

Artículo original

Inmunoglobulina A secretora (IgAs) en saliva frente a cepas de *Escherichia coli* portadoras de serogrupos O asociados a *Escherichia coli* diarreogénicas en infantes sanos menores de 5 años

Rosabel González*, Yordi Boher

Laboratorio de Enfermedades Entéricas de la Infancia, Instituto de Biomedicina Dr. Jacinto Convit.
Ministerio del Poder Popular para la Salud. Caracas, Venezuela

Recibido 28 de abril de 2024; aceptado 05 de junio de 2024

<https://doi.org/10.69833/RSVM.2024.1.44.02>

Resumen: La *Escherichia coli* diarreogénica (DEC) afecta a la población infantil en Venezuela, sin embargo, pocos estudios han evaluado la respuesta inmune frente a DEC y el papel de la lactancia materna. Se analizó, en 100 niños sanos < 5 años, la respuesta IgA secretora (IgAs) en saliva frente a cepas de *E. coli* portadoras de serogrupos "O" asociados a DEC. Se utilizó un ELISA indirecto y como antígenos cepas inactivadas de *E. coli* distribuidas en dos mezclas: A (serogrupos O55, O111, O119, O126) y B (serogrupos O127, O125, O142). Para los análisis se utilizaron las pruebas Chi-cuadrado ($p < 0,05$), Odds Ratio (OR), y medias móviles. El 81,3% de los niños presentó respuesta únicamente a la mezcla A; 6,2% reaccionó exclusivamente a la mezcla B y 12,5% presentaron respuesta a ambas mezclas. En el grupo de 11-27 meses se observó un número significativo de niños con respuesta frente a las cepas evaluadas (68,9 %), al compararlo con el de 0-10 meses (26,5%; $p < 0,000$) y 28-59 meses (38%; $p = 0,001$). Se determinó una relación inversa entre la lactancia materna y la respuesta a IgAs en saliva frente a las cepas evaluadas ($p = 0,002$; $OR = 0,171$; 0,051-0,576). El estudio aporta conocimiento sobre la respuesta inmune a las DEC y fortalece las medidas de prevención como la lactancia materna.

Palabras clave: diarrea, IgAs, lactancia materna, *Escherichia coli*, respuesta inmune, ELISA

Secretory immunoglobulin A (IgAs) in saliva against *Escherichia coli* strains carrying serogroups O associated with diarrheagenic *Escherichia coli* in healthy infants under 5

Abstract: Diarrheal *Escherichia coli* (DEC) infects the child population in Venezuela; however, few studies have evaluated the immune response against DEC and the role of breastfeeding. The secretory IgA response (IgAs) in saliva against *E. coli* strains carrying serogroups "O" associated with DEC was analyzed in 100 healthy children < 5 years old. An indirect ELISA and inactivated *E. coli* strains distributed in two mixtures as antigens were used: A (O55, O111, O119, O126 serogroups) and B (O127, O125, O142 serogroups). Chi-square tests ($p < 0.05$), Odds Ratio (OR), and moving averages were used for the analyses. Eighty-eight percent (81.3%) of the children responded only to mixture A; 6.2% reacted exclusively to mixture B, and 12.5% responded to both mixtures. In the 11-27 month group, a significant number of children responded (68.9%) when compared to the 0-10 month group (26.5%; $p < 0.000$) and 28-59 (38%; $p = 0.001$). An inverse relationship was found between breastfeeding and the IgAs response in saliva against the strains evaluated ($p = 0.002$; $OR = 0.171$; 0.051-0.576). The study provides knowledge about the immune response to DEC and strengthens prevention measures such as breastfeeding.

Keywords: diarrhea, IgA, breastfeeding, *Escherichia coli*, immune response, ELISA

*Correspondencia:

E-mail: gonzalezrosabel58@gmail.com

ORCID: 0000-0003-2142-0875

Introducción

El sistema gastrointestinal de los humanos es colonizado a temprana edad por la bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*) generando una coexistencia de beneficios mutuos. Pero, algunas cepas del microorganismo adquieren mecanismos de patogenicidad que les confieren ventajas evolutivas y ocasionan una serie de enfermedades en los humanos. Estos mecanismos de virulencia están codificados por grupos de genes que pueden transferirse entre las cepas por diferentes mecanismos, y originar nuevas combinaciones, sin embargo, solo las más exitosas son las que persisten. De manera que, se han descrito hasta los momentos tres grandes grupos de *E. coli* que producen enfermedades: las cepas de *E. coli* que causa diarrea (DEC), las que originan infecciones urinarias (UTIs) y las que generan cuadros de sepsis/meningitis [1-3]. En el grupo de las DEC, según los mecanismos de virulencia definidos, se han determinado 6 patotipos: *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterohemorrágica (STEC/EHEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC) y la *E. coli* con adherencia difusa (DAEC) [3].

