de edad, donde en niños menores a 6 meses presenta asociación con la diarrea y a edades mayores circula, aunque en mayor frecuencia, pero preponderantemente de forma asintomática. Esto sugiere que la infección temprana al ser sintomática desencadenaría un efecto protector a edades mayores, donde no se previene la infección, pero si la enfermedad, por lo que la futura vacuna contra NV debería estar dirigida sobre todo a niños menores a 6 meses. Asimismo, la presencia de NV en casos asintomáticos en mayor frecuencia que RV, sobre todo en los niños mayores a 6 meses, sugiere que NV es más propenso que RV a presentarse en forma asintomática en infecciones recurrentes.

Lo que, si resalta el estudio en ambas subpoblaciones, son las coinfecciones que mostraron ser significativas o al borde de la significancia, tanto en conjunto (DEC,

virus) como a nivel de coinfecciones por patógenos específicos como NV, RV y categorías específicas de DEC. Las coinfecciones comprendieron un grupo heterogéneo donde se encontraron combinaciones únicamente bacterianas o virales, o entre virus con bacterias y a su vez mezclas dobles o triples en un mismo niño. Las modalidades más frecuentes fueron por una parte dentro las DEC y dentro los virus ambos presentes en similar proporción. Por otra parte, a nivel de cada patógeno individual resaltan las coinfecciones de NV y las de EAEC.

Por lo tanto, DEC sobre todo EAEC, cuando se manifiesta en coinfección debería ser considerada como agente causal potencial. En el estudio de Koh y colaboradores en muestras diarreicas de niños hospitalizados se encontró un 18,1% de coinfecciones, siendo las más comunes las virales donde la coinfección entre RV-NV alcanzó un 64% (Koh, Baek, Shin, Chung, & Jee, 2008). La presencia de coinfecciones de virus-virus, virus-bacterias o bacterias-bacterias asociadas a la EDA ha sido observada también en otros estudios (Bonkougou et al., 2013; Kabayiza et al., 2014; Shrivastava et al., 2017) a la par del rol de las mono-infecciones por patógenos virales como RV y NV, bacterianos (*Shigella*) y parasitarios (*C. parvum*).

En el presente estudio, el rol de las coinfecciones en la asociación a la diarrea correlaciona con la diferencia encontrada en el número y promedio de patógenos en las muestras con diarrea (16,7%) y sin diarrea (5,4%). Se observó que las coinfecciones están presentes ya desde el primer mes de edad y van incrementando con la edad. Podría por lo tanto potencialmente inferirse que, en la población de estudio, la diarrea se presenta con mayor prevalencia en parte cuando las coinfecciones incrementan en mayor número (desde los 5-6 meses) que correlacionaría con una mayor actividad y movimiento del niño, con la transición a la lactancia parcial lo que a su vez incrementaría las posibilidades de mayor infección por patógenos en el ambiente o por infección fecal-oral.

Las infecciones mixtas en general dificultan el análisis de las relaciones causales entre un patógeno específico y la diarrea, sobre todo al analizarse la diarrea ambulatoria donde

la severidad de la infección es generalmente menor. Sin embargo, es posible considerar un escenario donde -en ambientes donde los patógenos circulan de forma endémica, con alta prevalencia asintomática de la infección-, las infecciones mixtas podrían contribuir al desarrollo de la enfermedad. Así, a partir de los datos de la prevalencia de las coinfecciones en las muestras con diarrea (16,7%) en contraste a las sin diarrea (4,6%) y su clara asociación con la EDA, se podría inferir el impacto conjunto ya sea patógenos virales o combinados con los bacterianos, en el desencadenamiento de la diarrea. Por lo que, en este tipo de poblaciones la etiología de la EDA sería de carácter multifactorial y estaría ocasionada mayormente no solo por un solo patógeno sino por la acción de más de un patógeno. Lo que implicaría que dada la prevalencia de infecciones asintomáticas de patógenos entéricos que se observa en países en desarrollo, la EDA se desencadenaría sobre ese fondo (background) de infecciones, por la adición de nuevas infecciones que incrementarían la carga patogénica y/o presentarían efectos sinérgicos que provocarían la diarrea. Por otra parte, el impacto de las monoinfecciones sería más evidente en el caso de las diarreas que requieren hospitalización como las infecciones por RV o NV. Estos datos muestran un patrón similar a otros trabajos realizados en los últimos años, tanto de estudios caso control de análisis de la diarrea ambulatoria (Bhavnani, Goldstick, Cevallos, Trueba, & Eisenberg, 2012) como en casos hospitalarios (Kabayiza et al., 2014; Koh et al., 2008). En el estudio de Bhavnani y colaboradores realizado en Ecuador, se observó que las coinfecciones pueden causar una diarrea más severa que las monoinfecciones, observándose sinergismo entre algunos patógenos como RV y *Giardia lamblia* y RV y *E. coli* (Bhavnani et al., 2012). Por otra parte, en el estudio realizado por Moyo y colaboradores, se encontró que la patogenicidad de cada organismo se incrementa durante la infección en el caso de RV y *Giardia* y NV(GII) y EAEC mientras que disminuye en el caso de NV(GII) y EPEC. La severidad de la diarrea no se vió afectada por la presencia de las coinfecciones entre RV y *Giardia lamblia* y NV(GII) y EAEC (Moyo et al., 2017).

Asimismo, es importante considerar que la interacción virus-bacterias podría facilitar la replicación y transmisión de los primeros. Por lo tanto, es probable que las coinfecciones

con DEC en el intestino humano, afecten la probabilidad de infección con virus entéricos como NV y RV. Esto debido a que, la unión de estos virus a los antígenos HBGA expresados en las bacterias podría potencialmente incrementar la retención o estabilización de los virus en el tracto intestinal y por ende la infección. Se ha visto por ejemplo el efecto protector que la unión de NV a bacterias que expresan antígenos HBGA, podría conferir protección al virus durante el stress por calor (Li, Breiman, le Pendu, & Uyttendaele, 2015).

Al evaluar de forma preliminar la interacción biológica entre patógenos coinfectantes asociados a la diarrea usando escalas aditivas y multiplicativas se observó que existiría un potencial sinergismo entre NV(GII) y EAEC, NV(GI y GII) y entre ETEC-EAEC (datos no mostrados). Sin embargo, se requiere un mayor número muestral para evaluar estas interacciones. Cabe señalar que la mayoría de los mecanismos de patogenicidad y virulencia de patógenos entéricos han sido evaluados de forma individual (Kaper et al., 2004; Nataro & Kaper, 1998). Por lo que aún se conoce poco sobre los mecanismos que expliquen estas interacciones en la enfermedad diarreica. Por lo tanto, este estudio similar a otros, muestra que las estrategias para la reducción de la carga de la enfermedad diarreica a nivel de la comunidad, deberían abordarse considerando la presencia de patógenos múltiples (Platts-Mills et al., 2015), y no únicamente monoinfecciones, sobre todo luego del impacto que ha tenido la vacunación contra el RV.

En relación a RV, se observa que en áreas donde aún no se introdujo la vacunación, este presenta la mayor fracción atribuible a la EDA en amplia ventaja a otros enteropatógenos (Platts-Mills et al., 2015). Es importante resaltar que la población de niños analizada en este estudio, recibió la vacuna contra RV (Rotarix, GlaxoSmithKline, Rixensart, Belgium), con una cobertura en el periodo de estudio en la primera dosis de 87,2% y en la segunda dosis de 85,2%. La vacunación contra RV tuvo probablemente un impacto en los datos de este estudio, dado que la ausencia de RV en la mayoría de los casos diarreicos probablemente redujo la fracción atribuible a la EDA en comparación a

la época prevacunal. La vacunación contra RV (vacuna Rotarix) se administra a la población infantil de Bolivia, desde el año 2008, por lo que a la fecha del estudio la circulación del virus a nivel ambulatorio fue probablemente muy baja o estuvo por debajo del límite detectable por el método de ELISA. Los únicos tres casos donde se detectó a RV fue en muestras diarreicas, 2 de los cuales en niños menores a 4 meses con dosis incompleta de vacunación. Asimismo 2 de los 3 casos se presentaron en coinfección con EAEC. Datos del IBMB del periodo prevacunal reportan (datos no publicados) entre un 15-25% de prevalencia de RV en niños menores a 3 años con diarrea ambulatoria. Comparando estos datos con los del presente estudio en niños menores a un año (1.6% en subpoblación 1), se observa que a nivel comunitario se habría disminuido la prevalencia del virus entre un 89,3% a 93,6%. Estos datos sugieren que los beneficios de la vacunación se extienden también a prevenir la diarrea ambulatoria, la cual no necesariamente requiere una visita hospitalaria y muchas veces no está registrada. Esos datos van en concordancia con los obtenidos en el IBMB sobre el impacto de la vacuna Rotarix en los casos de diarrea aguda que requiere hospitalización y/o consulta externa (Inchauste et al., 2017).

