



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN
POR NOROVIRUS EN NIÑOS MENORES
DE DOS AÑOS EN VILLA EL
SALVADOR, LIMA, PERÚ: ROL DE LA
LACTANCIA MATERNA, HMOs, HBGAs
Y COINFECCIONES

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS EN
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

ANGIE KATIUSHKA TOLEDO CORNEJO

LIMA – PERÚ

2024

ASESORA

DR. MÓNICA JEHNNY PAJUELO TRAVEZAÑO

JURADO DE TESIS

DR. ANDRES GUILLERMO LESCANO GUEVARA

PRESIDENTE

DR. LUZ MARIA MOYANO VIDAL

VOCAL

DR. MEDDLY LESLYE SALTOLALLA ROBLES

SECRETARIA

DEDICATORIA.

A mis padres, por ser mi más grande apoyo y mis mayores alentadores. Gracias por brindarme ánimos incansables, por acompañarme en cada nuevo proyecto, por sufrir conmigo los tropiezos del mundo de la investigación y celebrar con orgullo cada logro alcanzado. A mis hermanas, por su infinita paciencia, su inmenso amor y por compartir conmigo tantas locuras y momentos inolvidables. Su presencia y cariño han sido el motor que me ha impulsado en este camino.

AGRADECIMIENTOS.

A la Dra. Mónica Pajuelo, mi más sincero agradecimiento por ser una mentora ejemplar y una fuente de inspiración constante. Su confianza en mí, su paciencia infinita para explicar y resolver cada obstáculo, y su guía constante han sido fundamentales en mi crecimiento académico y personal. Gracias por sus valiosas enseñanzas, su dedicación y por haberme impulsado a dar siempre lo mejor de mí.

Su apoyo ha sido un pilar inquebrantable en la culminación de este trabajo.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

El presente estudio recibió financiamiento parcial del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (FONDECYT/CIENCIA ACTIVA, número de beca: EF033-235-2015). También, fue apoyado por el National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) de los National Institutes of Health (NIH) bajo el número de subvención R01AI108695 (RG).

DECLARACIÓN DE AUTOR			
FECHA			
APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO	ANGIE KATIUSHKA TOLEDO CORNEJO		
PROGRAMA DE POSGRADO	DOCTORADO EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA		
AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS	2019		
TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO	EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR NOROVIRUS EN NIÑOS MENORES DE DOS AÑOS EN VILLA EL SALVADOR, LIMA, PERÚ: ROL DE LA LACTANCIA MATERNA, HMOs, HBGA's Y COINFECCIONES		
MODALIDAD DE TRABAJO DE GRADO	Tesis		
Declaración del Autor El presente Trabajo de Grado es original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.			
Teléfono de contacto (fijo / móvil)	997521008		
E-mail	angie.toledo@upch.pe		



Firma del Egresado
DNI 72859665

ÍNDICE

RESUMEN
ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I.....	8
Asociación de la duración de la lactancia materna durante los primeros seis meses de vida y la infección por NoV durante el primer año de vida.	8
1.1. 1.1 Introducción	10
1.2. 1.2 Hipótesis:.....	15
1.3. 1.3 Objetivo:.....	15
1.4. 1.4 Materiales y Métodos:	15
1.5. 1.5 Resultados.....	27
1.6. 1.6. Discusión	33
1.7. 1.7. Conclusiones	36
CAPÍTULO II	38
Asociación entre las concentraciones de HMOs en leche materna y la presencia de diarrea e infección por NoV.....	38
1.8. 2.1 Introducción.....	40
1.9. 2.2 Hipótesis:.....	51
1.10. 2.3. Objetivo de la Investigación:.....	51
1.11. 2.4. Materiales y Métodos	51
1.12. 2.5. Resultados.....	56
1.13. 2.6. Discusión.	60
1.14. 2.7. Conclusiones.	62
IV. ASPECTOS ÉTICOS	63
V. LIMITACIONES	64
VI. RECOMENDACIONES GENERALES	65
VII. CONCLUSIONES GENERALES	65
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
IX. ANEXOS	

RESUMEN

La lactancia materna ha sido reconocida como un elemento esencial en el mantenimiento de la salud infantil, suministrando nutrientes indispensables y factores bioactivos que favorecen el desarrollo y el bienestar del bebé. Específicamente, la constitución de los oligosacáridos presentes en la leche materna (HMOs) ha suscitado un interés creciente debido a su potencial para modular la salud gastrointestinal y proteger contra infecciones. Las infecciones gastrointestinales, incluyendo la ocasionada por el norovirus (NoV), constituyen una causa frecuente de morbilidad en la población pediátrica y pueden resultar en complicaciones severas.

Objetivo: El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación de la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida como un factor protector ante infecciones por NoV durante el primer año de vida. También, se exploró la asociación de la composición de HMOs en la leche materna y la presencia de diarrea por NoV en niños durante los primeros seis meses de vida.

Métodos: Para el primer objetivo, se realizó un estudio longitudinal de cohorte con 299 recién nacidos de una comunidad urbano marginal de Lima, quienes fueron seguidos diariamente durante el primer año de vida. Se registraron datos sociodemográficos, el grupo sanguíneo, el estado de secretor, la duración de la LME, las infecciones por NoV y los episodios de diarrea. Para el segundo objetivo se llevó a cabo un estudio transversal tipo caso-control utilizando muestras de leche materna recolectadas en el estudio primario. Estas muestras fueron clasificadas en dos grupos: NoV positivo con diarrea (NoV+/D+) y NoV positivo sin diarrea (NoV+/D-). Se analizaron 19 HMOs en estas muestras mediante HPLC. La

metodología estadística comprendió el modelo de regresión de Cox ajustado por medidas repetidas para evaluar el riesgo de infección por NoV en relación con la duración la lactancia materna exclusiva. Además, se aplicaron pruebas de Mann-Whitney con el objetivo de identificar diferencias significativas en la concentración de las HMOs entre los grupos NoV+/D+ y NoV+/D-.

Resultados: El análisis de regresión de Cox ajustado reveló que la lactancia materna exclusiva tiene un efecto protector contra infecciones por NoV durante el primer año de vida, donde que cada día adicional de lactancia exclusiva disminuía el riesgo de infección en un 36 % (HR: 0.64; IC 95 %: 0.42–0.98; p=0.041). No se observaron diferencias significativas en las concentraciones de HMOs entre los grupos NoV+/D+ y NoV+/D-.

Conclusión. La lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida tiene un efecto protector significativo contra la infección por NoV durante el primer año de vida, resaltando la importancia de promover esta práctica en comunidades vulnerables. Por otro lado, aunque las concentraciones de HMOs no mostraron una asociación directa con la diarrea por NoV, futuros estudios con mayor tamaño de muestra podrían aclarar su posible rol en la modulación del riesgo de diarrea en niños infectados por este virus

PALABRAS CLAVES

LACTANCIA MATERNA EXCLUSIVA, OLIGOSACÁRIDOS DE LECHE MATERNA (HMOS), NOROVIRUS, DIARREA (DeCS/BIREME)

ABSTRACT

Breastfeeding has been recognized as an essential element in maintaining child health, providing indispensable nutrients and bioactive factors that promote the development and well-being of the baby. Specifically, the composition of oligosaccharides present in breast milk (HMOs) has garnered growing interest due to their potential to modulate gastrointestinal health and protect against infections. Gastrointestinal infections, including those caused by norovirus (NoV), are a common cause of morbidity in the pediatric population and can result in severe complications.

Objectives: This study aimed to evaluate exclusive breastfeeding during the first six months of life as a protective factor against NoV infections during the first year of life. Additionally, the association between HMO composition in breast milk and the presence of NoV-associated diarrhea in infants during the first six months of life was explored.

Methods: For the first objective, a longitudinal cohort study was conducted with 299 newborns from a low-income urban community in Lima, who were followed daily during their first year of life. Sociodemographic data, blood type, secretor status, duration of exclusive breastfeeding (EBF), NoV infections, and diarrhea episodes were recorded. For the second objective, a cross-sectional case-control study was performed using breast milk samples collected during the primary study. These samples were categorized into two groups: NoV positive with diarrhea (NoV+/D+) and NoV positive without diarrhea (NoV+/D-). Nineteen HMOs in these samples were analyzed using HPLC. Statistical methodology included a Cox regression model adjusted for repeated measures to assess NoV infection risk in

relation to the duration of EBF. Additionally, Mann-Whitney tests were applied to identify significant differences in HMO concentrations between the NoV+/D+ and NoV+/D- groups.

Results: The adjusted Cox regression analysis revealed that EBF had a protective effect against NoV infections during the first year of life, with each additional day of EBF reducing infection risk by 36% (HR: 0.64; 95% CI: 0.42–0.98; p=0.041). No significant differences in HMO concentrations were observed between the NoV+/D+ and NoV+/D- groups.

Conclusions: Exclusive breastfeeding during the first six months of life has a significant protective effect against NoV infection during the first year of life, highlighting the importance of promoting this practice in vulnerable communities. On the other hand, although HMO concentrations did not show a direct association with NoV-induced diarrhea, future studies with larger sample sizes could clarify their potential role in modulating the risk of diarrhea in children infected with this virus

KEYWORDS

EXCLUSIVE BREASTFEEDING, HUMAN MILK OLIGOSACCHARIDES (HMOS), NOROVIRUS, DIARRHEA (MeSH/NLM)

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Gastroenteritis

La gastroenteritis aguda (GEA) es la inflamación del estómago o intestinos, causando dolor abdominal, calambres, náuseas, vómitos y diarrea. Se presenta de forma repentina y no está vinculada a medicamentos, condiciones preexistentes u otras causas no infecciosas (1,2). Esta puede ser aguda cuando tiene una duración menor a 14 días, persistente con duración entre 14 y 30 días o crónica si la duración es mayor a 30 días. Los niños suelen presentar más de un episodio al año y, aunque normalmente desaparece sin tratamiento y con cuidado en casa, muchos niños ingresan al hospital debido a esto (3).