Además, los patotipos de *E. coli*, dependiendo de la composición del antígeno O (OAg) del lipopolisacárido (LPS) de la membrana externa bacteriana, se han clasificado en serogrupos. El OAg está constituido por unidades de oligosacáridos variables que pueden contener entre dos a ocho residuos de azúcares [2], lo que ha permitido establecer diferencias o semejanzas (en menor grado) entre los distintos patotipos de *E. coli*. De esta forma, a pesar de la gran variedad de serogrupos de *E. coli* detectados hasta los momentos (185; O1-O185), se han reportado serogrupos asociados mayormente a un patotipo específico de DEC como, por ejemplo: ETEC serogrupos O8, O6, O78 y O25; ECEP serogrupos O55, O86, O111, O114, O119, O127 y O142 y STEC/EHEC serogrupos O157, O26, O45, O103, O111, O121 y O145 [4,5].

Igualmente, se ha demostrado que el OAg es altamente inmunogénico y juega un papel importante en la adherencia bacteriana [6-8]. Asimismo, los estudios señalan que es poco probable una activación eficaz de la inmunidad contra las células bacterianas sin la inducción de una respuesta inmune frente a los OAg de la pared celular, como lo reporta un trabajo donde se detectaron títulos elevados de anticuerpos séricos contra los OAg asociados a cepas de DEC [9].

La respuesta inmune inducida por los patógenos entéricos como las DEC es tanto sistémica como de mucosas, aunque esta última se considera la más importante en la lucha contra las infecciones entéricas [10-13]. En este aspecto, las investigaciones reportan que los anticuerpos producidos en la mucosa intestinal (Tejido Linfoide Asociado al Intestino, GALT), principalmente la

inmunoglobulina A secretora (IgAs), son los responsables de prevenir la colonización y adherencia de las bacterias a los enterocitos [11]. Además, los linfocitos sensibilizados en el GALT migran a través del torrente sanguíneo a lugares extraintestinales como el estroma de las glándulas salivares, y se diferencian en células plasmáticas que producen IgAs específica [13].

Se ha determinado, que la IgAs es especialmente crítica en los primeros años de vida, sin embargo, durante el período postnatal sólo se observan rastros de IgAs en las secreciones externas humanas como la saliva, por lo que la defensa del recién nacido depende del suministro de anticuerpos IgAs de la leche materna. En este aspecto, se ha evidenciado que solo hasta los dos años se constituye una barrera adecuada en las mucosas [14,15], no obstante, los diferentes factores implicados en este proceso de maduración no están bien establecidos y los estudios muestran que la edad a la cual se genera la respuesta en los niños varía según una serie de factores ambientales y culturales [16], lo que impulsa la realización de estos estudios en cada región y país.

Los estudios epidemiológicos y etiológicos describen a ECEP y ECET como las principales DEC que afectan a la población infantil, como lo demuestra una revisión sistemática sobre los trabajos publicados entre 1990 y 2011 en distintos países, que reporta a ECEP como la más importante DEC causante de muerte en la población menor de 5 años [17]. Otro estudio, realizado por investigadores de Perú en la población menor de 3 años, mostró una importante prevalencia de EPEC en las muestras de heces diarreicas; este estudio además reportó que la incidencia de ECEP aumentó con la edad, siendo el grupo con mayor frecuencia de aislamientos el de 13-24 meses [18]. Recientemente, un trabajo multicéntrico realizado en varios países (Dhaka, Bangladesh; Vellore, India; Bhaktapur, Nepal; Naushero Feroze, Pakistán; Venda, Sudáfrica; Haydom, Tanzania; Fortaleza, Brasil; y Loreto, Perú), que analizó las muestras de niños menores de 1 año con diarrea aguda, determinó que ETEC y ECEP son las DEC más importantes, con frecuencias entre 14,9% y 5,4%, respectivamente [19]. Nuestro país no escapa a esta problemática, como lo demuestran los trabajos realizados en el estado Sucre y en Caracas, los cuales reportan a ECEP y ETEC como las principales DEC en la población infantil [20-24].

Sin embargo, a pesar de que las DEC son importantes agentes causales de diarrea aguda infantil en Venezuela, no se han publicado en el país trabajos sobre la inmunología de la infección por estos agentes, desconociéndose la edad a la cual se genera la respuesta inmune frente a las DEC y su relación con la práctica de la lactancia materna. Por estos motivos y dado que la recolección de saliva es un método simple, rápido y no invasivo [25], el presente trabajo tuvo como objetivo

evaluar en la población menor de 5 años sana, la respuesta IgAs en saliva frente a cepas de *E. coli* de referencia portadoras de serogrupos O asociados a DEC. Además, se valoró la relación entre la práctica de lactancia materna y la respuesta IgAs en saliva observada frente a estas cepas. La investigación se realizó en el Instituto de Biomedicina Dr. Jacinto Convit del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS) con el apoyo de la consulta de niños sanos del Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas.

Materiales y métodos

Características de la población, consentimiento informado y datos recolectados: se realizó un estudio observacional, analítico, transversal y de campo. La población estuvo constituida por 100 niños menores de 5 años sanos (47 del género femenino y 53 del masculino), que asistieron a la Consulta de Niños Sanos del Servicio de Pediatría del Hospital Vargas de Caracas. Se excluyeron los niños cuyas historias clínicas reportaron antecedentes prenatales de enfermedades crónicas, presencia de enfermedades crónicas, infecciones virales o bacterianas, enfermedades de probable etiología alérgica, ingesta de cualquier medicación, infección aguda o crónica de la cavidad oral y cualquier otra patología detectada en el momento del examen físico.