Estos datos muestran que la vacunación contra el RV ha modificado la epidemiología de la diarrea, no sólo con relación específicamente al RV, sino en la importancia relativa del resto de agentes causales, así como la relación entre la mono infección y la infección múltiple de enteropatógenos con la fracción atribuible a la diarrea.

6.5.2 Estudio de norovirus: subpoblación 3

El estudio en la subpoblación 3 comprende un análisis longitudinal a lo largo de 4 o más visitas, por lo que cuenta con un tamaño muestral de controles más representativo. La prevalencia de NV encontrada en muestras diarreicas (19,2%) y no diarreicas (7,9%) en esta subpoblación es comparable a resultados similares en otros estudios de cohorte como el de Rockx et al. (19,7-4,5%) en Holanda (Rockx et al., 2002), de O’Ryan et al., 2009 (18-8%) en Chile (L O’Ryan et al., 2009), de Lopman et al; 2015 en niños ecuatorianos (18-18%) (Lopman et al., 2015) y de Rohuani et al., 2016 (23,5-19%) en 8

países de Asia, África y América Latina (Rouhani et al., 2016). De igual manera la incidencia de NV encontrada es similar al resultado reportado por el estudio de Lopman, pero mayor en el caso de sintomáticos (Lopman et al., 2015). En este trabajo se identificaron los dos genogrupos NV(GI), NV(GII) más relevantes que infectan a humanos a nivel mundial. De igual manera la preponderancia observada del genogrupo NV(GII), es similar a otros estudios (Lopman et al., 2015; McAtee et al., 2016; Rouhani et al., 2016). Una de las limitaciones del estudio está en que no se identificaron los genotipos más prevalentes mediante métodos moleculares y filogenéticos, por restricciones en el presupuesto.

En esta subpoblación, se resalta la alta tasa de infección de NV donde alcanza en el estudio una tasa total de infección de 42%, (45 /107 niños), esto revela una alta prevalencia del virus en la población estudiada cuya circulación alcanza un pico entre los 7 meses con incrementos consecutivos hasta los 12 meses de edad. Es ampliamente conocido que estos virus son muy eficientes en su capacidad diseminativa, debido a múltiples factores, como: baja dosis infecciosa, estabilidad ambiental, diseminación prolongada (aún en ausencia de manifestaciones clínicas) y diversas rutas de transmisión (Graaf *et al.*, 2016). Debido a su elevada variabilidad genética al contener un genoma de RNA y a que no producen inmunidad que evite completamente la reinfección, un individuo puede sufrir varias infecciones por NV. Asimismo, los datos de prevalencia de la diarrea encontrada a nivel de muestras con al menos una infección por NV en contraste a las muestras sin diarrea, muestran claramente que NV es un patógeno importante endémico de las EDAs ambulatorias tanto a nivel de mono infección como de cualquier infección donde el riesgo de adquirir EDA por NV es mayor en niños menores a 6 meses y donde generalmente se observa que la diarrea puede ser más severa. Esta parte del estudio por lo tanto confirma la tendencia de asociación de NV con la diarrea que ya se observó en las subpoblaciones 1 y 2.

El rol de los NV como agente etiológico de la diarrea se ha documentado y evidenciado cada vez más en la última década, tanto en países en desarrollo como desarrollados,

sobre todo en el periodo posterior a la introducción de la vacuna anti-rotaviral, donde NV ha pasado a ser el principal agente de la gastroenteritis aguda. A nivel global el promedio de detección de NV está alrededor del 12% (Ahmed *et al*, 2014), observándose también que la prevalencia es mayor en niños hospitalizados que en ambulatorios.

Finalmente, uno de los hallazgos relevantes de este estudio fue la asociación negativa de la infección por NV con la concentración de vitamina A (RBP uM/L). La relación entre vitamina A y NV fue señalada ya en el 2007 en estudios previos en niños mexicanos donde se observó que la administración de vitamina A reduce la tasa de infección NV GII y que los niños tratados con vitamina A tuvieron un decremento de la incidencia de la diarrea asociada a NV, GI y GII y a una menor duración de la diarrea causada por este virus. Posteriores estudios mostraron que la vitamina A tendría diferentes efectos sobre cada genogrupo de NV a nivel de la respuesta inmunitaria de la mucosa intestinal con niveles incrementados de las quimoquinas MCP1 y IL-8 en el caso de GI y GII respectivamente con reducción en ambos de IL-6 en niños con suplementación de vitamina A (Long *et al.*, 2011). El ácido retinoico de la vitamina A contribuye a la respuesta adaptativa e innata, dado que deficiencias en este compuesto afectan a la respuesta inmune por lo que se cree que existiría un efecto antiviral protector de la vitamina A que inhibiría la replicación de NV *in vivo* e *in vitro* (Lee & Ko, 2016). Este efecto podría estar mediado directa o indirectamente también por modulación de la vitamina A en la microbiota intestinal considerando que cepas de *Lactobacillus* pueden inhibir la replicación *in vitro* de NV (Lee & Ko, 2016). Por lo que la activación de la respuesta inmune por ácido retinoico podría generar cambios en la microbiota asociada a la presencia de perfiles de citoquinas específicas donde estaría involucrado el IFN- β en la respuesta antiviral (Lee & Ko, 2016).

Estos datos podrían servir de base a futuros estudios para evaluar el efecto de vitamina A en la susceptibilidad a la infección por NV en una población de mayor tamaño. Asimismo, estos datos tienen potencial para evaluar la provisión de vitamina a niños a

edades más tempranas o a las madres por más tiempo durante la lactancia, como parte de las intervenciones en Salud Pública.

Futuros estudios deberán evaluar la relación de la infección de NV con antígenos histo-sanguíneos y con el estatus secretor de la fucosil transferasa (Lopman et al., 2015).

Por último, entre las limitaciones de este estudio, además de las ya mencionadas esta él no contar con un número de muestras suficientes para evaluar las reinfecciones por NV que permita distinguir algún efecto protector específico de los genogrupos de NV sobre las mismas.

7 CONCLUSIONES

- En la población total de estudio (N=403 niños) se encontraron deficiencias nutricionales múltiples, en diferentes etapas de crecimiento a lo largo del primer año de vida, las cuales se caracterizan por :
 - Alta prevalencia de anemia (71,6%) y deficiencia de micronutrientes como vitamina A (71,4%) y zinc (84,7%), durante los primeros 4 meses de edad.
 - Incremento de la prevalencia de la anemia (83,9%), reducción de la deficiencia de la vitamina A (hasta un 24,7%) y leve reducción de la deficiencia de zinc (hasta un 75,7%) entre los 8 a 12 meses.
 - Presencia de bajo peso (11,6%), desnutrición crónica (19,6%) en niños \leq a 4 meses. Estos valores encontrados, se redujeron progresivamente al alcanzar la edad de 12 meses
 - Alta deficiencia de ferritina que se reveló de forma progresiva entre el 5-7 mes (39,8%) hasta el 8-12 mes (64,7%).
- En la población total de estudio (N=403 niños) se evidenció la presencia de inflamación aguda medida a través de PCR y AGP desde el 1-2 mes de vida (9,1% y 6,6% respectivamente). Estos valores, luego se incrementaron en el 5-7 mes de edad (17,5% y 11,2% respectivamente). Entre los 8-12 meses de edad, se observó el decremento de PCR (11,5%) y ligero incremento de AGP (13,7%).
- La prevalencia de la diarrea en la población en estudio (N=403 niños) fue de 62,7%, con una incidencia de 1,16 episodios por niño por año. De los 414 episodios de diarrea registrados, 89,6% fueron de diarrea aguda con un puntaje modificado de Vesikari cuya media de severidad fue de $3,8 \pm 1,6$.

- El análisis entre la diarrea, las características sociodemográficas, de nutrición, de inflamación y de tipo de lactancia evidenció que:
En la población total de estudio (N=403 niños), existe asociación significativa de la diarrea con los siguientes parámetros:
 - Inflamación aguda evaluada a través de PCR con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 2,2 (IC 95%; 1,5-3,1; p= 0,001).
 - Inflamación aguda evaluada a través de AGP con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,9 (IC 95%: 1,3-2,9; p= 0,004).
 - La lactancia exclusiva o principal con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 0,7 (IC 95%: 0,5-0,9; p= 0,006).

Tanto en la subpoblación 1 y en la subpoblación 2, se observó la asociación significativa de la diarrea con la inflamación aguda (PCR) con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 6,6 (IC 95%: 3,8-11,7; p= 0,000) y 4,5 (IC 95%: 2,3-8,7; p= 0,001), respectivamente.

No se observaron diferencias significativas de la diarrea con las características sociodemográficas y de nutrición tanto en la población como en las subpoblaciones del estudio.