Es la principal causa de morbilidad y mortalidad en niños en edad preescolar y causa cerca de 446,000 muertes cada año, especialmente en países de ingresos bajos y medios (4). Las áreas más afectadas son las tropicales, donde hay escaso acceso a agua potable, saneamiento e higiene, lo que empeora la situación y contribuye a su invisibilidad (5). En Colombia, en 2014, la mortalidad por enfermedades diarreicas agudas en menores de cinco años fue 2.88 veces mayor en el quintil más pobre en comparación con el menos pobre (6).

A pesar de que la mortalidad por gastroenteritis ha disminuido en naciones en vías de desarrollo, sigue siendo un problema importante, con alrededor de 1,700 millones de episodios y 700,000 muertes anuales en niños menores de cinco años (7).

Diarrea

Uno de los principales síntomas de gastroenteritis es la diarrea y es importante conocer su definición ya que, en bebés amamantados menores de 3 meses, es común que tengan entre 8 y 10 deposiciones semilíquidas al día sin que sea diarrea (8). La diarrea se define como 3 o más deposiciones sueltas o acuosas en 24 horas durante 3 días a 14 días (9). Un episodio de diarrea suele durar 7 días, si persiste por más de 14 días, se considera persistente (8). En niños menores de 5 años, la diarrea persistente excluye enfermedades como la enfermedad celiaca, fibrosis quística y enfermedad de Crohn, entre otras (8). La hospitalización del menor por un cuadro agudo de diarrea se indica por deshidratación grave, vómitos graves, diarrea con sangre, desnutrición o incapacidad de los cuidadores para manejar la situación (10). En países en vías de desarrollo, la diarrea es la segunda causa de mortalidad en niños menores de 5 años a nivel mundial, con 1.62 millones de muertes reportadas (11–13), mientras que en lactantes, es la segunda causa de muerte infecciosa (14,15). La prevalencia de diarreas en niños menores de 5 años varía entre 11 y 29.1 % en regiones como Vietnam, Mesoamérica, Afganistán, India, Yemen y África subsahariana (16–21). En América Latina y El Caribe, en 2016, se presentaron más de 140 millones de episodios de diarrea causando más de 8000 muertes (4). En países en vías de desarrollo, los niños menores de 3 años pueden presentar entre 3 y 4 episodios de diarrea al año, llegando algunos a tener hasta 10 episodios en el mismo periodo (22). En Perú, según la ENDES, la prevalencia de diarrea infantil ha disminuido significativamente a través de los años pasando del 15.2 % en 2010 al 8.2 % en 2020 (23). Sin embargo, en regiones de la Sierra y la Selva se presentan

tasas de mortalidad un 20% más altas que el promedio nacional en 2017, con 4 muertes por 100 000 niños (24). Durante el 2023, el pico máximo de número de episodios de diarrea aguda en Perú fue de 30482 casos durante la semana epidemiológica 15. Hasta la semana epidemiológica 5 de 2024, los departamentos con mayor incidencia acumulada de casos de diarrea aguda fueron Pasco, Loreto y Amazonas, con tasas de 82.2, 81.7 y 77.0 por cada 10,000 habitantes, respectivamente (25).

La educación de la madre, el bajo nivel socioeconómico, el tipo de letrinas e instalaciones de lavado de manos, el tipo de lactancia materna y el acceso limitado a agua potable de calidad son factores que contribuyen a la aparición de diarreas en poblaciones de bajos y medianos ingresos (18,26–29). En Perú, hay otros aspectos que también influyen, como ser hombre, tener entre 0 y 35 meses de edad, vivir en áreas de montaña o selva y ser parte del grupo con menos recursos económicos (30). Los infantes menores de cinco años que padecen frecuentes infecciones entéricas pueden experimentar una disminución en su crecimiento, una disminución en su sistema inmunológico, malnutrición y una mayor probabilidad de experimentar diarreas en el futuro (31–37).

Algunas características determinadas genéticamente también pueden influir en la interacción entre el hospedero y NoV. Por ejemplo, la expresión del gen FUT2, también conocido como fucosiltransferasa 2, desempeña un papel fundamental en la susceptibilidad a infecciones por NoV (38–40). Los individuos secretores expresan antígenos de histo-grupo sanguíneo (HBGAs) en las superficies de las

células epiteliales y en fluidos corporales (41). Estos antígenos funcionan como receptores o cofactores para la unión del NoV a las células hostiles. En contraposición, los individuos no secretores, que carecen de esta expresión a causa de mutaciones en el gen FUT2, presentan una mayor resistencia a la infección por determinados genotipos de NoV (42–44). Esta interacción particular entre los HBGAs y las proteínas de cápside del NoV resalta la relevancia de factores genéticos en la epidemiología y patogénesis de estas infecciones, posicionando al estado secretor como un factor de relevancia en la variabilidad de la susceptibilidad entre individuos y poblaciones.

Etiología

Hay varios microorganismos que causan gastroenteritis y su prevalencia varía según la región. Por lo general, los virus son la principal causa de diarrea en niños, provocando entre el 70% y el 80% de los casos (45). En un 10% a 20% de los casos, la diarrea es causada por bacterias, y en un 5% por parásitos (46,47). Las condiciones socioeconómicas, el nivel educativo, la edad, los hábitos y otros factores determinarán la frecuencia de cada uno (48,49). El norovirus se ha identificado como la principal causa de gastroenteritis aguda en algunos países como Estados Unidos, Brasil y Perú, superando a rotavirus, adenovirus y astrovirus, posiblemente debido a la introducción de la vacuna contra sapovirus (46,50–56). En África y el sudeste asiático, los patógenos que causan GEA son rotavirus, *Cryptosporidium*, ETEC y *Shigella* (57). En el estudio MAL-ED, el 76.9 % de las muestras de heces de personas con diarrea y el 64.9 % de las muestras de heces de personas sin diarrea contenían al menos un patógeno. Se descubrieron al

menos dos patógenos en el 41 % de las muestras con diarrea y el 29 % de las muestras sin diarrea (58). La mayoría de los casos (83 %) y controles (72 %) tenían al menos un patógeno identificado, mientras que el 45 % y el 31 % tenían dos o más patógenos identificados, según el estudio Global Enteric Multicenter Study (GEMS) (57). Las coinfecciones han sido ampliamente reportadas en países de bajos y medianos ingresos (57,59,60).

Norovirus

El Norovirus (NoV) humano fue identificado por primera vez en muestras fecales durante un brote de gastroenteritis en Norwalk en 1968, por lo que era conocido como Virus Norwalk (61). A pesar del tiempo transcurrido hasta la fecha, su cultivo satisfactorio no ha sido posible (62) y su clasificación taxonómica pudo efectuarse únicamente tras la secuenciación completa de su genoma (63,64). Este es un virus de ARN lineal perteneciente a la familia *Caliciviridae*. Los Open Reading Frames (ORFs) codifican para 8 proteínas virales. Los elementos estructurales del virión, proteína viral 1 (VP1) y VP2, se codifican en ORF-2 y ORF-3. ORF-1 codifica una poliproteína que es procesada proteolíticamente en las seis proteínas no estructurales (65,66).

El Norovirus (NoV) es considerado una causa importante de gastroenteritis aguda esporádica y epidémica en todas las edades. Este virus afecta el sistema digestivo humano, causando síntomas como diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal (67). La incubación promedio para genotipos I y II es de 1.2 días (68). La modalidad de transmisión predominante es la fecal-oral, aunque se han registrado diversas

otras vías de transmisión como aerosoles de partículas virales durante el vómito y la contaminación por alimentos, agua y ambiente (69,70). Las variantes GI.7 y GII.12 están más relacionadas con enfermedades transmitidas por alimentos, mientras que la variante GII.4 se transmite más entre personas, especialmente en residencias de larga estancia y hospitales (71,72).

Se calcula que está asociado con aproximadamente el 18% de los casos globales de gastroenteritis (73). Las infecciones por Norovirus contribuyen a más de 200 mil decesos a nivel global, con una prevalencia predominante en naciones de ingresos bajos y medianos (74). En 2008, se calculó que el 12 % de la población tenía esta condición, y en 2014, la cifra aumentó al 18 % (73,75). En América Latina y en países en desarrollo, se ha observado que la cantidad de casos es mayor que la estimación mundial, llegando al 15 % y 17 %, respectivamente (53,76,77). Según estudios realizados en Inglaterra, Gales, Países Bajos y Estados Unidos, constituye el segundo factor más prevalente de diarrea severa en niños (78–81). Es responsable de 15.4 episodios de diarrea por cada 100 niños-año (82). El genogrupo GII es el más común en países de medianos y bajos ingresos, mientras que el genogrupo GI se ha encontrado con mayor frecuencia en personas asintomáticas (83).

En el estudio primario de la presente tesis, se realizó un estudio longitudinal de cohorte de nacimiento en una zona urbano marginal en Villa El Salvador entre el 2016 y el 2019. Se reclutaron 345 niños y sus madres para estudiar el efecto en la salud de los niños de la infección natural de norovirus y sapovirus. Se obtuvo información sobre infecciones por NoV, presencia de síntomas de gastroenteritis

y lactancia materna mediante visitas diarias a cada casa en el estudio. También, se obtuvo muestras de leche materna para el análisis de componentes abordados en la presente tesis. Con lo expuesto, se plantearon los siguientes objetivos para la presente tesis doctoral:

Objetivo 1:

Evaluar la asociación de la duración de la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida y las infecciones por NoV durante el primer año de vida.