Antes de ser incluido el niño en el estudio, se informó y explicó de forma oral a los padres o representantes los siguientes puntos: propósito de la investigación, beneficios, tipo de muestra, pruebas, análisis a realizar y la confidencialidad de la información (se explicó sobre el manejo, administración y difusión de la información recolectada). La participación fue voluntaria y una vez explicados los alcances e implicaciones del trabajo, se firmó el consentimiento informado. Se recolectaron los siguientes datos: edad, género y la práctica alimentaria, la cual se clasificó según los criterios de alimentación infantil descritos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [26]. De esta forma, la práctica alimentaria se dividió en tres grupos: un grupo comprendido por los niños que lactan leche materna exclusiva (LME), un segundo grupo de niños que toman leche materna y alimentos sólidos, semisólidos o suaves (LM+OTROS) y un tercer grupo constituido por los niños que no toman leche materna (OTROS).

Toma de la muestra de saliva: las muestras de saliva se recolectaron del piso de la boca de los niños, de forma no estimulada, utilizando goteros de plástico estériles y se transfirieron inmediatamente a un tubo con ácido etilendiaminotetraacético (BD- Vacutanier® - EDTA). La toma de la saliva se realizó una hora después de la alimentación del niño para evitar contaminación con

elementos alimenticios. Las salivas se centrifugaron (15 min; 10.000 g a 4 °C) para sedimentar los desechos y los sobrenadantes se transfirieron a viales estériles para conservarlos a -80 °C hasta la realización del ensayo inmuno-enzimático (ELISA).

Caracterización de las cepas de E. coli que se utilizaron como antígenos en la prueba de ELISA: se utilizaron como antígenos 7 cepas de *E. coli* de referencia: ATCC 12014 [O55:K59(B5):H-], ATCC 33780 [O111:K58(B4):H-], ATCC 12805 [O119:K69(B14)], NCTC 8622 [O126:K7(B16):H2], ATCC 12808 [O125:K70(B15):H], NCTC 9707 [O127:K67(B8):H-] y ATCC 23985 [O142:K86(B):H6], portadoras de serogrupos O asociados mayormente a DEC. Como control negativo se seleccionó a la cepa de referencia ATCC 25922 (O6, biotipo 1) la cual es una cepa de *E. coli* utilizada para control de calidad, particularmente en ensayos de sensibilidad de anticuerpos [27].

Las cepas fueron suministradas por el Instituto Adolfo Lutz de Sao Paulo, Brasil y forman parte del cepario del Laboratorio de Enfermedades Entéricas de la Infancia del Instituto de Biomedicina Dr. Jacinto Convit del Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). La selección de las cepas se basó en los estudios realizados en el país que reportan a estos serogrupos como asociados mayormente a DEC en la población menor de 5 años [20,21,23,24].

Debido a que se utilizaron como antígenos cepas completas de *E. coli*, y considerando que en algunos casos las cepas bacterianas pueden perder total o parcialmente el OAg, adquiriendo la colonia un fenotipo rugoso, se evaluó la expresión del fenotipo liso de las cepas seleccionadas, cada una fue crecida en caldo nutritivo por 18 h a 35 °C y luego sembrada en agar nutritivo (18 h a 35 °C). Las colonias se observaron a la lupa estereoscópica y se seleccionaron las que presentaron bordes lisos, además se comprobó que no autoaglutinaban en presencia de solución salina al 2 %. De esta forma, se aseguró la expresión completa del OAg. Igualmente, se verificó el serogrupo de cada cepa y se evaluaron las posibles reacciones cruzadas mediante la técnica de aglutinación en lámina utilizando sueros comerciales y a partir de un cultivo puro en agar nutritivo. Como resultado se registró una aglutinación cruzada (el suero monovalente O111 reaccionó con la cepa O55).

Obtención de los antígenos (células bacterianas completas): en esta etapa se siguió la metodología descrita por Rowe [28], con algunas modificaciones. Las cepas seleccionadas y el control negativo fueron inoculadas individualmente en 10 mL de caldo nutritivo e incubadas a 37 °C en agitación por 18 h. El contenido de cada tubo se dispensó en frascos de Roux que contenían 120 mL de agar nutritivo y se incubaron a 37 °C por 18 h. Las

bacterias se recolectaron de la superficie del agar con 10 mL de solución salina (0,85%) formolada (0,5% v/v), y se almacenaron a 4 °C por 72 h. Cumplido el tiempo, se realizó la prueba de esterilidad (siembra en agar nutritivo) con el fin de asegurar la muerte bacteriana por el formol. Las suspensiones que no crecieron en el agar nutritivo se trasvasaron a un tubo cónico y se centrifugaron a 1500 g por 10 min a temperatura ambiente. Cada sedimento fue lavado y centrifugado 4 veces con solución salina (0,85%) para luego resuspenderlo en buffer carbonato/bicarbonato (pH 9,6) hasta alcanzar una concentración de 9×10^8 bacterias/mL (McFarland 3).