- La subpoblaciones 1 y 2 presentaron en general una prevalencia de infección con al menos un patógeno entérico de 46,5 y 32,9 respectivamente. Asimismo, en ambas poblaciones el 32,1% y 31,4% de los niños asintomáticos presentaron infección con al menos un patógeno entérico.
- La infección por bacterias (DEC) predominó sobre la infección por virus (norovirus y rotavirus) en una razón de 3,0.
- El análisis entre la diarrea y el porcentaje de patógenos, así como el número y promedio de patógenos mostraron asociación significativa con la diarrea:
 - En la subpoblación 1, el porcentaje de patógenos presentó un valor de RR ajustado por edad y sexo a de 1,4 (IC 95%; 1,2-1,7; p= 0,016). Por una parte, el número de patógenos (≥ 2 patógenos)

- presentó un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,7 (IC 95%: 1,4-2,0; p= 0,004). Por otra parte, el promedio de patógenos, presento significancia evaluada mediante el test de student con un valor de p de 0,024.
- En la subpoblación 2, el número de patógenos (≥ 2 patógenos) presentó significancia con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 3,5 (IC 95%: 1,8-5,8; p= 0,000). Asimismo, el promedio de patógenos con un valor de p cercano al límite (p= 0,069).
- El análisis entre la prevalencia de los patógenos entéricos (norovirus, rotavirus y DEC) y la diarrea, mostró que:
 - En la subpoblación 1, norovirus presentó asociación significativa al límite de la significancia, a nivel de cualquier infección con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,4 (IC 95%: 2,1-1,7; p= 0,068).
 - En la subpoblación 2, se observó que norovirus y rotavirus a nivel de cualquier infección, presentaron valores de RR ajustados por edad y sexo de 2,4 (IC 95%: 1,2-4,1; p= 0,058) respectivamente.
 - En conjunto las infecciones virales (norovirus y/o rotavirus) mostraron asociación significativa con la diarrea a nivel de cualquier infección en contraste a las infecciones causadas por DEC, observándose:
 - En la subpoblación 1 y 2, se encontró un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,5 (IC 95%: 1,3-1,8; p= 0,018) y de 3,1 (IC 95%: 1,7-5,0; p= 0,023) respectivamente.
- El análisis entre la diarrea y las coinfecciones mostraron asociación significativa con la diarrea:
 - En la subpoblación 1 se observó un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,7 (IC 95%: 1,4-2,0; p= 0,004). El análisis de la composición de las coinfecciones, mostró que a nivel de grupo,

tanto DEC, como los virus y a nivel individual EAEC y norovirus mostraron valores de significancia o valores cercanos a la misma.

- En la subpoblación 1 al comparar el grupo etéreo de niños menores y mayores a 6 meses se encontró asociación significativa a nivel de las coinfecciones en los niños > a 6 meses con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 1,7 (IC95%: 1,3-2,2; p= 0,035).
- En la subpoblación 2 se observó un valor de RR ajustado por edad y sexo de 3,5 (IC 95%: 1,9-5,9; p= 0,003). Tanto DEC (p= 0.016) y a nivel individual EAEC y norovirus (p= 0,04 y 0,061, respectivamente) mostraron significancia.
- El análisis de la distribución de patógenos circulantes en niños menores y mayores a 6 meses a partir de los datos de las subpoblaciones 1 y 2 mostró que,
 - ETEC se caracterizó por ser el patotipo que infecta más tempranamente alcanzando a los 6 meses de edad un porcentaje acumulativo de infección mayor que el resto de patógenos entéricos, seguido de EAEC, norovirus y EPEC.
 - La infección por DEC se presenta a lo largo del primer año de vida sin presentar asociación con la diarrea.
 - La infección por norovirus en niños menores a 6 meses edad contrasta con la de DEC por la asociación del primero con la diarrea, a edades mayores norovirus incrementa su frecuencia de infección sin presentar asociación con la diarrea
 - Las coinfecciones se presentan desde el primer mes de vida e incrementan paulatinamente a medida que el niño se infecta con nuevos patógenos.

- Se observaron muy pocas infecciones por rotavirus y únicamente en muestras diarreicas preponderantemente de niños con dosis incompleta de vacunación y en forma de coinfección con EAEC.
- El análisis de la infección y la diarrea por norovirus a lo largo de los primeros 12 meses de vida y su relación con los parámetros nutricionales en la subpoblación 3 mostró:
 - Una prevalencia de la infección para norovirus de 19,2% y una incidencia de 51 infecciones por niño por año.
 - Asociación de la infección por norovirus con la diarrea con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 2,3 (IC 95%: 1,2-3,5; p= 0,002). Asimismo, la infección de NV GI y de NV GII mostraron valores de RR ajustados a la edad y sexo de 2,4 (IC 95%: 1,0-4,1; p= 0,012) y de 2,1 (IC 95%: 1,0-3,5; p= 0,016) respectivamente.
 - En el grupo etáreo ≤ 6 meses se observó asociación significativa con la diarrea para cualquier infección y mono infección de norovirus con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 3,6 (IC 95%: 2,2-5,6; p= 0,003) y de 3,2 (IC 95%: 1,8-5,1; p= 0,018) respectivamente. Asimismo, a nivel de cualquier infección se observó asociación significativa de NV(GI) y NV(GII), con la diarrea con un valor de RR ajustado por edad y sexo de 3,5 (IC 95%: 1,9-5,9; p= 0,023), de 3,7 (IC 95%: 2,0-6,5; p= 0,009) respectivamente.
 - El análisis con los parámetros nutricionales reveló mediante regresión logística una asociación significativa de la infección de norovirus con la vitamina A (p= 0,008) con una tendencia negativa (Coeficiente $\beta = -2,804$).

8 BIBLIOGRAFÍA

- Abbaspour, N. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of research in medical sciences*, *18*, 144-157
- Abu-Elyazeed, R., Wierzba, T. F., Mourad, A. S., Peruski, L. F., Kay, B. A., Rao, M., . . . Clemens, J. D. (1999). Epidemiology of enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhea in a pediatric cohort in a periurban area of lower Egypt. *J Infect Dis*, *179*(2), 382-389. doi: 10.1086/314593
- Acosta, G. J., Vigo, N. I., Durand, D., Riveros, M., Arango, S., Zambruni, M., & Ochoa, T. J. (2016). Diarrheagenic *Escherichia coli*: Prevalence and Pathotype Distribution in Children from Peruvian Rural Communities. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, *95*(3), 574-579. doi: 10.4269/ajtmh.16-0220
- Ahmed, S. M., Hall, A. J., Robinson, A. E., Verhoef, L., Premkumar, P., Parashar, U. D., . . . Lopman, B. A. (2014). Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, *14*(8), 725-730. doi: 10.1016/s1473-3099(14)70767-4
- Alarcon, K., Kolsteren, P. W., Prada, A. M., Chian, A. M., Velarde, R. E., Pecho, I. L., & Hoeree, T. F. (2004). Effects of separate delivery of zinc or zinc and vitamin A on hemoglobin response, growth, and diarrhea in young Peruvian children receiving iron therapy for anemia. *Am J Clin Nutr*, *80*(5), 1276-1282. doi: 10.1093/ajcn/80.5.1276
- Al-Asy, H. M., Gamal, R. M., Albaset, A. M. A., Elsanosy, M. G., & Mabrouk, M. M. (2017). New diagnostic biomarker in acute diarrhea due to bacterial infection in children. *International journal of pediatrics & adolescent medicine*, *4*(2), 75-80. doi: 10.1016/j.ijpam.2016.12.004
- Alikhani, M., Mirsalehian, A., & Aslani, M. (2006). Detection of typical and atypical enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) in Iranian children with and without diarrhea. *Journal of medical microbiology*, *55*, 1159-1163. doi: 10.1099/jmm.0.46539-0
- Al-Mekhlafi, H. M., Al-Zabedi, E. M., Al-Maktari, M. T., Atroosh, W. M., Al-Delaimy, A. K., Moktar, N., . . . Surin, J. (2013). Effects of vitamin A supplementation on iron status indices and iron deficiency anaemia: a randomized controlled trial. *Nutrients*, *6*(1), 190-206. doi: 10.3390/nu6010190
- Aluisio, A. R., Maroof, Z., Chandramohan, D., Bruce, J., Masher, M. I., Manaseki-Holland, S., & Ensink, J. H. J. (2015). Risk factors associated with recurrent diarrheal illnesses among children in Kabul, Afghanistan: a prospective cohort study. *PloS one*, *10*(2), e0116342-e0116342. doi: 10.1371/journal.pone.0116342
- Anders, K. L., Thompson, C. N., Thuy, N. T. V., Nguyet, N. M., Tu, L. T. P., Dung, T. T. N., . . . Simmons, C. P. (2015). The epidemiology and aetiology of diarrhoeal disease in infancy in southern Vietnam: a birth cohort study. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, *35*, 3-10. doi: 10.1016/j.ijid.2015.03.013