Objetivo 2:

Evaluar si las concentraciones de HMOs en leche materna está asociada a la presencia de diarreas por NoV durante los primeros seis meses de vida.

CAPÍTULO I

Asociación de la duración de la lactancia materna durante los primeros seis meses de vida y la infección por NoV durante el primer año de vida.

Resumen

Objetivo: Evaluar la asociación entre la duración de la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida y el riesgo de infección por norovirus (NoV) durante el primer año de vida.

Materiales y métodos. Se realizó un estudio longitudinal de cohorte con 299 niños recién nacidos provenientes de una comunidad urbano marginal de Lima. Los niños fueron seguidos diariamente desde el nacimiento hasta el primer año de vida para registrar episodios de infección por NoV mediante técnicas moleculares y datos detallados sobre alimentación, incluyendo los periodos de lactancia materna exclusiva. Para el análisis estadístico se realizó la regresión de Cox, ajustado por medidas repetidas.

Resultados. La lactancia materna exclusiva demostró un efecto protector contra las infecciones por NoV, disminuyendo el riesgo en un 36 % por día adicional (HR: 0.64; IC 95 %: 0.42–0.98; $p=0.041$). Este efecto persistió tras ajustar por factores sociodemográficos y ambientales, con una reducción del 65 % en el riesgo (HR: 0.35; IC 95 %: 0.15–0.83; $p=0.017$).

Conclusión. La lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses protege contra la infección por NoV durante el primer año de vida.

Palabras claves: Lactancia materna exclusiva, Norovirus, Diarrea.

Abstract

Objective. To evaluate the association between the duration of exclusive breastfeeding during the first six months of life and the risk of norovirus (NoV) infection during the first year of life.

Material and methods. A longitudinal cohort study was conducted with 299 newborns from an urban marginal community in Lima. The children were followed daily from birth until their first year of life to document episodes of NoV infection using molecular techniques and detailed data on feeding practices, including periods of exclusive breastfeeding. Cox regression analysis was performed, adjusted for repeated measures.

Results. Exclusive breastfeeding showed a protective effect against NoV infections, reducing the risk by 36% for each additional day of breastfeeding (HR: 0.64; 95% CI: 0.42–0.98; $p=0.041$). This effect remained significant after adjusting for sociodemographic and environmental factors, with a 65% reduction in risk (HR: 0.35; 95% CI: 0.15–0.83; $p=0.017$).

Conclusions. Exclusive breastfeeding during the first six months of life protects against NoV infection during the first year of life.

Keywords: Exclusive breastfeeding, Norovirus, Diarrhea.

1.1.1.1 Introducción

Numerosos estudios han corroborado que la lactancia materna ofrece protección frente a determinadas infecciones gastrointestinales y respiratorias (84–88), así como frente a la diabetes y la obesidad (89–92). La importancia de consumir leche materna (LM) durante los primeros meses de vida es ampliamente reconocida y se asocia con repercusiones tanto a corto como a largo plazo en la salud del neonato (88). En países de bajos y medianos ingresos, la desnutrición y las enfermedades diarreicas en niños son comunes. Por ello, resulta fundamental apoyar el desarrollo del sistema inmunológico del niño mediante factores inmunológicos y componente del microbioma presentes en la LM (93,94). La elevada concentración de inmunoglobulinas, hormonas, citoquinas, factores de crecimiento, exosomas y elementos antiinflamatorios en la LM demuestran su función inmunológica significativa (95–97). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la lactancia materna exclusiva (LME) durante los primeros seis meses de vida. Esto implica , alimentar al bebé únicamente con leche materna, sin añadir otros líquidos o alimentos sólidos, excepto en casos en que sea necesario administrar suplementos minerales o medicamentos (98). Sin embargo, en la práctica, esta recomendación enfrenta múltiples desafíos. Elementos tales como el regreso anticipado de las madres al trabajo, la ausencia de respaldo social y familiar, los obstáculos económicos y culturales, y el acceso restringido a políticas de licencia por maternidad, obstaculizan el cumplimiento riguroso de la LME (99,100). Debido a estas dificultades, muchos estudios ajustan sus metodologías y miden indicadores como el promedio de duración de la lactancia materna, el tiempo en que se introduce

la alimentación complementaria y el periodo en que la lactancia materna exclusiva finaliza, incluso si la lactancia continúa de forma parcial después (101–103).

Es así que, en todo el mundo, menos de la mitad de los bebés menores de 6 meses reciben lactancia materna exclusiva (LME) (104). A pesar de que los países de bajos y medianos ingresos consumen más LME que los países de altos ingresos, todavía están por debajo de los niveles recomendados (38.7 % vs. 70 %) (105–107). En Perú, según los reportes de ENDES la prevalencia de LME fue del 68.4 % en 2020 (108) y del 70.5 % en 2021 (109).

La LM protege a los niños de la gastroenteritis aguda (GEA) (105). Sin embargo, pocas investigaciones han examinado la relación entre la leche materna y causas específicas de GEA, como las infecciones por NoV (110). No se tiene información exacta sobre el modo de protección de la LM contra NoV.

Antígenos de grupos histo-sanguíneos (HBGAs) - Estado secreto

Los antígenos de grupos histo-sanguíneos (HBGAs, por sus siglas en inglés) son glicanos complejos que se encuentran abundantemente distribuidos en la superficie de los glóbulos rojos, las membranas mucosas, los sistemas gastrointestinal (GI), respiratorio y reproductivo, así como en la superficie ocular; además, pueden hallarse como antígenos circulantes en fluidos biológicos tales como la saliva, la leche materna y el contenido intestinal (111,112).

Para ser sintetizados, estos compuestos requieren de la acción de enzimas llamadas glicosiltransferasas, las cuales pueden ser codificadas por múltiples genes. Esta diversidad genética posibilita que su expresión pueda presentar variaciones entre distintos tipos de tejidos (113). Los HBGAs tienen cuatro tipos diferentes de estructura central: Galpl-3GlcNAcpl-R, Galpl-3GlcNAcpl-R, Galpl-3GalNAcal-R y Galpl-3GalNAcpl-R. Los antígenos presentes en los grupos sanguíneos ABO y Lewis pueden ser generados a partir de la transferencia de una fucosa al residuo de galactosa de las cadenas tipo 1 y tipo 2 por las enzimas $\alpha(1,2)$ -fucosiltransferasas (FUT) (114–117). El gen *H* (FUT1) es responsable de la síntesis de la enzima H, la cual desempeña un rol en la producción de antígenos ABO presentes en la superficie de los glóbulos rojos (118). El gen *Se* (FUT2) codifica la enzima Se que controla la síntesis de antígeno H, el cual está implicado en la expresión de antígenos similares (HBGAs) a los presentes en la superficie de los eritrocitos, pero esta actividad enzimática se lleva a cabo en un entorno biológico diferente al de la membrana eritrocitaria, específicamente en los fluidos secretos y la mucosa (41,119). Por otro lado, la expresión del fenotipo Lewis está influenciada por la actividad de la enzima $\alpha3/4$ -fucosyltransferasa (FUT3) (118,120,121). Las diferentes variantes alélicas del gen son responsables de la diversidad fenotípica observada en una población, por ejemplo: secretor (*Se*), secretor débil (*Sese*) y no secretor (*se*). La variante alélica no funcional que se hereda de manera recesiva determina que un individuo exprese el fenotipo no secretor; por lo tanto, un individuo homocigoto tendrá dicho fenotipo. Esto implica la ausencia de antígenos ABO en secreciones y células epiteliales, ya que no se produce el antígeno H. Para que una persona pueda ser considerada secretora de antígeno H, es necesario que posea al menos una variante alélica

funcional del gen FUT que sintetice el antígeno H (120). Este antígeno se secreta de igual manera en saliva y epitelio intestinal; por consiguiente, el análisis de muestras de saliva mediante la técnica de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) puede ser útil para determinar la presencia o ausencia de este antígeno en el tracto gastrointestinal (115,122). Los patrones de secreción varían según el grupo étnico al que pertenezca un individuo. Por ejemplo, el fenotipo no secretor se puede encontrar entre el 20 % y 30 %, en poblaciones europeas y africanas (120), en un 40 % en la población india (123), en un 15 % en población de Dinamarca (124) y en un 12 % en la población ecuatoriana (125). En el estudio primario de la presente tesis, se pudo apreciar que las madres cuyos niños no habían experimentado episodios de diarrea ni infecciones por NoV durante los primeros seis meses de vida mostraban una proporción menor de individuos secretores en comparación con las del grupo cuyos niños sí habían tenido episodios de diarrea y NoV (85% vs. 100%, $p=0.16$) (126,127).

La detección y cuantificación de HBGAs se realiza mediante ensayo por ELISA con la finalidad de determinar la presencia de los antígenos A, B, O y Lewis en las muestras analizadas (128–130). Esta metodología ha demostrado que los HBGAs pueden ser reconocidos por diversos patógenos incluyendo NoV, Rv, HastV, HAdV, ETEC termolábil, *Salmonella enterica* y *Campylobacter*. En consecuencia, al estar presentes en el epitelio intestinal, podrían facilitar el anclaje y posterior proceso de infección (42,43,130–136). En relación con NoV, estudios epidemiológicos han corroborado que su infección está condicionada tanto por la capacidad secretora de las personas como por la variabilidad genética del virus

(genotipo y genogrupo) (38–40,42,137–139). Los individuos que no secretan el antígeno H presentan menor susceptibilidad a desarrollar infecciones sintomáticas por NoV GI.1, GII.3 y GII.4 (42,43,125). No obstante, no se ha evidenciado una disminución en la susceptibilidad a infecciones causadas por otros genotipos como GI.3 (140).