Prueba de ELISA: el inmunoensayo para la detección de la respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* seleccionadas fue estandarizado en el Laboratorio de Enfermedades Entéricas del Instituto de Biomedicina Dr. Jacinto Convit (MPPS). Teniendo en cuenta la aglutinación cruzada observada (el suero monovalente O111 reaccionó con la cepa O55), se prepararon dos mezclas constituidas cada una por las siguientes cepas: mezcla A (cepas O55, O111, O119 y O126), mezcla B (cepas O127, O125, O142), cada mezcla con una concentración por cepa en buffer carbonato/bicarbonato (pH 9,6) de $1,5 \times 10^8$ bact/mL (McFarland 0,5). El control negativo se diluyó igualmente a $1,5 \times 10^8$ bact/mL. Con el fin de evitar falsos negativos las muestras de saliva se diluyeron 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 y 1/64 en buffer fosfato salino (PBS) + 1% de suero bovino fetal (SBF).

Para la prueba de ELISA se siguieron los siguientes pasos: cada placa de 96 pozos de policloruro de vinilo se sensibilizó con 100 µL por pozo de las mezclas A, B y el control negativo, de forma que, todas las diluciones de una muestra de saliva fueron evaluadas simultáneamente en una misma placa; además, en cada placa se mantuvieron 2 pozos sin sensibilizar para el control interno de la prueba y se incubaron toda la noche a 4 °C en cámara húmeda. Transcurrido el tiempo, se lavaron 3 veces con PBS-Tween20 (0,05%), se bloquearon con PBS-SBF al 5% y se incubaron toda la noche a 4 °C en cámara húmeda. Se lavaron 3 veces con PBS-Tween20 (0,05%), se agregó 50 µL de cada dilución de saliva a los pozos sensibilizados con las mezclas A, B y el control negativo, mientras que, en los pozos para el control interno de la prueba se adicionó solo 50 µL de PBS + SBF (1%), se incubaron las placas toda la noche a 4 °C en cámara húmeda. Las placas se lavaron 3 veces con PBS-Tween20 (0,05%) y se añadió el conjugado anti-IgA cadena α humana-peroxidasa diluida 1:2 000 en PBS-SBF (1%), incubándose por 1 hora a 37 °C en cámara húmeda. Se lavaron 5 veces con PBS-Tween20 (0,05%), se reveló la reacción con 50 µL por pozo de tetrametilbencidina (TMB en tampón acuoso) y se detuvo con 50 µL por pozo de ácido sulfúrico H_2SO_4 (2M). La lectura se realizó a una longitud de onda de 450

nm en un lector de ELISA. Se tomó como una respuesta IgAs en saliva positiva la dilución de saliva a la cual el valor de densidad óptica (DO) en cualquiera de las mezclas A o B duplicó el valor de DO obtenido con la cepa control negativo a la misma dilución.

Análisis de resultados: los datos se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics 26). Se graficó y analizó la distribución, según la edad, de la población con respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* portadoras de serogrupos O asociados a DEC. Para obtener una visión de las fluctuaciones de la respuesta según la edad y observar la existencia de cambios significativos en su comportamiento, se graficó la tendencia de los datos mediante la media móvil de orden 3. Se evaluó la presencia de grupos de edad con diferencias significativas (Chi cuadrado, $p < 0,05$) respecto al número de niños con respuesta. Se utilizó la razón de ventajas (*Odds Ratio*, OR) para valorar la relación entre la toma de leche materna y la presencia de títulos IgAs en saliva frente a los serogrupos de *E. coli* seleccionados.

Resultados

Respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* seleccionadas: de los 100 niños evaluados 48 presentaron respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* seleccionadas: 39 (81,3%) respondieron únicamente a la mezcla A, 3 (6,2%) reaccionaron exclusivamente a la mezcla B y 6 niños (12,5%) presentaron respuesta a ambas mezclas. En la figura 1, se muestran la frecuencia de niños, según la edad, con respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* seleccionadas y la tendencia (media móvil de orden 3) de los datos según la edad.

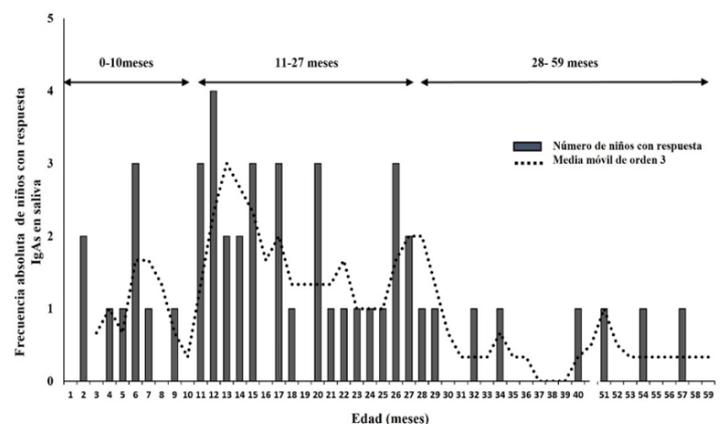


Figura 1. Distribución, según la edad, de la población con respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *Escherichia coli* portadoras de serogrupos O asociados a *Escherichia coli* diarreogénica. La exploración visual de los datos y la tendencia (media móvil de orden 3) sugieren la existencia de tres grupos de edad (0-10, 10-27 y 28-59 meses).