- Badham, J., Zimmermann, M. B., & Kraemer, K. (2007). *The guidebook nutritional anemia*. Basel: Task Force Sight and Life
- Bailey, R. L., West Jr, K. P., & Black, R. E. (2015). The Epidemiology of Global Micronutrient Deficiencies. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 66(suppl 2)(Suppl. 2), 22-33. doi: 10.1159/000371618
- Bajait, C., & Thawani, V. (2011). Role of zinc in pediatric diarrhea. *Indian journal of pharmacology*, 43, 232-235. doi: 10.4103/0253-7613.81495
- Baker, K., Dil Farzana, F., Ferdous, F., Ahmed, S., Das, S., Faruque, A., . . . M. Levine, M. (2014). Association between Moderate-to-Severe Diarrhea in Young Children in the Global Enteric Multicenter Study (GEMS) and Types of Handwashing Materials Used by Caretakers in Mirzapur, Bangladesh. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 91. doi: 10.4269/ajtmh.13-0509
- Baker, K. K., O'Reilly, C. E., Levine, M. M., Kotloff, K. L., Nataro, J. P., Ayers, T. L., . . . Mintz, E. D. (2016). Sanitation and Hygiene-Specific Risk Factors for Moderate-to-Severe Diarrhea in Young Children in the Global Enteric Multicenter Study, 2007–2011: Case-Control Study. *PLOS Medicine*, 13(5), e1002010. doi: 10.1371/journal.pmed.1002010
- Baker, K. K., Sow, S. O., Kotloff, K. L., Nataro, J. P., Farag, T. H., Tamboura, B., . . . Levine, M. M. (2013). Quality of piped and stored water in households with children under five years of age enrolled in the Mali site of the Global Enteric Multi-Center Study (GEMS). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 89(2), 214-222. doi: 10.4269/ajtmh.12-0256
- Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human milk composition: nutrients and bioactive factors. *Pediatric clinics of North America*, 60(1), 49-74. doi: 10.1016/j.pcl.2012.10.002
- Barletta, F., Ochoa, T. J., Mercado, E., Ruiz, J., Ecker, L., Lopez, G., . . . Cleary, T. G. (2011). Quantitative real-time polymerase chain reaction for enteropathogenic Escherichia coli: a tool for investigation of asymptomatic versus symptomatic infections. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 53(12), 1223-1229. doi: 10.1093/cid/cir730
- Barreto, M. L., Farenzena, G. G., Fiaccone, R. L., Santos, L. M. P., Assis, A. M. O., Araújo, M. P. N., & Santos, P. A. B. (1994). Effect of vitamin A supplementation on diarrhoea and acute lower-respiratory-tract infections in young children in Brazil. *The Lancet*, 344(8917), 228-231. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)92998-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)92998-X)
- Behiry, I. K., Abada, E. A., Ahmed, E. A., & Labeeb, R. S. (2011). Enteropathogenic Escherichia coli associated with diarrhea in children in Cairo, Egypt. *TheScientificWorldJournal*, 11, 2613-2619. doi: 10.1100/2011/485381
- Berni Canani, R., Buccigrossi, V., & Passariello, A. (2011). Mechanisms of action of zinc in acute diarrhea. *Current opinion in gastroenterology*, 27, 8-12. doi: 10.1097/MOG.0b013e32833fd48a
- Bhandari, N., Bhan, M. K., & Sazawal, S. (1994). Impact of massive dose of vitamin A given to preschool children with acute diarrhoea on subsequent respiratory and

- diarrhoeal morbidity. *BMJ (Clinical research ed.)*, 309(6966), 1404-1407. doi: 10.1136/bmj.309.6966.1404
- Bhavnani, D., Goldstick, J. E., Cevallos, W., Trueba, G., & Eisenberg, J. N. S. (2012). Synergistic effects between rotavirus and coinfecting pathogens on diarrheal disease: evidence from a community-based study in northwestern Ecuador. *American journal of epidemiology*, 176(5), 387-395. doi: 10.1093/aje/kws220
- Bhutta, Z. A., Bird, S. M., Black, R. E., Brown, K. H., Gardner, J. M., Hidayat, A., . . . Shankar, A. (2000). Therapeutic effects of oral zinc in acute and persistent diarrhea in children in developing countries: pooled analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr*, 72(6), 1516-1522. doi: 10.1093/ajcn/72.6.1516
- Black, R. E., Allen, L. H., Bhutta, Z. A., Caulfield, L. E., de Onis, M., Ezzati, M., . . . Rivera, J. (2008). Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *The Lancet*, 371(9608), 243-260. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61690-0
- Bölin, I., Wiklund, G., Qadri, F., Torres, O., Bourgeois, A., Savarino, S., & Svennerholm, A.-M. (2006). Enterotoxigenic *Escherichia coli* with ST_H and ST_P Genotypes Is Associated with Diarrhea Both in Children in Areas of Endemicity and in Travelers. *Journal of clinical microbiology*, 44, 3872-3877. doi: 10.1128/JCM.00790-06
- Bonkougou, I. J. O., Haukka, K., Österblad, M., Hakanen, A. J., Traoré, A. S., Barro, N., & Siitonen, A. (2013). Bacterial and viral etiology of childhood diarrhea in Ouagadougou, Burkina Faso. *BMC pediatrics*, 13, 36-36. doi: 10.1186/1471-2431-13-36
- Brown, K. H. (1998). Effect of infections on plasma zinc concentration and implications for zinc status assessment in low-income countries. *Am J Clin Nutr*, 68(2 Suppl), 425s-429s. doi: 10.1093/ajcn/68.2.425S
- Brown, K. H., Lanata, C. F., Yuen, M. L., Peerson, J. M., Butron, B., & Lönnerdal, B. (1993). Potential magnitude of the misclassification of a population's trace element status due to infection: example from a survey of young Peruvian children. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 58(4), 549-554. doi: 10.1093/ajcn/58.4.549
- Budhathoki, S., Bhattachan, M., Yadav, A., Upadhyaya, P., & Pokharel, P. (2016). Eco-social and behavioural determinants of diarrhoea in under-five children of Nepal: A framework analysis of the existing literature. *Tropical Medicine and Health*, 44, 7. doi: 10.1186/s41182-016-0006-9
- Burke, R. M., Leon, J. S., & Suchdev, P. S. (2014). Identification, prevention and treatment of iron deficiency during the first 1000 days. *Nutrients*, 6(10), 4093-4114. doi: 10.3390/nu6104093
- Burke, R. M., Suchdev, P. S., Rebolledo, P. A., de Aceituno, A. M. F., Revollo, R., Iñiguez, V., . . . Leon, J. S. (2016). Predictors of Inflammation in a Cohort of Bolivian Infants and Toddlers. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 95(4), 954-963. doi: 10.4269/ajtmh.16-0292
- Burke, R. M., Whitehead, R. D., Jr., Figueroa, J., Whelan, D., Aceituno, A. M., Rebolledo, P. A., . . . Suchdev, P. S. (2018). Effects of Inflammation on

- Biomarkers of Vitamin A Status among a Cohort of Bolivian Infants. *Nutrients*, 10(9), 1240. doi: 10.3390/nu10091240
- Cediel, G., Olivares, M., Brito, A., Cori, H., & Lopez de Romaña, D. (2015). Zinc Deficiency in Latin America and the Caribbean. *Food and nutrition bulletin*, 36, S129-S138. doi: 10.1177/0379572115585781
- Cediel, G., Olivares, M., Brito, A., Lopez de Romaña, D., Cori, H., & La Frano, M. (2015). Interpretation of Serum Retinol Data From Latin America and the Caribbean. *Food and nutrition bulletin*, 36, S98-S108. doi: 10.1177/0379572115585743
- Cole, C. R., Grant, F. K., Swaby-Ellis, E. D., Smith, J. L., Jacques, A., Northrop-Clewes, C. A., . . . Ziegler, T. R. (2010). Zinc and iron deficiency and their interrelations in low-income African American and Hispanic children in Atlanta. *Am J Clin Nutr*, 91(4), 1027-1034. doi: 10.3945/ajcn.2009.28089
- Collaborators, G. B. D. D. D. (2017). 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*, 17(9), 909-948. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30276-1
- CONAN, C. T. d. (2008). *Programa multisectorial desnutrición cero*. La Paz-Bolivia: Retrieved from <http://www.bvsde.paho.org/texcom/nutricion/pmd9.pdf>.
- Crawford, S., Ramani, S., E. Tate, J., D. Parashar, U., Svensson, L., Hagbom, M., . . . K. Estes, M. (2017). Rotavirus infection. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, 17083. doi: 10.1038/nrdp.2017.83
- Croxen, M. A., & Finlay, B. B. (2009). Molecular mechanisms of Escherichia coli pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 26. doi: 10.1038/nrmicro2265
- Checkley, W., Buckley, G., Gilman, R. H., Assis, A. M., Guerrant, R. L., Morris, S. S., . . . Infection, N. (2008). Multi-country analysis of the effects of diarrhoea on childhood stunting. *International journal of epidemiology*, 37(4), 816-830. doi: 10.1093/ije/dyn099
- Checkley, W., Gilman, R. H., Black, R. E., Lescano, A. G., Cabrera, L., Taylor, D. N., & Moulton, L. H. (2002). Effects of nutritional status on diarrhea in Peruvian children. *J Pediatr*, 140(2), 210-218. doi: 10.1067/mpd.2002.121820
- Cherayil, B. J. (2010). Iron and immunity: immunological consequences of iron deficiency and overload. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, 58(6), 407-415. doi: 10.1007/s00005-010-0095-9
- Christian, P., & West, K. P., Jr. (1998). Interactions between zinc and vitamin A: an update. *Am J Clin Nutr*, 68(2 Suppl), 435s-441s. doi: 10.1093/ajcn/68.2.435S
- Cordero, D., Aguilar, A. M., Casanovas, C., Vargas, E., & Lutter, C. K. (2019). Anemia in Bolivian children: a comparative analysis among three regions of different altitudes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1450(1), 281-290. doi: 10.1111/nyas.14038
- D'Ambrosio, D. N., Clugston, R. D., & Blaner, W. S. (2011). Vitamin A metabolism: an update. *Nutrients*, 3(1), 63-103. doi: 10.3390/nu3010063