Dado que menos de la mitad de los lactantes menores de 6 meses recibe LME, es importante analizar cuánto tiempo se mantiene esta práctica y cómo influye en la presentación de infecciones por NoV. La duración de la LME puede ser un factor determinante en la protección contra NoV ya que la leche materna contiene una combinación de componentes que podrían desempeñar un papel clave en la protección contra infecciones por NoV ya que algunos podrían tener funciones inmunológicas o modular el microbioma intestinal para reforzar la barrera contra patógenos y cuya efectividad podría depender de su exposición prolongada. Evaluar cuánto tiempo los lactantes reciben LME permitirá identificar períodos críticos en los que la leche materna ejerce su mayor efecto protector ante infecciones por NoV.

Además, los beneficios protectores de la LM podrían estar influenciados por la variación en su composición, lo que depende de factores como la genética, el historial inmunológico, la nutrición de la madre y el nivel socioeconómico (141–143). Estos factores no varían solo entre individuos, sino también entre países y regiones, lo que resalta la importancia de realizar este análisis en una población peruana mayoritariamente mestiza.

1.2.1.2 Hipótesis:

La duración de la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida está asociada a la reducción del riesgo de infección por NoV durante el primer año de vida.

1.3.1.3 Objetivo:

Evaluar la asociación de la duración de la lactancia materna durante los primeros seis meses de vida y el riesgo de infección por NoV durante el primer año de vida.

1.4.1.4 Materiales y Métodos:

1.4.1 Diseño

El presente trabajo es un estudio secundario en el que se hizo uso de los datos del estudio primario denominado “La infección natural de Norovirus y Sapovirus en una cohorte de nacimiento en una comunidad periurbana del Perú” (SIDISI: 65178) (Anexo 1). Se trata de un análisis longitudinal en el que se tomó los datos de todos los niños y sus madres enrolados en el estudio primario. A continuación, se detallará los procedimientos llevados a cabo durante el estudio primario. Cabe resaltar que la presente tesis cuenta con aprobación del Comité de Ética Institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (CIE-UPCH) (Anexo 2).

1.4.2 Población

La población consta de los pobladores de una región urbano marginal del distrito limeño de Villa El Salvador. El distrito cuenta con 393 254 habitantes de acuerdo con el Censo del 2017. De la población en edad

de trabajar, el 53.7 % se autoidentifica como mestizo, seguido del 15.0 % que se considera quechua. El 52.3 % de la población cuenta con estudios completos de secundaria y un 32.6 % ha alcanzado el nivel superior. El 10.36 % tiene una lengua materna distinta al castellano. La mayoría (99 %) habita en viviendas particulares y el 0.28 % lo hace en vivienda improvisada o local no destinado para vivienda humana (144). El 6.1 % de las viviendas obtiene su suministro de agua a través de medios alternativos a la red pública, como pilones de uso público, camiones cisterna y pozos. Asimismo, el 5.9 % de las viviendas no cuenta con red pública de desagüe, utilizando en su lugar sistemas como pozos sépticos, letrinas, pozos ciegos, ríos, acequias, campo abierto y otros métodos (144).

1.4.2.1 Criterios de selección

a. Criterios de inclusión:

- Se incluyó a los niños con sus respectivas madres siempre y cuando el bebé no tuviera más de 28 días de nacido, residiera en el área de estudio y contara con el consentimiento informado del padre, madre o tutor legal.

b. Criterios de exclusión

- Se excluyeron aquellos con embarazos múltiples, recién nacidos con un peso inferior a 1500 gramos, o aquellos con enfermedades graves, crónicas o congénitas, como fibrosis quística o VIH. En caso de que el tutor no pudiera otorgar su consentimiento completo, el reclutamiento no se realizaba.

- Se excluyó a los niños que no contaran con registros completos sobre su alimentación.
- Adicionalmente, para la presente tesis, se excluyó a los niños que se retiraron del estudio antes de completar los 6 meses de edad.

1.4.3 Muestreo

1.4.3.1 Tipo de muestreo

Se realizó un muestreo por conveniencia de mujeres embarazadas próximas al parto en el marco del estudio primario.

1.4.4 Procedimientos del estudio

1.4.4.1 Enrolamiento

Se realizó una evaluación preliminar en la comunidad y en centros de salud para identificar a las mujeres embarazadas e invitarlas a participar en la investigación. Se reclutó gradualmente durante 12 meses, con un promedio de 20-25 nacimientos mensuales.

1.4.4.2 Recolección de datos

a. Cuestionarios

Durante el proceso de reclutamiento, se realizó un cuestionario sobre las características del hogar, los bienes del hogar, el nivel de educación y la alfabetización de los padres. Se recopilaron datos sobre instalaciones sanitarias, fuentes de agua, procedimientos higiénicos y la presencia de animales. Además. Se solicitó información sobre el tipo de empleo, salario

y seguro médico en aspectos socioeconómicos. Los datos se actualizan anualmente.

Se registró la presencia de diarrea, vómitos u otros síntomas de gastroenteritis en cada casa a diario, según la opinión del cuidador principal. Se registró el estado de lactancia materna. Se realizaron mediciones antropométricas al reclutamiento y mensualmente para registrar el estado nutricional de los niños. La actualización anual de la cartilla de vacunación de cada madre registraba la historia de vacunas.

b. Recolección de muestras biológicas

Se recolectaron muestras fecales de manera semanal. Se solicitó a las madres que almacenen los pañales con heces hasta que sean recogidos por las trabajadoras del campo. En caso de que el infante no utilizara pañal, se facilitó un contenedor de plástico para que la madre recolecte las muestras pertinentes. Estas muestras abarcan la totalidad de las muestras de heces tomadas de manera rutinaria, aunque es posible que algunas, por coincidencia, puedan provenir de episodios de diarrea. Cuando el infante manifestó gastroenteritis, se procedió a la recolección de heces dentro de las 48 horas posteriores a la ocurrencia del episodio. Se recolectaron alrededor de 3 ml de leche materna mensuales durante el período lactante del infante. La primera muestra fue recolectada durante el proceso de reclutamiento. La recolección de la muestra se realizó mediante extracción manual, tras una limpieza del seno.

En relación con la recolección de muestras sanguíneas, en el caso de los niños, se tomaron muestras a los seis meses de edad y, posteriormente, cada seis meses.

Las muestras sanguíneas maternas fueron recolectadas durante el proceso de reclutamiento y cada 12 meses.

Se recolectaron hisopados orales durante el proceso de reclutamiento, tanto para la madre como para el niño para la evaluación del gen FUT2.

Las muestras de saliva materna se recolectaron durante el proceso de reclutamiento. Las muestras de los niños fueron recolectadas durante el proceso de reclutamiento y posteriormente se recolectaron de manera mensual durante el periodo de seguimiento.

c. Procesamiento de muestras biológicas

Las muestras recolectadas en campo fueron alicuotadas y congeladas en el transcurso de las primeras cinco horas subsiguientes a la recolección, durante el estudio principal. Las muestras fueron enviadas diariamente a la Universidad Peruana Cayetano Heredia y almacenadas a una temperatura de -80°C hasta su procesamiento. La cadena de frío permaneció inalterada durante el proceso de transporte.

Se descongelaron las muestras de heces a 4°C y se preparó una suspensión al 10% para la extracción de ARN de NoV. Se aisló el ARN viral utilizando el QIAamp viral RNA kit y QIAcube de Qiagen (Qiagen, Hilden, Germany), siguiendo las instrucciones del fabricante. Subsecuentemente, se procedió a la síntesis de ADN complementario (ADNc) de NoV utilizando el sistema

SuperScript III First-Strand Synthesis, empleando primers seleccionados conforme a las especificaciones del fabricante (Invitrogen, Carlsbad, California). La reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR) para la detección de NoV se llevó a cabo utilizando Taqman, empleando 10 pmol de cada primer previamente descrito (145). El objetivo era identificar la región del genoma que codifica la cápside del virus. Para establecer el límite de detección, se empleó una curva estándar con diluciones que oscilaron entre 10^6 a 10^0 de controles de GII.4 y GI.3 (National Calicivirus Laboratory, CDC). Para determinar si la muestra era positiva o negativa a NoV, se consideró el valor de Ct de cada muestra. Las muestras con Ct menor o igual a 37 para GI y menor o igual a 38 para GII se consideraron positivas.

Para la detección de *Escherichia coli* enterotoxigénica mediante qPCR se identificaron los genes para las toxinas LT, STh y STp en ADN extraído de muestras de heces. Para determinar positividad, se tomó en cuenta el valor de Ct de cada muestra. Se consideraron positivas las muestras con un valor de Ct menor a 40 (127).

Para la cuantificación de HBGAs, se realizó el ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) directo previamente descrito con algunas modificaciones menores (129,146). Las muestras de saliva se sometieron a pretratamiento con baño maría a 100 °C durante 5 minutos y se diluyeron 1:1000 en buffer carbonato–bicarbonato (0.1 M, pH 9.6). Las placas fueron recubiertas con μ l de las muestras de saliva a 37 °C por 2 horas y luego se

mantuvieron a 4 °C durante toda la noche (14 – 16 horas). Posteriormente, se realizaron 5 lavados con PBS-T (PBS + 0.05% Tween 20) y se realizó el bloqueo con 200 µl de PBS-T/5% Biotin con incubación por 1 h. a 37°C. Después de 5 lavados, se incubó la placa con 200 µl UEA-I-Peroxidase 1:5000 por 1 h. a 37°C. Finalmente, para el desarrollo de color, se realizó 5 lavados y se agregó 100µl TMB e incubación por 10-15 minutos. La absorbancia fue medida a 450nm en un lector de placas de ELISA. Para determinar el estado secretor, la absorbancia de la muestra positiva debía ser al menos cuatro veces mayor que la del control negativo (146).