La exploración visual de la figura 1 y el análisis de los datos permitió establecer tres grupos de edad (0-10, 11-27 y 28-59 meses) con diferencias significativas respecto al número de niños con respuesta. De esta forma, se observó un incremento significativo ($p < 0,000$; 0 casillas con frecuencias esperadas < 5) en el número de niños con respuesta IgAs en saliva en la población de 11-27 meses (68,9%; 31/45) al compararla con la de 0-10 meses (26,5%; 9/34) y una disminución significativa ($p=0,001$; 0 casillas con frecuencias esperadas < 5) de la respuesta en la población de 28-59 meses (38,1%; 8/21) respecto al grupo de 11-27 meses (figura 2).

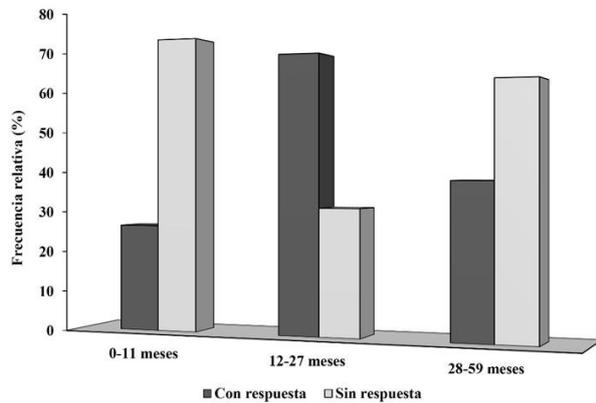
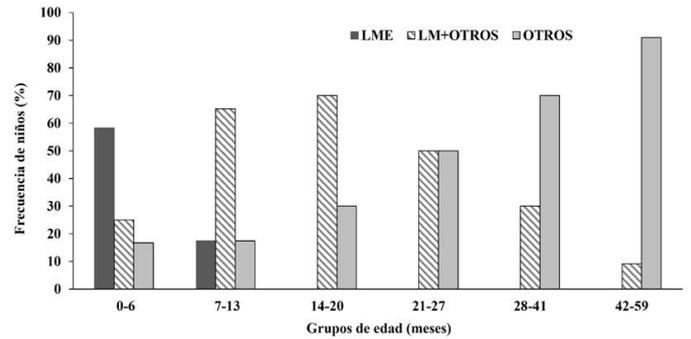


Figura 2. Frecuencia relativa (%), según el grupo de edad, de las respuestas IgAs en saliva frente a cepas de *Escherichia coli* portadoras de serogrupo O asociados a *Escherichia coli* diarreogénica. La frecuencia de niños con respuesta en el grupo de 11-27 meses fue mayor significativamente al compararla con los grupos de 0-11 meses ($p < 0,000$; Chi cuadrado) y 28-59 meses ($p < 0,001$; Chi cuadrado)

Respuesta IgAs en saliva frente a cepas de *E. coli* seleccionadas y lactancia materna: la figura 3, representa la distribución, según la edad, de la práctica alimentaria de la población evaluada. Se observó en el grupo de 0-6 meses la mayor frecuencia de niños con práctica de LME (14/24; 58,3%), mientras que, la incorporación de otros alimentos (LM + OTROS), alcanzó su máximo en la población de 14-20 meses (14/20; 70%). Para el análisis de la relación entre la lactancia materna y la respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* seleccionadas, se eligió a la población de 0-27 meses (79 niños). Se establecieron dos grupos, uno constituido por 59 niños que lactan leche materna (LME o LM + OTROS) y 20 niños que no toman leche materna (OTROS). Se obtuvo que la frecuencia de niños con respuesta fue mayor significativamente ($p=0,002$; 0 casillas con recuento esperado < 5) en el grupo que no lacta leche materna (80%; 16/20) respecto al grupo que lacta leche materna (40,7%; 24/59) siendo el OR=0,171 (0,051 - 0,576), lo que indica el posible papel protector de la lactancia materna frente a infecciones por las cepas de *E. coli* portadoras de



serogrupos O asociados a DEC a través de la IgA secretora en la leche.

Figura 3. Práctica alimentaria según los grupos de edad. LME=lactancia materna exclusiva; LM+OTROS=lactancia materna + otros alimentos; OTROS=otros alimentos.

Discusión

En Venezuela, a pesar de que los distintos patotipos de DEC afectan a la población infantil, se tiene poco conocimiento sobre la respuesta inmune del niño infectado por estos patógenos, lo que complica la aplicación de medidas preventivas y de control para la infección. En este aspecto, el presente estudio es la primera caracterización realizada en el país sobre la respuesta IgAs en saliva frente a cepas de *E. coli* portadoras de serogrupos O asociados a DEC en niños sanos menores de 5 años.

Es importante indicar que, la utilización en el ELISA de células bacterianas completas como antígenos, refleja principalmente el reconocimiento del OAg [7,29], de manera que, podemos inferir que los resultados obtenidos muestran mayormente la respuesta IgAs en saliva frente a estos antígenos y además con algún grado de especificidad, dado que el mayor porcentaje de los niños presentó reacción exclusiva a una de las mezclas bacterianas probadas, constituida por los serogrupos O55, O111, O119 y O126.