- da Silva Poló, T., Peiró, J. R., Mendes, L. C. N., Ludwig, L. F., de Oliveira-Filho, E. F., Bucardo, F., . . . Mauroy, A. (2016). Human norovirus infection in Latin America. *Journal of Clinical Virology*, 78, 111-119. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.03.016>
- Danaei, G., Andrews, K. G., Sudfeld, C. R., Fink, G., McCoy, D. C., Peet, E., . . . Fawzi, W. W. (2016). Risk Factors for Childhood Stunting in 137 Developing Countries: A Comparative Risk Assessment Analysis at Global, Regional, and Country Levels. *PLoS medicine*, 13(11), e1002164-e1002164. doi: 10.1371/journal.pmed.1002164
- DeBoer, M. D., Scharf, R. J., Leite, A. M., Férrer, A., Havt, A., Pinkerton, R., . . . Guerrant, R. L. (2017). Systemic inflammation, growth factors, and linear growth in the setting of infection and malnutrition. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 33, 248-253. doi: 10.1016/j.nut.2016.06.013
- de Silva, A., Atukorala, S., Weerasinghe, I., & Ahluwalia, N. (2003). Iron supplementation improves iron status and reduces morbidity in children with or without upper respiratory tract infections: a randomized controlled study in Colombo, Sri Lanka. *Am J Clin Nutr*, 77(1), 234-241. doi: 10.1093/ajcn/77.1.234
- Donaldson, E. F., Lindesmith, L. C., LoBue, A. D., & Baric, R. S. (2010). Viral shape-shifting: norovirus evasion of the human immune system. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 231. doi: 10.1038/nrmicro2296
- el Bushra, H. E., Ash, L. R., Coulson, A. H., & Neumann, C. G. (1992). Interrelationship between diarrhea and vitamin A deficiency: is vitamin A deficiency a risk factor for diarrhea? *Pediatr Infect Dis J*, 11(5), 380-384. doi: 10.1097/00006454-199205000-00008
- Farthing, M., Salam, M., Lindberg, G., Díte, P., Khalif, I., Salazar-Lindo, E., . . . Lemair, T. (2013). Acute Diarrhea in Adults and Children A Global Perspective. *Journal of clinical gastroenterology*, 47, 12-20. doi: 10.1097/MCG.0b013e31826df662
- Fischer Walker, C. L., & Black, R. E. (2007). Micronutrients and Diarrheal Disease. *Clinical Infectious Diseases*, 45(Supplement_1), S73-S77. doi: 10.1086/518152
- Fischer Walker, C. L., Perin, J., Aryee, M. J., Boschi-Pinto, C., & Black, R. E. (2012). Diarrhea incidence in low- and middle-income countries in 1990 and 2010: a systematic review. *BMC public health*, 12(1), 220. doi: 10.1186/1471-2458-12-220
- Fischer Walker, C. L., Lamberti, L., Adair, L., Guerrant, R. L., Lescano, A. G., Martorell, R., . . . Black, R. E. (2012). Does childhood diarrhea influence cognition beyond the diarrhea-stunting pathway? *PloS one*, 7(10), e47908-e47908. doi: 10.1371/journal.pone.0047908
- Fishman, S. M., Christian, P., & West, K. P. (2000). The role of vitamins in the prevention and control of anaemia. *Public Health Nutr*, 3(2), 125-150
- Friesema, I., Vennema, H., C M Heijne, J., M de Jager, C., F M Teunis, P., van der Linde, R., . . . Van Duynhoven, Y. (2009). Differences in clinical presentation between norovirus genotypes in nursing homes. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 46, 341-344. doi: 10.1016/j.jcv.2009.09.010

- Galloway, P., McMillan, D. C., & Sattar, N. (2000). Effect of the inflammatory response on trace element and vitamin status. *Ann Clin Biochem*, 37 (Pt 3), 289-297. doi: 10.1258/0004563001899429
- Gammoh, N. Z., & Rink, L. (2017). Zinc in Infection and Inflammation. *Nutrients*, 9(6), 624. doi: 10.3390/nu9060624
- García, C., DuPont, H. L., Long, K. Z., Santos, J. I., & Ko, G. (2006). Asymptomatic norovirus infection in Mexican children. *Journal of clinical microbiology*, 44(8), 2997-3000. doi: 10.1128/JCM.00065-06
- George, C. M., Perin, J., Neiswender de Calani, K. J., Norman, W. R., Perry, H., Davis, T. P., Jr., & Lindquist, E. D. (2014). Risk factors for diarrhea in children under five years of age residing in peri-urban communities in Cochabamba, Bolivia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 91(6), 1190-1196. doi: 10.4269/ajtmh.14-0057
- Gibson, R. S. (2007). Zinc Nutrition in Developing Countries. *Nutrition Research Reviews*, 7(1), 151-173. doi: 10.1079/NRR19940010
- Gillespie, S., & UNICEF. (1998). *Major issues in the control of iron deficiency*: IDRC, Ottawa, ON, CA
- Gillespie, S. (1997). Malnutrition in South Asia: a regional profile.
- Gomes, T. A. T., Elias, W. P., Scaletsky, I. C. A., Guth, B. E. C., Rodrigues, J. F., Piazza, R. M. F., . . . Martinez, M. B. (2016). Diarrheagenic Escherichia coli. *Brazilian journal of microbiology : [publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 47 Suppl 1(Suppl 1), 3-30. doi: 10.1016/j.bjm.2016.10.015
- Gonzales Siles, L., Joffre, E., Rivera, R., Sjöling, Å., Svennerholm, A.-M., & Iniguez, V. (2013). Prevalence, seasonality and severity of disease caused by pathogenic Escherichia coli in children with diarrhoea in Bolivia. *Journal of medical microbiology*, 62. doi: 10.1099/jmm.0.060798-0
- Gonzales Siles, L., Sanchez, S., Zambrana, S., Iniguez, V., Wiklund, G., Svennerholm, A.-M., & Sjöling, Å. (2013). Molecular Characterization of Enterotoxigenic Escherichia coli Isolates Recovered from Children with Diarrhea during a 4-Year Period (2007 to 2010) in Bolivia. *Journal of clinical microbiology*, 51. doi: 10.1128/JCM.02971-12
- Graaf, M., van Beek, J., & Koopmans, M. (2016). Human norovirus transmission and evolution in a changing world. *Nature Reviews Microbiology*, 14. doi: 10.1038/nrmicro.2016.48
- Grantham-McGregor, S. M., Walker, S. P., Himes, J. H., & Powell, C. A. (1993). The effect of nutritional supplementation and stunting on morbidity in young children: the Jamaican study. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87(1), 109-113. doi: https://doi.org/10.1016/0035-9203(93)90448-Y
- Guerrant, R. L., DeBoer, M. D., Moore, S. R., Scharf, R. J., & Lima, A. A. M. (2013). The impoverished gut--a triple burden of diarrhoea, stunting and chronic disease. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 10(4), 220-229. doi: 10.1038/nrgastro.2012.239