Las muestras de leche materna fueron enviadas a la Universidad de California, San Diego, USA para cuantificar los HMOs por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando una columna amida-80 (15 cm de longitud, 2 mm de diámetro interno, 3 µm de tamaño de partícula) junto con un sistema de amortiguador a base de formiato de amonio-acetonitrilo (50 mmol/L). El proceso de separación se llevó a cabo a 25°C, y se monitorizó utilizando un detector de fluorescencia con excitación a 360 nm y emisión a 425 nm (147).

Se utilizó el High Pure PCR Template Preparation Kit de Roche para realizar la genotipificación del gen FUT2. Se extrajo ADN genómico de muestras de hisopado oral siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó la amplificación de la región de interés del gen FUT2 y del gen de betaglobina humana mediante PCR convencional en un T100 Thermal

Cycler (Bio-Rad). Los productos de PCR fueron secuenciados por MacroGen USA para identificar polimorfismos de nucleótido único (SNPs) (148).

1.4.5 Variables de estudio

Variable dependiente: Infección por NoV

- Se definieron los criterios para identificar un episodio de infección por norovirus (NoV) de la siguiente manera: 1) un genotipo distinto detectado en cualquier momento se considera una nueva infección; 2) si se detecta el mismo genogrupo o genotipo, se clasifica como una nueva infección solo si ha transcurrido un intervalo de al menos 30 días desde la infección previa, acompañado de dos muestras negativas.
- Tipo y escala de la variable: categórica dicotómica nominal.
- Categorías: valor de 1 si el niño presenta infección por NoV y 0 si no la presenta.

Variable independiente: Duración de la lactancia materna exclusiva

Se realizó el seguimiento diario a las familias y se registró el tipo de alimentación que ha recibido el niño. Se registró el momento en el que se introdujo otros alimentos además de la leche materna.

- Cantidad de tiempo en días continuos que el niño ha consumido leche materna exclusivamente dentro del periodo de los primeros seis meses de vida.
- Tipo y escala de variable: numérica de razón.

Otras variables:

- **Diarrea:** Se consideró un episodio de diarrea si el bebé presentó 3 o más deposiciones líquidas o semilíquidas en el periodo de un día. En niños menores de dos meses, se tuvo en cuenta el criterio del cuidador.

Tipo de variable: categórica, dicotómica, nominal.

- **Estado secretor del niño y la madre:** Se empleó el ensayo de ELISA para identificar el antígeno H en muestras de saliva.

Categorías: Cuando no se identificó el antígeno, se le consideró como un individuo "no secretor". En caso de que se detectara el antígeno, se le designó como "secretor".

Tipo de variable: categórica, dicotómica, nominal.

- **Grupo sanguíneo del niño y la madre:** Se determina mediante una prueba de aglutinación, en la que se mezcla una muestra de sangre con anticuerpos del tipo A y B. De acuerdo con la presencia de aglutinación en cada mezcla, es posible establecer si el grupo sanguíneo corresponde al grupo A o al grupo B.

Categorías: De acuerdo con la presencia de aglutinación en cada mezcla, es posible establecer si el grupo sanguíneo corresponde al grupo "A" o al grupo "B". Si se detecta aglutinación para ambos anticuerpos, el grupo sanguíneo corresponde al tipo "AB", Si no se detecta aglutinación para ninguno de los dos anticuerpos, el grupo sanguíneo corresponde al tipo "O". Se empleó la combinación de sangre con anticuerpos Rh para identificar si el factor Rh es positivo (Rh⁺), determinado por la aglutinación.

Tipo de variable: categórica, politómica, nominal.

- Grado de instrucción de la madre/apoderado:

Recoge el nivel educativo alcanzado por la madre o apoderado, obtenido mediante una encuesta realizada al inicio del estudio.

Categorías: “Ninguna o inicial” si no completó estudios o alcanzó solo estudios iniciales, “Primaria completa si completó el ciclo de educación primaria, “Primaria incompleta” si inició, pero no completó la educación primaria, “Secundaria completa” si finalizó la educación secundaria y “Superior no universitario” si alcanzó estudios superiores no universitarios, como técnicos o formación profesional.

Tipo de variable: categórica, politómica, nominal.

- Fuente de agua:

Describe el tipo de fuente utilizada para abastecer de agua a los hogares, con base en la información obtenida mediante encuesta.

Categorías: “Pilón” si la fuente de agua proveniente de un pilón, “Camión cisterna” si el agua fue suministrada por camión cisterna, “Jalada de vecino” si el agua fue obtenida de una fuente compartida con un vecino, “Pozo” si el agua fue extraída de un pozo privado o comunitario, “Conexión extradomiciliaria” si la conexión a una fuente de agua estaba fuera del hogar, pero no dentro de la propiedad, “Conexión intradomiciliaria <24 horas” si la conexión de agua dentro del hogar estaba disponible por menos de 24 horas al día, “Conexión intradomiciliaria 24h” si la conexión de agua dentro del hogar estaba disponible

durante las 24 horas del día, “Otras fuentes no potables” si las fuentes de agua no eran aptas para consumo humano, como fuentes no tratadas.

Tipo de variable: categórica, politómica, nominal.

- Eliminación de excretas:

describe el sistema utilizado para la disposición de las excretas en el hogar, basada en la información obtenida mediante encuesta.

Categorías: “Silo” si método de eliminación de excretas fue a través de un silo o sistema de almacenamiento temporal, “Letrina propia” si el sistema de eliminación de excretas fue mediante una letrina privada, exclusiva del hogar, “Desagüe intradomiciliario” si el sistema de evacuación de excretas dentro del hogar estaba conectado a una red de desagüe interna, “Desagüe extradomiciliario” si el sistema de desagüe estaba conectado a una red externa de alcantarillado fuera del hogar y “Otros” en cualquier otro sistema utilizado para la eliminación de excretas que no encaje en las categorías anteriores.

Tipo de variable: categórica, politómica, nominal.

1.4.6 Procesamiento y análisis estadístico

Se realizó el cálculo de las frecuencias absolutas y relativas correspondientes para cada variable categórica presente en el estudio. En el caso de las variables cuantitativas, se realizaron los cálculos de las medidas de tendencia central, ya sea la media aritmética o la mediana, y de dispersión, incorporando la desviación estándar y el rango intercuartílico, conforme a lo estipulado por la naturaleza de los datos examinados.

Con el objetivo de examinar la asociación entre las infecciones por NoV durante el primer año de vida y las variables de interés, se empleó la regresión de Cox. Se realizó un análisis bivariado con cada una de las variables de forma independiente y en análisis múltiple ajustando por todas las variables de interés. El índice de confianza se fijó en 95% y se estableció un nivel de significancia de 0.05 para todos los análisis. Se eligió la regresión de Cox porque permite analizar el tiempo transcurrido hasta el evento de interés y manejar datos censurados dado que algunos niños pueden no haber experimentado el evento durante el tiempo de seguimiento. Además, la interpretación de los Hazard ratios (HR) permite evaluar el riesgo relativo de que ocurra el evento en cualquier momento dado, lo cual es muy útil para entender el impacto de una variable en el riesgo de ocurrencia del evento a lo largo del tiempo.

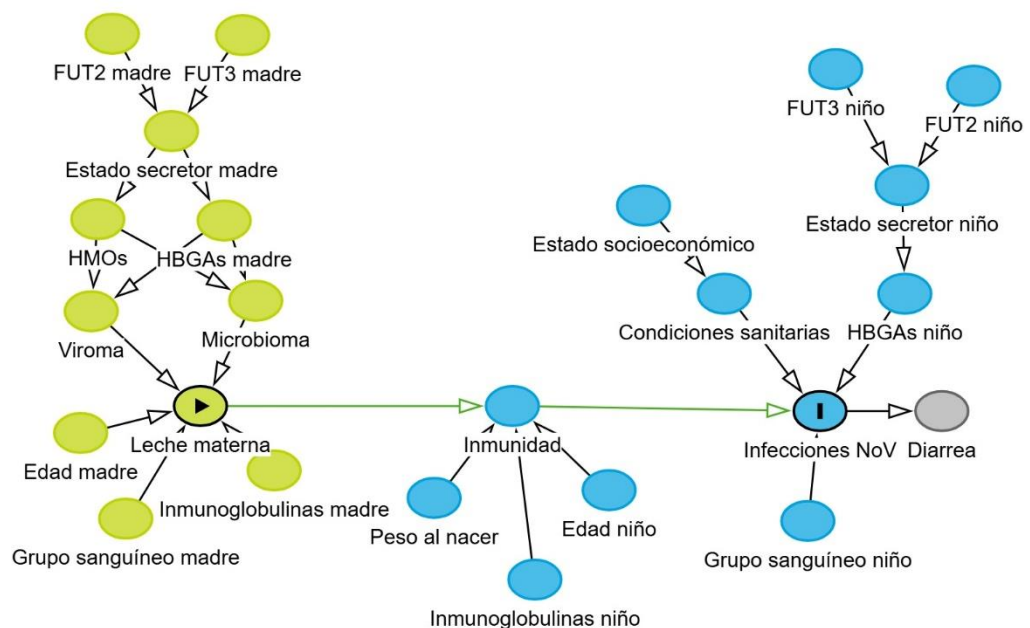


Figura 1. Gráfico acíclico dirigido (DAG) de la asociación de la lactancia materna con la presencia de infecciones por NoV en el que se observa las variables de confusión.

a. Potencia estadística

Considerando los resultados obtenidos en el presente estudio, se detectó una razón de riesgo (HR) de 0.64 en un total de 299 niños, lo que indica que la variable numérica de la duración de la lactancia materna reduce en un 36% el riesgo de sufrir una infección por NoV. Este valor fue identificado con un poder estadístico del 96.52%.

```
. stpower cox, n(299) hratio(0.64) alpha(0.041)

Estimated power for Cox PH regression
Wald test, log-hazard metric
H0: [b1, b2, ..., bp] = [0, b2, ..., bp]

Input parameters:

      alpha =    0.0410  (two sided)
      b1 =   -0.4463
      sd =    0.5000
      N =      299

Estimated number of events and power:

      E =      299
      power =    0.9652
```

1.5.1.5 Resultados

1.5.1 Características sociodemográficas de la población de estudio.

Del estudio primario se excluyó a 45 niños que abandonaron el seguimiento antes de cumplir los 6 meses de edad. Al comparar las características de los niños excluidos con las de los incluidos en el análisis, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Anexo 3). Por lo tanto, se concluye que su inclusión no habría alterado los resultados de los análisis realizados.