Este hallazgo es muy significativo ya que los estudios etiológicos realizados en el país reportan a cepas de ECEP portadoras de estos serogrupos como causantes de diarrea en la población infantil [20,21,23,24], lo que permite sugerir la posibilidad de que ECEP sea el agente que originó mayoritariamente la respuesta observada. Además, los resultados alertan sobre el posible desarrollo de una serie de patologías en la población infantil, ya que los lipopolisacáridos (LPS) son endotoxinas que aumentan la carga negativa de la membrana bacteriana, promoviendo la regulación positiva de las citoquinas proinflamatorias, lo que contribuye a la disbiosis intestinal. Asimismo, se ha demostrado que la respuesta inmune contra el OAg del LPS genera múltiples

trastornos, incluidos la apertura de las uniones estrechas intestinales y la neuro-inflamación [30,31].

Los análisis permitieron establecer en el grupo de 11-27 meses de edad el mayor número de niños con respuesta IgAs en saliva frente a las cepas de *E. coli* seleccionadas; además, se observó que a partir de los 28 meses se produce una disminución significativa del número de niños con respuesta, resultados apoyados igualmente por los estudios etiológicos realizados en el país y en otras latitudes, que colocan al grupo de 11-27 meses como el más afectado significativamente por DEC y en especial por ECEP [18,22,23]. De esta forma, analizando los resultados del presente estudio junto a los hallazgos de las investigaciones sobre la etiología de la diarrea en la población infantil de Venezuela, podemos sugerir que el enfrentamiento temprano de la población a estas cepas promueve el desarrollo de una respuesta inmune y la probabilidad de una inmunidad adaptativa [32], reflejada en la disminución significativa de la respuesta en la población de 28-59 meses junto a la baja frecuencia de diarreas por DEC en este grupo de edad.

La lactancia materna temprana es una de las intervenciones más importantes para reducir la mortalidad neonatal e infantil, debido a que protege a los bebés a través de sus múltiples componentes nutricionales, antimicrobianos, antiinflamatorios e inmunorreguladores. Además, la IgAs es el principal isotipo de inmunoglobulina en el calostro, representando más del 90% de las inmunoglobulinas. Sin embargo, los anticuerpos específicos más comúnmente identificados en la leche humana son aquellos dirigidos contra los patógenos endémicos en el entorno de la madre [33,34], por lo que, para la toma de decisiones, es necesario el desarrollo de investigaciones en cada región y comunidad. En este aspecto, el presente trabajo logró detectar o medir la presencia significativa de respuesta IgAs en saliva frente a cepas de *E. coli* portadoras de serogrupos O asociados a DEC en la población de 0-27 meses que no recibe leche materna, sugiriendo el papel protector de esta práctica.

El hallazgo no es concluyente, sin embargo, es apoyado por estudios que han descrito protección por anticuerpos de la leche humana contra factores de virulencia como enterotoxinas, LPS y elementos implicados en la adherencia bacteriana [35,36]. Estos resultados fortalecen la decisión de impulsar la lactancia materna exclusiva durante los primeros 6 meses de vida, y promueven la necesidad de continuar implementando estrategias educativas para mejorar esta práctica y con ello reducir la carga de enfermedades diarreicas y sus efectos negativos sobre el crecimiento y el desarrollo del infante.

La investigación sienta las bases para futuros estudios, como por ejemplo el análisis y seguimiento de los niveles de IgAs en niños menores de 5 años, posterior a cuadros

diarreicos de etiología conocida, o la evaluación de la respuesta inmune frente a los distintos determinantes de patogenicidad de las DEC. Todo esto teniendo en cuenta la capacidad que tiene *E. coli* de adquirir elementos genéticos a través de islas de patogenicidad, fagos, plásmidos o transposones portadores de la información para los distintos mecanismos de virulencia, incluyendo los LPS [30,37], lo que complica la inclusión de una determinada cepa dentro de un patotipo determinado y muestra, como en todos los seres vivos, un proceso evolutivo en las DEC [1].

Conclusiones

Los resultados del presente estudio demostraron la existencia en la población infantil de respuesta IgAs en saliva frente a cepas de *Escherichia coli* portadoras de serogrupos O asociados a DEC. Igualmente, determinó la disminución significativa de esta respuesta con la edad, sugiriendo el posible desarrollo de inmunidad protectora, resultados apoyados por trabajos realizados en el país que muestran la disminución con la edad de las diarreas ocasionadas por estos agentes. Además, se determinó una relación inversa entre la lactancia materna y la respuesta IgAs en saliva frente a las cepas evaluadas, sugiriendo el posible papel protector de la lactancia materna frente a estas infecciones.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación con el artículo.

Financiación

El trabajo fue financiado en su totalidad por el Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT N° 20220PGP04, año 2023-2025).

Referencias

1. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. Nat Rev Microbiol. 2004;2:123-40. DOI: [10.1038/nrmicro818](https://doi.org/10.1038/nrmicro818).
2. Pearson JS, Giogha C, Wong Fok Lung T, Hartland EL. The genetics of enteropathogenic *Escherichia coli* virulence. Annu Rev Genet. 2016; 50:493-513. DOI: [10.1146/annurev-genet-120215-035138](https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-035138).
3. Jesser KJ, Levy K. Updates on defining and detecting diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes. Curr Opin Infect Dis. 2020; 33:372-80. DOI: [10.1097/QCO.0000000000000665](https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000665).