- Halsted, J. A., & Smith, J. C., Jr. (1970). Plasma-zinc in health and disease. *Lancet*, *1*(7642), 322-324. doi: 10.1016/s0140-6736(70)90701-4
- Hassan, T. H., Badr, M. A., Karam, N. A., Zkaria, M., El Saadany, H. F., Abdel Rahman, D. M., . . . Selim, A. M. (2016). Impact of iron deficiency anemia on the function of the immune system in children. *Medicine*, *95*(47), e5395-e5395. doi: 10.1097/MD.00000000000005395
- Hassan, E.-S., Mansour, A., Shaheen, H., Amine, M., Riddle, M., Young, S., . . . Levin, S. (2014). The impact of household hygiene on the risk of bacterial diarrhea among Egyptian children in rural areas, 2004–2007. *Journal of infection in developing countries*, *8*, 1541-1551. doi: 10.3855/jidc.4539
- Huang, D. B., Nataro, J. P., DuPont, H. L., Kamat, P. P., Mhatre, A. D., Okhuysen, P. C., & Chiang, T. (2006). Enteroaggregative *Escherichia coli* Is a Cause of Acute Diarrheal Illness: A Meta-Analysis. *Clinical Infectious Diseases*, *43*(5), 556-563. doi: 10.1086/505869
- Huang, Z., Liu, Y., Qi, G., Brand, D., & Zheng, S. (2018). Role of Vitamin A in the Immune System. *Journal of Clinical Medicine*, *7*, 258. doi: 10.3390/jcm7090258
- Idjradinata, P., & Pollitt, E. (1993). Reversal of developmental delays in iron-deficient anaemic infants treated with iron. *Lancet*, *341*(8836), 1-4. doi: 10.1016/0140-6736(93)92477-b
- Inchauste, L., Patzi, M., Halvorsen, K., Solano, S., Montesano, R., & Iñiguez, V. (2017). Impact of rotavirus vaccination on child mortality, morbidity, and rotavirus-related hospitalizations in Bolivia. *International Journal of Infectious Diseases*, *61*, 79-88. doi: 10.1016/j.ijid.2017.06.006
- Jain, S., Gautam, V., & Naseem, S. (2011). Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, *3*(1), 118-127. doi: 10.4103/0975-7406.76489
- Jiang, B., Snipes-Magaldi, L., Dennehy, P., Keyserling, H., Holman, R. C., Bresee, J., . . . Glass, R. I. (2003). Cytokines as mediators for or effectors against rotavirus disease in children. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, *10*(6), 995-1001. doi: 10.1128/cdli.10.6.995-1001.2003
- Joffré, E. (2010). *Caracterización clínico-epidemiológica de la diarrea viral y bacteriana, y diversidad genética de aislados de Escherichia coli enteroagregativa (EAEC) en La Paz y Cochabamba durante 2007-2008*. (Licenciatura), Universidad Mayor de San Andres, La Paz- Bolivia.
- John, B. M., Devgan, A., & Mitra, B. (2014). Prevalence of rotavirus infection in children below two years presenting with diarrhea. *Medical journal, Armed Forces India*, *70*(2), 116-119. doi: 10.1016/j.mjafi.2014.02.008
- Johnston, J., Gillespie, S., & Initiative, M. (1998). *Expert Consultation on Anemia Determinants and Interventions: proceedings of a conference held Sept. 16-17, 1997, Ottawa, Canada*: Micronutrient Initiative, Ottawa, ON, CA.
- Kabayiza, J. C., Andersson, M. E., Nilsson, S., Bergstrom, T., Muhirwa, G., & Lindh, M. (2014). Real-time PCR identification of agents causing diarrhea in Rwandan children less than 5 years of age. *Pediatr Infect Dis J*, *33*(10), 1037-1042. doi: 10.1097/inf.0000000000000448

- Kabayiza, J.-C., Andersson, M., Nilsson, S., Baribwira, C., Muhirwa, G., Bergström, T., & Lindh, M. (2014). Diarrhoeagenic microbes by real-time PCR in Rwandan children under 5 years of age with acute gastroenteritis. *Clinical Microbiology and Infection*, 20. doi: 10.1111/1469-0691.12698
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nat Rev Microbiol*, 2(2), 123-140. doi: 10.1038/nrmicro818
- Koh, H., Baek, S. Y., Shin, J. I., Chung, K. S., & Jee, Y. M. (2008). Coinfection of viral agents in Korean children with acute watery diarrhea. *Journal of Korean medical science*, 23(6), 937-940. doi: 10.3346/jkms.2008.23.6.937
- Kosek, M., Bern, C., & Guerrant, R. L. (2003). The global burden of diarrhoeal disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bulletin of the World Health Organization*, 81(3), 197-204.
- Kotloff, K., P Nataro, J., Blackwelder, W., Nasrin, D., Farag, T., Panchalingam, S., . . . M Levine, M. (2013). Burden and Aetiology of Diarrhoeal Disease in Infants and Young Children in Developing Countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A Prospective, Case-Control Study. *Lancet*, 382. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60844-2
- Kotloff, K. L., Platts-Mills, J. A., Nasrin, D., Roose, A., Blackwelder, W. C., & Levine, M. M. (2017). Global burden of diarrheal diseases among children in developing countries: Incidence, etiology, and insights from new molecular diagnostic techniques. *Vaccine*, 35(49, Part A), 6783-6789. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.036>
- Krebs, N. F. (2000). Overview of Zinc Absorption and Excretion in the Human Gastrointestinal Tract. *The Journal of Nutrition*, 130(5), 1374S-1377S. doi: 10.1093/jn/130.5.1374S
- Lamberti, L. M., Fischer Walker, C. L., Noiman, A., Victora, C., & Black, R. E. (2011). Breastfeeding and the risk for diarrhea morbidity and mortality. *BMC public health*, 11 Suppl 3(Suppl 3), S15-S15. doi: 10.1186/1471-2458-11-S3-S15
- Lartey, A., Manu, A., Brown, K. H., & Dewey, K. G. (2000). Predictors of micronutrient status among six- to twelve-month-old breast-fed Ghanaian infants. *J Nutr*, 130(2), 199-207. doi: 10.1093/jn/130.2.199
- Lee, H., & Ko, G. (2016). Antiviral effect of vitamin A on norovirus infection via modulation of the gut microbiome. *Scientific Reports*, 6, 25835. doi: 10.1038/srep25835
- Li, D., Breiman, A., le Pendu, J., & Uyttendaele, M. (2015). Binding to histo-blood group antigen-expressing bacteria protects human norovirus from acute heat stress. *Frontiers in microbiology*, 6, 659-659. doi: 10.3389/fmicb.2015.00659
- Li, L. L., Liu, N., Humphries, E. M., Yu, J. M., Li, S., Lindsay, B. R., . . . Duan, Z. J. (2016). Aetiology of diarrhoeal disease and evaluation of viral-bacterial coinfection in children under 5 years old in China: a matched case-control study. *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 22(4), 381.e389-381.e316. doi: 10.1016/j.cmi.2015.12.018

- Liu, L., Oza, S., Hogan, D., Chu, Y., Perin, J., Zhu, J., . . . Black, R. E. (2016). Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet (London, England)*, 388(10063), 3027-3035. doi: 10.1016/S0140-6736(16)31593-8
- Long, K., Garcia, C., Santos, J., Rosado, J., Hertzmark, E., L Dupont, H., & Ko, G. (2007). Vitamin A Supplementation Has Divergent Effects on Norovirus Infections and Clinical Symptoms among Mexican Children. *The Journal of infectious diseases*, 196, 978-985. doi: 10.1086/521195
- Long, K. Z., Garcia, C., Ko, G., Santos, J. I., Al Mamun, A., Rosado, J. L., . . . Nathakumar, N. (2011). Vitamin A modifies the intestinal chemokine and cytokine responses to norovirus infection in Mexican children. *The Journal of Nutrition*, 141(5), 957-963. doi: 10.3945/jn.110.132134
- Lopman, B. A., Trivedi, T., Vicuña, Y., Costantini, V., Collins, N., Gregoricus, N., . . . Cooper, P. J. (2015). Norovirus Infection and Disease in an Ecuadorian Birth Cohort: Association of Certain Norovirus Genotypes With Host FUT2 Secretor Status. *The Journal of infectious diseases*, 211(11), 1813-1821. doi: 10.1093/infdis/jiu672
- Lukacik, M., L Thomas, R., & V Aranda, J. (2008). A meta-analysis of the effects of oral zinc in the treatment of acute and persistent diarrhea. *Pediatrics*, 121, 326-336. doi: 10.1542/peds.2007-0921
- Mathijs, E., Stals, A., Baert, L., Botteldoorn, N., Denayer, S., Mauroy, A., . . . Thiry, E. (2012). A Review of Known and Hypothetical Transmission Routes for Noroviruses. *Food and environmental virology*, 4, 131-152. doi: 10.1007/s12560-012-9091-z
- Mayo-Wilson, E., Imdad, A., Herzer, K., Yakoob, M. Y., & Bhutta, Z. A. (2011). Vitamin A supplements for preventing mortality, illness, and blindness in children aged under 5: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed.)*, 343, d5094. doi: 10.1136/bmj.d5094
- McAtee, C. L., Webman, R., Gilman, R. H., Mejia, C., Bern, C., Apaza, S., . . . Torrico, F. (2016). Burden of Norovirus and Rotavirus in Children After Rotavirus Vaccine Introduction, Cochabamba, Bolivia. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 94(1), 212-217. doi: 10.4269/ajtmh.15-0203
- McClarren, R. L., Lynch, B., & Nyayapati, N. (2011). Acute Infectious Diarrhea. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 38(3), 539-564. doi: https://doi.org/10.1016/j.pop.2011.05.008
- McDaniel, K. L., Restori, K. H., Dodds, J. W., Kennett, M. J., Ross, A. C., & Cantorna, M. T. (2015). Vitamin A-Deficient Hosts Become Nonsymptomatic Reservoirs of Escherichia coli-Like Enteric Infections. *Infection and immunity*, 83(7), 2984-2991. doi: 10.1128/IAI.00201-15
- Mejia, L. A., & Arroyave, G. (1982). The effect of vitamin A fortification of sugar on iron metabolism in preschool children in Guatemala. *Am J Clin Nutr*, 36(1), 87-93. doi: 10.1093/ajcn/36.1.87