Hasta el primer año de vida se siguió a un total de 299 niños de los cuales 50.17 % eran de sexo femenino. La mayoría de los niños fue de grupo sanguíneo O+ (78.55 %). Solo 3 (1.29 %) de ellos fue no secretor. El valor medio de concentración en el cuarto cuartil (1.37 ± 0.26) es más del doble que el del primer cuartil (0.63 ± 0.24), lo que indica una amplia dispersión de la variable en la población estudiada. En cuanto a las madres, 8 (2.95 %) fueron no secretoras. La mayoría de las madres participantes presentó un grado de instrucción de secundaria completa (51.68%), seguido por primaria completa (28.19%) y un menor porcentaje con educación superior no universitaria completa o más (12.42%). En cuanto a las características de las viviendas, la principal fuente de agua fue el sistema de conexión intradomiciliaria con disponibilidad de 24 horas (78.19%), mientras que el resto utilizaba otras fuentes menos frecuentes como pilón o camión cisterna. Respecto a la eliminación de excretas, el 82.55% contaba con desagüe intradomiciliario, y el uso de otras formas como silos o desagüe extradomiciliario se registró en el 17.45% de las viviendas.

Tabla 1. Características de los niños incluidos en el análisis y sus madres

Variables	n (%)
Características de los niños	
Sexo del Niño	
Femenino	150 (50.17)
Masculino	149 (49.83)
Grupo sanguíneo	
O+	216 (78.55)
O-	4 (1.45)
A+	35 (12.73)
B+	20 (7.27)
Estado secretor niño	
Secretor	229 (98.71)
No secretor	3 (1.29)
Concentración de HBGAs en saliva (cuartiles)*	
1° cuartil	0.63 ± 0.24

2° cuartil	0.91±0.10
3° cuartil	1.11±0.13
4° cuartil	1.37±0.26
Características de las madres	
Estado secretor	
Secretor	263 (97.05)
No secretor	8 (2.95)
Concentración de HBGAs en saliva (cuartiles)*	
1° cuartil	0.56±0.26
2° cuartil	0.94±0.12
3° cuartil	1.20±0.13
4° cuartil	1.52±0.23
Índice de Probabilidad de Pobreza (cuartiles)*	
1° cuartil	47±7
2° cuartil	57±2
3° cuartil	62±4
4° cuartil	68±4
Grado de instrucción	
Primaria incompleta o menos	23 (7.72)
Primaria completa	84 (28.19)
Secundaria completa	154 (51.68)
Superior no universitaria completa o más	37 (12.42)
Características de las viviendas	
Fuente de agua	
Conexión intradomiciliaria	233 (78.19)
Otras fuentes	65 (21.81)
Eliminación de excretas	
Desagüe intradomiciliario	246 (82.55)
Otro	52 (17.45)

*Mediana±RIC

La mediana de edad a la cual los niños dejan la lactancia materna exclusiva con la introducción de fórmulas u otro líquido fue de 99±84 días, con un rango intercuartílico que va desde los 57 días (P25) hasta los 141 días (P75). Lo que indica que 25 % de los niños cesa la lactancia materna exclusiva al cumplir los 57 días de edad, lo que implica la introducción de alimentos distintos a la leche materna. Para los tres meses de edad, este porcentaje se incrementa a cerca del 50%. Cabe destacar que este análisis se centra en el cese de la lactancia materna exclusiva en su sentido

estricto, incluso si los niños continuaron consumiendo leche materna posteriormente.

En la curva de supervivencia de Kaplan-Meier (Figura 2a) se visualiza la proporción de niños que mantuvieron la lactancia exclusiva a lo largo del tiempo, con una censura a los 183 días (6 meses). La distribución de la duración de la lactancia materna exclusiva no es simétrica, con un número notable de niños dejando la lactancia exclusiva en las primeras semanas de vida. Durante los primeros 53 días, la pendiente de la curva es muy pronunciada indicando que gran parte de los niños deja la lactancia materna exclusiva en este periodo temprano. Después de los 129 días, el descenso de la curva se vuelve mucho más gradual.

En cuanto a las infecciones por NoV, alrededor de los 180 días de vida (6 meses), aproximadamente el 40% de los niños ya han presentado su primera infección por NoV (Figura 2b). Al finalizar el período de seguimiento, a los 365 días (1 año), menos del 20% de los niños permanecen libres de infección por NoV.

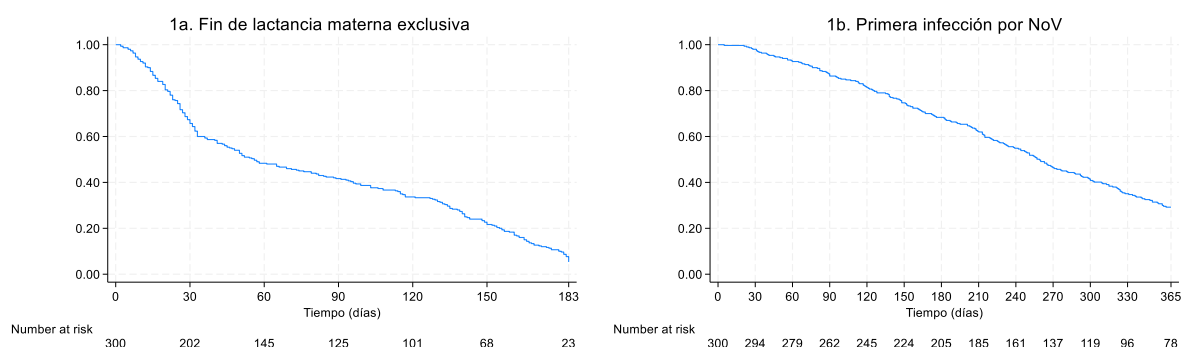


Figura 2. Curvas de supervivencia para a) fin de lactancia materna exclusiva con la introducción de alimentos diferentes a leche materna, b) primera infección por NoV.

1.5.2. Análisis de regresión

En el análisis de regresión de Cox (Tabla 2), se analiza la asociación entre la duración de la lactancia materna exclusiva y el riesgo de infección por NoV. Los resultados indican que la lactancia materna exclusiva tiene un efecto protector contra las infecciones por NoV. En el análisis simple, cada día adicional de lactancia materna exclusiva se asoció con una reducción del riesgo de infección por NoV, con un HR de 0.64 (IC 95%: 0.42–0.98; $p=0.041$). Es decir, por cada día adicional de lactancia materna exclusiva, el riesgo de infección se reduce en un 36%.

En el modelo de regresión múltiple ajustado, la lactancia materna exclusiva continuó siendo un factor protector significativo con un HR de 0.35 (IC 95%: 0.15–0.83; $p=0.017$). Esto indica que, después de controlar por variables que podrían influir en el riesgo de infección, la lactancia materna sigue reduciendo el riesgo de infección por NoV en un 65 %.

En cuanto a las características socioeconómicas, no se identificaron asociaciones estadísticamente significativas con el nivel de instrucción materna, el índice de pobreza o las fuentes de agua.

Tabla 2. Regresión de Cox simple y múltiple para estimar la asociación entre la infección por NoV y las diferentes variables de interés durante el primer año de vida.