4. DebRoy C, Fratamico PM, Roberts E. Molecular serogrouping of *Escherichia coli*. *Anim Health Res Rev.* 2018; 19:1-16. DOI: [10.1017/S1466252317000093](https://doi.org/10.1017/S1466252317000093).
5. Gomes TA, Elias WP, Scaletsky IC, Guth BE, Rodrigues JF, Piazza RM, et al. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Braz J Microbiol.* 2016 D; 47(Suppl 1):3-30. DOI: [10.1016/j.bjm.2016.10.015](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.015).
6. Sarkar S, Ulett GC, Totsika M, Phan MD, Schembri MA. Role of capsule and O antigen in the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *PLoS One.* 2014; 9:e94786. DOI: [10.1371/journal.pone.0094786](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094786).
7. Riaz S, Steinsland H, Hanevik K. Human mucosal IgA immune responses against enterotoxigenic *Escherichia coli*. *Pathogens.* 2020; 9:714. DOI: [10.3390/pathogens9090714](https://doi.org/10.3390/pathogens9090714).
8. Wang J, Jiao H, Zhang X, Zhang Y, Sun N, Yang Y, Wei Y, et al. Two enteropathogenic *Escherichia coli* strains representing novel serotypes and investigation of their roles in adhesion. *J Microbiol Biotechnol.* 2021; 31:1191-9. DOI: [10.4014/jmb.2105.05016](https://doi.org/10.4014/jmb.2105.05016).
9. Dyatlov IA, Svetoch EA, Mironenko AA, Eruslanov BV, Firstova VV, Fursova NK, et al. Molecular lipopolysaccharide di-vaccine protects from Shiga-Toxin producing epidemic strains of *Escherichia coli* O157:H7 and O104:H4. *Vaccines (Basel).* 2022; 10:1854. DOI: [10.3390/vaccines10111854](https://doi.org/10.3390/vaccines10111854).
10. Kaur P, Dudeja PK. Pathophysiology of enteropathogenic *Escherichia coli*-induced diarrhea. *Newborn (Clarksville).* 2023; 2:102-13. DOI: [10.5005/jp-journals-11002-0056](https://doi.org/10.5005/jp-journals-11002-0056).
11. Kato LM, Kawamoto S, Maruya M, Fagarasan S. Gut TFH and IgA: key players for regulation of bacterial communities and immune homeostasis. *Immunol Cell Biol.* 2014; 92:49-56. DOI: [10.1038/icb.2013.54](https://doi.org/10.1038/icb.2013.54).
12. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutr. Hosp.* 2007; 22:14-9. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000500003&lng=es.
13. Newberry RD, Lorenz RG. Organizing a mucosal defense. *Immunol Rev.* 2005; 206:6-21. DOI: [10.1111/j.0105-2896.2005.00282.x](https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2005.00282.x).
14. Bridgman SL, Konya T, Azad MB, Sears MR, Becker AB, Turvey SE, et al. Infant gut immunity: a preliminary study of IgA associations with breastfeeding. *J Dev Orig Health Dis.* 2016; 7:68-72. DOI: [10.1017/S2040174415007862](https://doi.org/10.1017/S2040174415007862).
15. Brandtzaeg P. Secretory immunity with special reference to the oral cavity. *J Oral Microbiol.* 2013; 5:20401. DOI: [10.3402/jom.v5i0.20401](https://doi.org/10.3402/jom.v5i0.20401).
16. Aguirre-Gamboa R, Joosten I, Urbano PCM, van der Molen RG, van Rijssen E, van Cranenbroek B, et al. Differential effects of environmental and genetic factors on T and B cell immune traits. *Cell Rep.* 2016; 17:2474-87. DOI: [10.1016/j.celrep.2016.10.053](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.10.053).
17. Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Black RE. Child health epidemiology reference group of the World Health Organization and UNICEF. Global causes of diarrheal disease mortality in children < 5 years of age: a systematic review. *PLoS One.* 2013; 8:e72788. DOI: [10.1371/journal.pone.0072788](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072788).
18. Ochoa TJ, Mercado EH, Durand D, Rivera FP, Mosquito S, Contreras C, et al. Frecuencia y patotipos de *Escherichia coli* diarrogénicas en niños peruanos con y sin diarrea. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2011; 28:13-20. DOI: [10.1590/s1726-46342011000100003](https://doi.org/10.1590/s1726-46342011000100003).
19. Platts-Mills JA, Liu J, Rogawski ET, Kabir F, Lertsethtakarn P, Sigua M, et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to assess the etiology, burden, and clinical characteristics of diarrhea in children in low-resource settings: a reanalysis of the MAL-ED cohort study. *Lancet Glob Health.* 2018; 6:e1309-18. DOI: [10.1016/S2214-109X\(18\)30349-8](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30349-8).
20. González R, Díaz C, Mariño M, Cloralt R, Pequeneze M, Pérez-Schael I. Age-specific prevalence of *Escherichia coli* with localized and aggregative adherence in Venezuelan infants with acute diarrhea. *J Clin Microbiol.* 1997; 35:1103-7. DOI: [10.1128/jcm.35.5.1103-1107.1997](https://doi.org/10.1128/jcm.35.5.1103-1107.1997).
21. Urrestarazu MI, Liprandi F, Pérez de Suárez E, González R, Pérez-Schael I. Características etiológicas, clínicas y sociodemográficas de la diarrea aguda en Venezuela. *Rev Panam Salud Publica.* 1999; 6:149-56. DOI: [10.1590/s1020-49891999000800001](https://doi.org/10.1590/s1020-49891999000800001).
22. Hannaoui E, Villalobos L, Martínez R, Maldonado A, Hagel I, Bastardo J. *Escherichia coli* diarrogénica asociada a casos de diarrea aguda en niños de Cumaná, Venezuela. *Invest Clín.* 2010; 51:489-500. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332010000400006&lng=es
23. Michelli E, Millán A, Rodolfo H, Michelli M, Luiggi J, Carreño N, et al. Identificación de *Escherichia coli* enteropatogénica en niños con síndrome diarreico agudo del estado Sucre, Venezuela. *Biomedica.* 2016; 36(Suppl 1):118-27. DOI: [10.7705/biomedica.v36i0.2928](https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2928)
24. González R, Gutiérrez J, Martínez JR, Rivero L. Características etiológicas, clínicas y epidemiológicas de la diarrea aguda infantil en Caracas-Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2018;