- Melo, M. C. N. d., Taddei, J. A. A. C., Diniz-Santos, D. R., Vieira, C., Carneiro, N. B., Melo, R. F., & Silva, L. R. (2008). Incidence of diarrhea in children living in urban slums in Salvador, Brazil. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, *12*, 89-93.
- Merrill, R. D., Burke, R. M., Northrop-Clewes, C. A., Rayco-Solon, P., Flores-Ayala, R., Namaste, S. M. L., . . . Suchdev, P. S. (2017). Factors associated with inflammation in preschool children and women of reproductive age: Biomarkers Reflecting Inflammation and Nutritional Determinants of Anemia (BRINDA) project. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *106*(suppl_1), 348S-358S. doi: 10.3945/ajcn.116.142315
- Mohammed, S., & Tamiru, D. (2014). The Burden of Diarrheal Diseases among Children under Five Years of Age in Arba Minch District, Southern Ethiopia, and Associated Risk Factors: A Cross-Sectional Study. *International scholarly research notices*, *2014*, 654901-654901. doi: 10.1155/2014/654901
- Moon, J. Y., Park, J. H., & Kim, Y. B. (2005). Molecular epidemiological characteristics of virulence factors on enteroaggregative *E. coli*★. *FEMS Microbiology Letters*, *253*(2), 215-220. doi: 10.1016/j.femsle.2005.09.038
- Moshtagian, F., Alipour, M., & Yahyapour, Y. (2016). Prevalence of *Escherichia coli* Pathotypes Among Children With Diarrhea in Babol, Northern Iran. *Int J Enteric Pathog*, *4*(3), 1-36326. doi: 10.15171/ijep.2016.01
- Moyo, S. J., Kommedal, Ø., Blomberg, B., Hanevik, K., Tellevik, M. G., Maselle, S. Y., & Langeland, N. (2017). Comprehensive Analysis of Prevalence, Epidemiologic Characteristics, and Clinical Characteristics of Monoinfection and Coinfection in Diarrheal Diseases in Children in Tanzania. *American journal of epidemiology*, *186*(9), 1074-1083. doi: 10.1093/aje/kwx173
- Mujica-Coopman, M., Brito, A., Lopez de Romaña, D., Ríos-Castillo, I., Cori, H., & Olivares, M. (2015). Prevalence of Anemia in Latin America and the Caribbean. *Food and nutrition bulletin*, *36*, S119-S128. doi: 10.1177/0379572115585775
- Mwangi, S. M., McOdimba, F., & Logan-Henfrey, L. (1995). The effect of *Trypanosoma brucei brucei* infection on rabbit plasma iron and zinc concentrations. *Acta Trop*, *59*(4), 283-291.
- Nataro, J. P., & Kaper, J. B. (1998). Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical microbiology reviews*, *11*(1), 142-201. doi: 10.1128/cmr.11.1.142
- Navaneethan, U., & Giannella, R. (2008). Mechanisms of infectious diarrhea. *Nature clinical practice. Gastroenterology & hepatology*, *5*, 637-647. doi: 10.1038/ncpgasthep1264
- Nikawa, T., Odahara, K., Koizumi, H., Kido, Y., Teshima, S., Rokutan, K., & Kishi, K. (1999). Vitamin A Prevents the Decline in Immunoglobulin A and Th2 Cytokine Levels in Small Intestinal Mucosa of Protein-Malnourished Mice. *The Journal of Nutrition*, *129*(5), 934-941. doi: 10.1093/jn/129.5.934
- O’Ryan, M., Riera-Montes, M., & Lopman, B. (2017). Norovirus in Latin America: Systematic Review and Meta-analysis. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, *36*(2), 127-134. doi: 10.1097/inf.0000000000001369

- O'Ryan, M. L., Lucero, Y., Prado, V., Santolaya, M. E., Rabello, M., Solis, Y., . . . Mamani, N. (2009). Symptomatic and asymptomatic rotavirus and norovirus infections during infancy in a Chilean birth cohort. *Pediatr Infect Dis J*, 28(10), 879-884. doi: 10.1097/INF.0b013e3181a4bb60
- Paniagua, M., Espinoza, F., Ringman, M., Reizenstein, E., Svennerholm, A. M., & Hallander, H. (1997). Analysis of incidence of infection with enterotoxigenic *Escherichia coli* in a prospective cohort study of infant diarrhea in Nicaragua. *Journal of clinical microbiology*, 35(6), 1404-1410.
- Parashar, U. D., Hummelman, E. G., Bresee, J. S., Miller, M. A., & Glass, R. I. (2003). Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerging infectious diseases*, 9(5), 565-572. doi: 10.3201/eid0905.020562
- Patel, M. M., Widdowson, M.-A., Glass, R. I., Akazawa, K., Vinjé, J., & Parashar, U. D. (2008). Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerging infectious diseases*, 14(8), 1224-1231. doi: 10.3201/eid1408.071114
- Platts-Mills, J. A., Babji, S., Bodhidatta, L., Gratz, J., Haque, R., Havt, A., . . . Houpt, E. R. (2015). Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries: a multisite birth cohort study (MAL-ED). *The Lancet Global Health*, 3(9), e564-e575. doi: 10.1016/S2214-109X(15)00151-5
- Qadri, F., Das, S. K., Faruque, A. S., Fuchs, G. J., Albert, M. J., Sack, R. B., & Svennerholm, A. M. (2000). Prevalence of toxin types and colonization factors in enterotoxigenic *Escherichia coli* isolated during a 2-year period from diarrheal patients in Bangladesh. *Journal of clinical microbiology*, 38(1), 27-31.
- Rahmani S, D. A. (2015). Iron Deficiency Anemia in Children and Alteration of the Immune System. *J Nutr Food Sci*, 5(333). doi: 10.4172/2155-9600.1000333
- Randremanana, R., Randrianirina, F., Gousseff, M., Dubois, N., Razafindratsimandresy, R., Hariniana, E. R., . . . Richard, V. (2012). Case-control study of the etiology of infant diarrheal disease in 14 districts in Madagascar. *PloS one*, 7(9), e44533-e44533. doi: 10.1371/journal.pone.0044533
- Richards, G. P., Watson, M. A., Fankhauser, R. L., & Monroe, S. S. (2004). Genogroup I and II noroviruses detected in stool samples by real-time reverse transcription-PCR using highly degenerate universal primers. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 7179-7184. doi: 10.1128/AEM.70.12.7179-7184.2004
- Rivera, R., Forney, K., Castro, M. R., Rebolledo, P. A., Mamani, N., Patzi, M., . . . Iñiguez, V. (2013). Rotavirus genotype distribution during the pre-vaccine period in Bolivia: 2007-2008. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 17(9), e762-e767. doi: 10.1016/j.ijid.2013.03.016
- Robilotti, E., Deresinski, S., & Pinsky, B. A. (2015). Norovirus. *Clinical microbiology reviews*, 28(1), 134-164. doi: 10.1128/CMR.00075-14
- Rockx, B., de Wit, M., Vennema, H., Vinjé, J., de Bruin, E., van Duynhoven, Y., & Koopmans, M. (2002). Natural History of Human Calicivirus Infection: A Prospective Cohort Study. *Clinical Infectious Diseases*, 35(3), 246-253. doi: 10.1086/341408