Variables	Regresión simple			Regresión múltiple		
	HR	IC 95 %	<i>p</i>	HR	IC 95 %	<i>p</i>
Características del niño						

Sexo del Niño						
Femenino	Ref.			Ref.		
Masculino	1.03	0.79 – 1.36	0.810	1.65	0.85 – 3.21	0.140
Grupo sanguíneo						
O+	Ref.			Ref.		
O-	0.87	0.09 – 8.07	0.901	1.96e-19	-	-
A+	1.44	0.84 – 2.49	0.187	1.19	0.41 – 3.45	0.632
B+	1.12	0.52 – 2.41	0.770	2.96	0.83 – 10.58	0.228
Estado secretor						
Secretor	Ref.			Ref.		
No secretor	0.94	0.62 – 1.41	0.749	1.13e-18	-	-
Concentración de HBGAs en saliva (cuartiles)						
1° cuartil	Ref.			Ref.		
2° cuartil	1.00	0.69 – 1.45	1.000	1.16	0.42 – 3.22	0.774
3° cuartil	0.86	0.58 – 1.26	0.433	1.26	0.38 – 4.10	0.706
4° cuartil	0.95	0.66 – 1.36	0.767	0.89	0.28 – 2.84	0.838
Lactancia materna	0.64	0.42 – 0.98	0.041	0.35	0.15 – 0.83	0.017
Diarrea	1.29	0.84 – 1.96	0.242	0.99	0.42 – 2.24	0.981
Características de la madre						
Estado secretor						
Secretor	Ref.			Ref.		
No secretor	0.62	0.30 – 1.28	0.195	0.24	0.02 – 3.45	0.296
Concentración de HBGAs en saliva (cuartiles)						
1° cuartil	Ref.			Ref.		
2° cuartil	1.35	0.92 – 1.97	0.125	0.57	0.21 – 1.55	0.271
3° cuartil	1.11	0.76 – 1.61	0.602	0.85	0.25 – 2.81	0.784
4° cuartil	1.19	0.79 – 1.80	0.396	0.61	0.21 – 1.78	0.365
Índice de Probabilidad de Pobreza (cuartiles)						
1° cuartil	Ref.			Ref.		
2° cuartil	1.34	0.92 – 1.96	0.128	2.97	0.80 – 11.02	0.105
3° cuartil	1.15	0.79 – 1.68	0.466	2.11	0.44 – 10.08	0.348
4° cuartil	1.01	0.68 – 1.52	0.950	1.36	0.23 – 8.18	0.734
Grado de instrucción						
Primaria incompleta o menos	Ref.			Ref.		
Primaria completa	1.01	0.56 – 1.84	0.970	0.61	0.15 – 2.42	0.483
Secundaria completa	0.89	0.51 – 1.57	0.690	0.39	0.10 – 1.55	0.179
Superior no universitaria completa o más	1.13	0.59 – 2.15	0.714	0.70	0.15 – 3.15	0.640
Características de la vivienda						
Fuente de agua						
Conexión intradomiciliaria 24h	Ref.			Ref.		
Otras fuentes	0.83	0.58 – 1.18	0.303	0.48	0.07 – 3.22	0.453
Eliminación de excretas						
Desagüe intradomiciliario	Ref.			Ref.		
Otros	0.71	0.48 – 1.05	0.085	1.72	0.21 – 14.22	0.613

1.6.1.6. Discusión

En este estudio, la mediana de 99 días para el cese de la lactancia materna exclusiva es más alta que los 40 días reportados en Brasil (149). Sin embargo, que el 25% de los niños haya dejado la lactancia materna exclusiva tan temprano como a los 57 días refleja una situación preocupante dentro de esta población, especialmente al compararla con las recomendaciones internacionales. La introducción temprana de alimentos o líquidos diferentes a la leche materna no son necesarios para mantener la hidratación del bebé (150), sino que podría aumentar el riesgo de infecciones y dificultar la absorción de nutrientes importantes como el hierro y el zinc (151,152).

En este estudio, se evaluó la asociación entre la duración de la lactancia materna durante los primeros seis meses de vida y el riesgo de infecciones por NoV durante en el primer año de vida, utilizando análisis de regresión de Cox en modelos simples y múltiples. En el análisis de regresión simple, la lactancia materna exclusiva presentó un efecto protector significativo (HR: 0.64; IC 95%: 0.42–0.98; $p=0.041$) en el que cada día adicional de lactancia materna exclusiva reduce el riesgo de infección por NoV en un 36%. En el modelo de regresión múltiple ajustado, la lactancia materna exclusiva mantuvo su asociación protectora (HR: 0.35; IC 95%: 0.15–0.83; $p=0.017$) con una disminución del 65 % en el riesgo de infección por NoV, sugiriendo un impacto robusto. Estos resultados coinciden con estudios previos que han

reportado una disminución significativa en el riesgo de infecciones gastrointestinales en lactantes que reciben LME durante al menos seis meses (153–155). Es posible que la introducción precoz de otros alimentos podría intensificar la exposición a patógenos y modificar la microbiota intestinal, lo que podría reducir el efecto protector de la lactancia materna (156). Sin embargo, respecto a la infección por NoV de forma específica, estudios han indicado que el grado de lactancia materna exclusiva no se asoció significativamente con protección contra NoV ni con el tiempo hasta la primera detección de NoV (56).

La inclusión de variables relacionadas con características del niño, de la madre o la vivienda no mostraron asociaciones estadísticamente significativas, probablemente debido a interacciones o confusores no explicados. Sin embargo, estos resultados difieren con los reportados en estudios previos donde se sugiere que los niños secretores tienen mayor riesgo de gastroenteritis (157). Respecto al estado secretor de la madre este estudio no encontró una asociación significativa con la infección por NoV. El rol del estado secretor de la madre aún no está claro ya que algunos estudios sugieren una mayor protección contra las infecciones por norovirus en los hijos de madres no secretores (158), mientras que otros reportan una reducción en las infecciones de norovirus (110). Un factor importante que podría haber influido en nuestros resultados es el reducido número de madres no secretoras en nuestra cohorte, lo que limita la capacidad del análisis para detectar diferencias significativas debido a la falta de representatividad de este grupo.

Se analizó la concentración de HBGAs en saliva como una aproximación a su concentración en leche materna. Estudios *in vitro* han demostrado que los NoV reconocen a los HBGAs como receptores o ligandos para su adhesión (39,134,159–162); sin embargo, no se encontró asociación significativa con infección por NoV en esta cohorte. Estos resultados concuerdan con estudios previos en voluntarios, donde no se logró establecer una relación consistente entre los HBGAs y la susceptibilidad a los NoV (163). El análisis se realizó en saliva, ya que su presencia en esta muestra puede aproximarse a la concentración de los HBGAs en el epitelio intestinal. Sin embargo, se sugiere realizar un análisis en leche materna para obtener una aproximación más precisa de la concentración de estos componentes en el sitio de acción del virus. La gran diversidad de los NoV para reconocer distintos HBGAs sugieren que además de los HBGAs, otros factores del huésped también podrían ser clave en la infección por NoV.

No se encontró asociación significativa entre el nivel de educación materna ni las características de la vivienda, como la eliminación de excretas o las fuentes de agua, con la infección por NoV en los niños. Estudios previos que sugieren que, si bien factores socioeconómicos como los ingresos familiares pueden influir indirectamente al modificar los riesgos de transmisión de patógenos, estas asociaciones tienden a desaparecer cuando se ajustan los modelos por variables relevantes (164). Además, aunque se ha reportado que un bajo nivel de alfabetización en salud por parte de los padres puede correlacionarse con

peores resultados en la salud infantil (165,166), nuestros resultados no identificaron una relación directa entre el nivel de educación materna y la incidencia de infecciones por NoV. Esto podría indicar que otros factores, como las dinámicas de transmisión persona a persona o las características del entorno comunitario, tienen un papel más relevante en la propagación de este virus.

Los resultados se alinean con investigaciones anteriores que indican que la lactancia materna suministra factores bioactivos que robustecen el sistema inmunológico del infante y, consecuentemente, reducen su susceptibilidad a infecciones por NoV. No obstante, es importante destacar que estas ventajas parecen ser proporcionales al tiempo de lactancia materna exclusiva, lo que enfatiza la necesidad de fomentar su continuidad durante los primeros seis meses de vida para optimizar la protección inmunológica y minimizar la exposición temprana a patógenos.

1.7.1.7. Conclusiones

Esta investigación refuerza el rol protector de la lactancia materna exclusiva frente a las infecciones por norovirus (NoV) durante los primeros meses de vida del niño. Los hallazgos indican que cada día adicional de lactancia exclusiva disminuye considerablemente el riesgo de infección, enfatizando la relevancia de promover y preservar esta práctica al menos durante los primeros seis meses de vida, tal como se recomienda en las directrices internacionales. La asociación significativa entre el estado secretor materno y las infecciones por NoV en los niños no fue observada. No obstante, debido a la escasa

proporción de madres no secretoras en la cohorte, podría no observarse diferencias. A pesar de que la presencia de HBGAs en la saliva se correlacionan con sus niveles en el epitelio intestinal, no se ha establecido una asociación directa entre su concentración y el riesgo de infección por NoV. Esto podría indicar que hay otros elementos del huésped, además de los HBGAs, que desempeñan un rol en la interacción con el virus. Adicionalmente, no se identificó una asociación con el nivel educativo de las madres, el acceso al agua potable o la eliminación de excretas, y el riesgo de infecciones por NoV lo que podría sugerir que, en esta población, otros factores podrían influir en la susceptibilidad a la infección.

CAPÍTULO II

Asociación entre las concentraciones de HMOs en leche materna y la presencia de diarrea e infección por NoV.

Resumen

Objetivo: Evaluar la asociación entre la composición de oligosacáridos de la leche materna (HMOs) y la presencia de diarrea por NoV durante los primeros seis meses de vida.

Materiales y métodos. Estudio transversal tipo caso-control de muestras recolectadas en el estudio primario donde se seleccionó muestras de leche materna de madres que dieron lactancia materna exclusiva antes de la primera infección de NoV del niño. Las muestras de LM se clasificaron en NoV positivo con diarrea (NoV+/D+) y NoV positivo sin diarrea (NoV+/D-). Se evaluaron 19 HMOs en la leche materna de cada muestra mediante HPLC.

Resultados. No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de HMOs entre los grupos NoV+/D+ y NoV+/D-, lo que sugiere que los HMOs no están significativamente asociados con la diarrea en niños infectados por NoV.

Conclusión. La influencia de las concentraciones de HMOs en la diarrea en niños infectados por NoV no se evidenció de manera clara en este estudio.

Palabras claves: Oligosacáridos de la leche materna, norovirus, diarrea, leche materna.

Abstract

Objective. To evaluate the association between the composition of human milk oligosaccharides (HMOs) and the presence of diarrhea caused by Norovirus (NoV) during the first six months of life.