- 38: 4-9. http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_vm/article/view/16048
25. Aase A, Sommerfelt H, Petersen LB, Bolstad M, Cox RJ, Langeland N, *et al.* Salivary IgA from the sublingual compartment as a novel noninvasive proxy for intestinal immune induction. *Mucosal Immunol.* 2016; 9:884-93. DOI: 10.1038/mi.2015.107.
 26. Organización Mundial de la Salud (OMS). Indicadores para evaluar las prácticas de alimentación del lactante y el niño pequeño. Parte 1. Definiciones. Ginebra: OMS; 2007. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44156/9/789243596662_spa.pdf
 27. Minogue TD, Daligault HA, Davenport KW, Bishop-Lilly KA, Broomall SM, Bruce DC, *et al.* Complete genome assembly of *Escherichia coli* ATCC 25922, a serotype O6 reference strain. *Genome Announc.* 2014; 2:e00969-14. DOI: 10.1128/genomeA.00969-14.
 28. Rowe B, Gross RJ, Scotland SM. Letter: Serotyping of *E. coli*. *Lancet.* 1976; 2:37-8. DOI: 10.1016/S0140-6736(76)92986-x.
 29. Chakraborty S, Harro C, DeNearing B, Ram M, Feller A, Cage A, *et al.* Characterization of mucosal immune responses to enterotoxigenic *Escherichia coli* vaccine antigens in a human challenge model: Response profiles after primary infection and homologous rechallenge with strain H10407. *Clin Vaccine Immunol.* 2015; 23:55-64. DOI: 10.1128/CVI.00617-15.
 30. Reyes R, Ramírez H, Solís C, Ortiz M, Coria R. Mecanismos involucrados en la variabilidad del antígeno O de bacterias Gram negativas. *Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría.* 2009; 52:32-43. <http://repositorio.pediatría.gob.mx:8180/handle/20.500.12103/1314>
 31. Guo S, Al-Sadi R, Said HM, Ma TY. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability *in vitro* and *in vivo* by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. *Am J Pathol.* 2013; 182:375-87. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.10.014.
 32. Buskirk AD, Ndungo E, Shimanovich AA, Lam D, Blackwelder WC, Ikumapayi UN, *et al.* Mucosal immune profiles associated with diarrheal disease severity in *Shigella*- and enteropathogenic *Escherichia coli*-infected children enrolled in the Global Enteric Multicenter Study. *mBio.* 2022;13:e0053822. DOI: 10.1128/mbio.00538-22.
 33. Tsutsumi R, Ichinohe N, Shimooki O, Obata F, Takahashi K, Inada K, *et al.* Homologous and heterologous antibody responses to lipopolysaccharide after enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection. *Microbiol Immunol.* 2004; 48:27-38. doi: 10.1111/j.1348-0421.2004.tb03484.x.
 34. Morrow AL, Rangel JM. Human milk protection against infectious diarrhea: implications for prevention and clinical care. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2004; 15:221-8. DOI: 10.1053/j.spid.2004.07.002.
 35. Ahmed KY, Page A, Arora A, Ogbo FA, Global Maternal and Child Health Research collaboration (GloMACH). Associations between infant and young child feeding practices and acute respiratory infection and diarrhoea in Ethiopia: A propensity score matching approach. *PLoS One.* 2020; 15:e0230978. DOI: 10.1371/journal.pone.0230978.
 36. Victora CG, Bahl R, Barros AJ, França GV, Horton S, Krasevec J, *et al.* Breastfeeding in the 21st century: epidemiology, mechanisms, and lifelong effect. *Lancet.* 2016; 387:475-90. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01024-7.
 37. Bhutta ZA, Das JK, Walker N, Rizvi A, Campbell H, Rudan I, *et al.* Interventions to address deaths from childhood pneumonia and diarrhea equitably: what works and at what cost? *Lancet.* 2013; 381:1417-29. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60648-0.

Yordi Boher

ORCID: 0009-0006-5268-4012



Este artículo está bajo licencia CC BY-NC-SA 4.0