- Rodas, C., Mamani, R., Blanco, J., Eulogio Blanco, J., Wiklund, G., Svennerholm, A.-M., . . . Iniguez, V. (2011). Enterotoxins, colonization factors, serotypes and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains isolated from hospitalized children with diarrhea in Bolivia. *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases*, *15*, 132-137. doi: 10.1016/S1413-8670(11)70158-1
- Rogawski, E. T., Guerrant, R. L., Havt, A., Lima, I. F. N., Medeiros, P. H. Q. S., Seidman, J. C., . . . Investigators, M.-E. N. (2017). Epidemiology of enteroaggregative *Escherichia coli* infections and associated outcomes in the MAL-ED birth cohort. *PLoS neglected tropical diseases*, *11*(7), e0005798-e0005798. doi: 10.1371/journal.pntd.0005798
- Rogawski, E. T., & Guerrant, R. L. (2017). The Burden of Enteropathy and "Subclinical" Infections. *Pediatric clinics of North America*, *64*(4), 815-836. doi: 10.1016/j.pcl.2017.03.003
- Roohani, N., Hurrell, R., Kelishadi, R., & Schulin, R. (2013). Zinc and its importance for human health: An integrative review. *Journal of research in medical sciences : the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, *18*(2), 144-157.
- Rouhani, S., Peñataro Yori, P., Paredes Olortegui, M., Sigvas Salas, M., Rengifo Trigos, D., Mondal, D., . . . Development Project Network, I. (2016). Norovirus Infection and Acquired Immunity in 8 Countries: Results From the MAL-ED Study. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *62*(10), 1210-1217. doi: 10.1093/cid/ciw072
- Sandstead, H. H. (1991). Zinc deficiency. A public health problem? *Am J Dis Child*, *145*(8), 853-859. doi: 10.1001/archpedi.1991.02160080029016
- Santos, F. S., Santos, F. C. S., Santos, L. H. d., Leite, A. M., & Mello, D. F. d. (2015). Breastfeeding and protection against diarrhea: an integrative review of literature. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, *13*(3), 435-440. doi: 10.1590/S1679-45082015RW3107
- Sarkar, R., Gladstone, B. P., Warier, J. P., Sharma, S. L., Raman, U., Muliyl, J., & Kang, G. (2016). Rotavirus and other diarrheal disease in a birth cohort from Southern Indian community. *Indian Pediatrics*, *53*(7), 583-588. doi: 10.1007/s13312-016-0892-2
- Schaible, U., & H E Kaufmann, S. (2005). Iron and microbial infection. *Nature reviews. Microbiology*, *2*, 946-953. doi: 10.1038/nrmicro1046
- Semba, R. D., & Bloem, M. W. (2002). The anemia of vitamin A deficiency: epidemiology and pathogenesis. *European Journal of Clinical Nutrition*, *56*(4), 271-281. doi: 10.1038/sj.ejcn.1601320
- Shrivastava, A. K., Kumar, S., Mohakud, N. K., Suar, M., & Sahu, P. S. (2017). Multiple etiologies of infectious diarrhea and concurrent infections in a pediatric outpatient-based screening study in Odisha, India. *Gut pathogens*, *9*, 16-16. doi: 10.1186/s13099-017-0166-0
- Sjöling, A., Wiklund, G., Savarino, S. J., Cohen, D. I., & Svennerholm, A. M. (2007). Comparative analyses of phenotypic and genotypic methods for detection of

- enterotoxigenic *Escherichia coli* toxins and colonization factors. *Journal of clinical microbiology*, 45(10), 3295-3301. doi: 10.1128/JCM.00471-07
- Signore, A. (2013). About inflammation and infection. *EJNMMI research*, 3(1), 8-8. doi: 10.1186/2191-219X-3-8
- Simon, L., Gauvin, F., Amre, D. K., Saint-Louis, P., & Lacroix, J. (2004). Serum Procalcitonin and C-Reactive Protein Levels as Markers of Bacterial Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*, 39(2), 206-217. doi: 10.1086/421997
- Sinharoy, S. S., Schmidt, W.-P., Cox, K., Clemence, Z., Mfura, L., Wendt, R., . . . Clasen, T. (2016). Child diarrhoea and nutritional status in rural Rwanda: a cross-sectional study to explore contributing environmental and demographic factors. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, 21(8), 956-964. doi: 10.1111/tmi.12725
- Steinsland thurnham, H., Valentiner-Branth, P., Perch, M., Dias, F., Fischer, T., Aaby, P., . . . Sommerfelt, H. (2003). Enterotoxigenic *Escherichia coli* Infections and Diarrhea in a Cohort of Young Children in Guinea-Bissau. *The Journal of infectious diseases*, 186, 1740-1747. doi: 10.1086/345817
- Stephensen, C. B. (2001). Vitamin A, infection, and immune function. *Annu Rev Nutr*, 21, 167-192. doi: 10.1146/annurev.nutr.21.1.167
- Strand, T., & Mathisen, M. (2009). Zinc and childhood infections: From the laboratory to new treatment recommendations. *Norsk Epidemiologi*, 15. doi: 10.5324/nje.v15i2.213
- Thorne, L. G., & Goodfellow, I. G. (2014). Norovirus gene expression and replication. *Journal of General Virology*, 95(2), 278-291. doi: <https://doi.org/10.1099/vir.0.059634-0>
- Thurnham, D. I. (2008). Impact of disease on markers of micronutrient status. *Proceedings of the Nutrition Society*, 56(1B), 421-431. doi: 10.1079/PNS19970043
- Torres, O. R., González, W., Lemus, O., Pratdesaba, R. A., Matute, J. A., Wiklund, G., . . . Svennerholm, A. M. (2015). Toxins and virulence factors of enterotoxigenic *Escherichia coli* associated with strains isolated from indigenous children and international visitors to a rural community in Guatemala. *Epidemiology and infection*, 143(8), 1662-1671. doi: 10.1017/S0950268814002295
- UNICEF. (2016). One is too many Ending child deaths from pneumonia and diarrhoea.
- UNICEF. (2009). State of the world's Children. Geneva: World Health Organization.
- UNICEF, W. (2009). *Baby-Friendly Hospital Initiative. Revised, updated and expanded for integrated care*. Geneva: World Health Organization
- Vidal, R., Vidal, M., Lagos, R., Levine, M., & Prado, V. (2004). Multiplex PCR for diagnosis of enteric infections associated with diarrheagenic *Escherichia coli*. *Journal of clinical microbiology*, 42(4), 1787-1789. doi: 10.1128/jcm.42.4.1787-1789.2004.
- Villamor, E., & Fawzi, Wafaie W. (2000). Vitamin A Supplementation: Implications for Morbidity and Mortality in Children. *The Journal of infectious diseases*, 182 Suppl 1, S122-133. doi: 10.1086/315921

- Walker, C. L. F., Rudan, I., Liu, L., Nair, H., Theodoratou, E., Bhutta, Z. A., . . . Black, R. E. (2013). Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. *Lancet*, *381*(9875), 1405-1416. doi: 10.1016/s0140-6736(13)60222-6
- Wander, K., Brindle, E., & O'Connor, K. A. (2012). Sensitivity and specificity of C-reactive protein and $\alpha(1)$ -acid glycoprotein for episodes of acute infection among children in Kilimanjaro, Tanzania. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council*, *24*(4), 565-568. doi: 10.1002/ajhb.22261
- WHO. (2017). Diarrhoeal disease. from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
- WHO. (2002). *The world health report 2002, Reducing Risks, Promoting Healthy Life*. Geneva, Switzerland.
- WHO. (1995). The treatment of diarrhoea - a manual for physicians and other senior health workers. Geneva, Switzerland: World Health Organization/CDR/95.3.
- Zhang, S.-X., Zhou, Y.-M., Xu, W., Tian, L.-G., Chen, J.-X., Chen, S.-H., . . . Zhou, X.-N. (2016). Impact of co-infections with enteric pathogens on children suffering from acute diarrhea in southwest China. *Infectious diseases of poverty*, *5*(1), 64-64. doi: 10.1186/s40249-016-0157-2

ANEXO A



CERTIFICADO DE AVAL ÉTICO

A quien corresponda:

La Comisión de Ética de la Investigación del Comité Nacional de Bioética (CEI-CNB), tiene a bien informar que fue presentado a la CEI-CNB, para su revisión y aval ético el proyecto **“Evaluación de la relación entre el estado nutricional, la respuesta inmunológica a la vacuna anti-rotaviral y la enfermedad diarreica aguda en la población infantil de El Alto, Bolivia”**, por la Emory University, Instituto de Biología Molecular y Biotecnología de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) y el Centro de Atención Integral para Adolescentes (CAIA).

Dicho proyecto fue evaluado bajo la normativa internacional, que indica los criterios éticos que se toman en cuenta para todo proyecto de investigación que involucra seres humanos:

1. Validez científica (diseño metodológico bien formulado)
2. Selección equitativa de la muestra (tomando en cuenta principalmente a grupos vulnerables)
3. Validez social (pertinencia, atingencia y relevancia del proyecto)
4. Relación Riesgo/Beneficio (viendo que el riesgo sea mínimo y mayor el beneficio para los sujetos de estudio)
5. El Consentimiento Informado (documento redactado de una manera clara, comprensible y lo suficientemente informativo para el sujeto de investigación)

Una vez verificadas las correcciones hechas por los Investigadores principales, en base a las observaciones de la CEI, es que se tiene a bien certificar que dicho proyecto cumple con todos los requisitos éticos arriba mencionados, por lo que los miembros de la CEI-CNB le otorgan el respectivo AVAL ÉTICO, para la prosecución en su ejecución.

Atentamente

Dr. Javier Luna Orosco E.
COORDINADOR COMITÉ NACIONAL DE BIOÉTICA

La Paz, 9 de Abril de 2013