Material and Method. A cross-sectional case-control study using samples collected in the primary study, where breast milk samples were selected from mothers who provided exclusive breastfeeding before their child's first NoV infection. The breast milk samples were classified into NoV-positive with diarrhea (NoV+/D+) and NoV-positive without diarrhea (NoV+/D-). Nineteen HMOs in each sample were assessed by HPLC.

Results. No significant differences were found in the concentrations of HMOs between the NoV+/D+ and NoV+/D- groups, suggesting that HMOs are not significantly associated with diarrhea in children infected with NoV.

Conclusion. The influence of HMO concentrations on diarrhea in children infected by NoV was not clearly evidenced in this study.

Keywords: Human milk oligosaccharides, norovirus, diarrhea, breast milk.

1.8. 2.1 Introducción.

La leche materna tiene hormonas, citoquinas, oligosacáridos, inmunoglobulinas, componentes antiinflamatorios que juegan un papel importante en la inmunidad de los lactantes (97,167). Como parte de la presente tesis, se analizaron los Oligosacáridos de leche humana (HMOs, por sus siglas en inglés).

Oligosacáridos de leche humana (HMOs)

Los oligosacáridos presentes en la leche materna, también conocidos como HMOs (Human Milk Oligosaccharides en inglés), son estructuras de glicanos no unidos a proteínas que exhiben una diversidad de combinaciones de hasta 5 monosacáridos fundamentales: galactosa (Gal), glucosa (Glc), N-acetilglucosamina (GlcNAc), fucosa (Fuc) y ácido N-acetil-neuramínico (Neu5Ac). La lactosa (Galactosa β 1–4 Glucosa) siempre se encuentra presente en el extremo reductor de ciertas moléculas y puede ser alargada en β 1-3 o β 1-6 por la enzima Galactosa β 1-3 N-acetilglucosamina (cadena tipo 1) o Galactosa β 1-4 N-acetilglucosamina (cadena tipo 2) (168). La estructura química de un total de 162 HMOs ha sido identificada, manifestando una diversidad considerable de combinaciones de monosacáridos o disacáridos repetitivos susceptibles de alteración a través de procesos de fucosilación o sialilación (169–171). De acuerdo con su estructura molecular, los HMOs pueden ser clasificados en tres categorías principales: (1) HMOs con núcleo neutral que integran GlcNAc, Gal y Glc; (2) HMOs neutrales fucosilados que exhiben al menos una unidad de Fuc; y (3) HMOs ácidos que contienen al menos una unidad de Neu5Ac (172).

Los patrones de fucosilación, proceso bioquímico que consiste en la adición de residuos de fucosa, pueden presentar variaciones significativas entre diferentes personas y están estrechamente asociados con la tipología sanguínea de Lewis y el fenotipo secretor de las mujeres. Estas características, a su vez, guardan una estrecha relación con la expresión de los genes responsables de la síntesis de las enzimas fucosiltransferasa 2 y fucosiltransferasa 3 (FUT2 y FUT3). Esto se debe a que el gen FUT2 codifica para la enzima fucosiltransferasa 2, la cual tiene la función de añadir la molécula de fucosa en enlaces α 1-2, tanto en los epítomos del grupo sanguíneo Lewis como en los HMOs (114). Las personas que presentan esta enzima son conocidas como secretoras y se ha observado que poseen niveles elevados de oligosacáridos fucosilados en α 1-2, tales como 2'-fucosillactosa (2'FL) y lacto-N-fucopentosa 1 (LNFP1), en comparación con aquellas que no son secretoras (168). FUT3 codifica para la enzima fucosiltransferasa 3, la cual es responsable de agregar la molécula de fucosa en los enlaces α 1-3/4 a GlcNAc subterminal de las cadenas de tipo I, dando lugar a la formación del antígeno Lewis b en individuos secretores (Lewis a-b+) y del antígeno a en individuos no secretores (Lewis a-b-). Las personas que no expresan esta enzima son comúnmente denominadas Lewis negativo (Lewis a-b-) y presentan bajas concentraciones de oligosacáridos de leche materna fucosilados en α 1-3/4 (173).

Por otro lado, es importante mencionar que la sialilación de los HMOs en enlaces α 2-3 o α 2-6, ya sea unida al Gal terminal o al GlcNAc interno, puede ser realizada por diversas sialiltransferasas. Todavía no se ha determinado con certeza si la pérdida de la actividad de estas enzimas podría eventualmente resultar en la

completa ausencia de HMOs sialilados. Se ha planteado la hipótesis de que las diferencias en los niveles de sialilación podrían estar relacionadas con posibles variaciones genéticas en las sialiltransferasas y otras enzimas y proteínas transportadoras (168).

Los HMOs son el tercer componente más abundante y constituyen aproximadamente el 20% del total de carbohidratos presentes en la LM (174,175). No obstante, es importante destacar que la información cualitativa solamente está accesible para un grupo selecto de 30 HMOs, los cuales representan aproximadamente el 90% del total de HMOs en cuestión (176). Es fundamental destacar que, a pesar de que el proceso de síntesis de HMO sigue en líneas generales un patrón básico común, se presentan variaciones sustanciales en la composición de HMO tanto entre individuos como dentro de un mismo individuo, principalmente debido a las variaciones genéticas presentes en los genes FUT2 y FUT3. Varias mujeres de distintas regiones geográficas sintetizan una variedad de subconjuntos de oligosacáridos, y es importante destacar que la cantidad total y la proporción relativa de HMOs experimentan variaciones significativas a lo largo del periodo de lactancia. El pico máximo de la concentración de oligosacáridos de la leche humana se ha identificado en el calostro, con un promedio que oscila entre 9 y 22 g/L. Esta concentración disminuye ligeramente en la leche de transición que se encuentra en un rango de 8 a 19 g/L y continúa su descenso de manera progresiva durante los meses subsiguientes, llegando a un nivel de 4 a 6 g/L al cumplir los 6 meses de edad (177–182). Existe un reporte que indica que un litro de leche materna madura puede contener entre 10 – 15 g de HMOs, lo cual representa una

concentración entre 100 y 1000 veces mayor que la cantidad de estos compuestos en la leche bovina (168). La 2'-FL es el HMO más abundante presente en el calostro y la leche madura, con concentraciones que varían entre 0.76 y 4.78 mg/mL en calostro y leche madura. En segundo lugar encontramos la 3-Fucosilactosa (3-FL) con concentraciones de 0.3-0.58 mg/mL en leche materna (181,183,184). 6'-Sialilactosa (6'-SL), Disialilacto-N-tetrosa (DSLNT) y 3'-Sialilactosa (3'-SL) son los HMOs más abundantes en términos de sialilación. Por otro lado, Lacto-N-tetrosa (LNT) y Lacto-N-neotetrosa (LNnT) destacan como los más abundantes dentro del conjunto de los HMOs con núcleo neutral (172). Respecto a otros HMOs como Difucosilactosa (DFL) y 3'-SL, existe una notable discrepancia en cuanto a las variaciones de sus concentraciones durante el período de lactancia, tal como se ha observado en diversos estudios científicos (100, 145, 147, 153–156). Sin embargo, en términos generales, se ha observado que 2'-FL, Lacto-N-difucohexosa (LNDFH-I), LNFP-I, Lacto-N-fucopentosa II (LNFP-II), LNT, 3-FL, 6'-SL, DSLNT, LNnT, DFL, Fucosildisialilacto-N-hexosa (FD-LNH), Lacto-N-fucopentosa III (LNFP-III), 3'-SL, Sialilacto-N-neotetrosa c (LST c) y Trifucosilacto-N-hexosa (TF-LNH) parecen ser las estructuras más abundantes en la composición de la leche materna (172). En relación con el estado secretor, se ha podido observar que la cantidad total de oligosacáridos fue significativamente mayor en individuos secretores en comparación con aquellos no secretores. Entre los oligosacáridos más predominantes en los secretores se encuentran 2'-FL, LNFP-I y LNT, mientras que LNFP II se encontró en mayor proporción en los individuos no secretores (185).

Los procedimientos más comúnmente empleados para la determinación cuantitativa de los HMOS se fundamentan en el uso de la cromatografía líquida (LC, por sus siglas en inglés) llevando a cabo modificaciones químicas para la retención y detección de dichos HMOS ya que estos no presentan fluoróforos o cromóforos (186). Esta técnica analítica puede integrarse con otros sistemas como un espectrómetro de masas (MS, por sus siglas en inglés) con la finalidad de potenciar la sensibilidad (187). Además, es factible incorporar la cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC) y el carbono grafitico poroso (PGC) como fase estacionaria de columna (184,188–191). Otras técnicas analíticas utilizadas son la electroforesis capilar (CE), la cromatografía de gases (GC), la cromatografía de intercambio aniónico de alta eficiencia acoplada con detección electroquímica pulsada y la cromatografía líquida de interacción hidrofílica (HILIC) (192–195). Cada procedimiento experimental requiere de protocolos específicos detallados para la correcta preparación de la muestra y la adecuada ejecución del análisis correspondiente. Los insumos y equipamiento necesarios para llevar a cabo este tipo de proyectos suelen tener un costo elevado, lo cual puede representar un desafío para muchas organizaciones. En muchos casos, además, se requiere el acoplamiento y la integración de diversas plataformas tecnológicas para lograr una implementación exitosa. La sensibilidad y especificidad de los métodos utilizados pueden variar significativamente, lo cual contribuye a la diversidad de los patrones de HMOs que se han reportado en diferentes estudios científicos. Esto puede llegar a representar un desafío significativo al momento de interpretar la cantidad y diversidad de HMOS presentes en la leche materna, así como su potencial función biológica y beneficios para el desarrollo infantil.

Se ha establecido que gran parte de los HMOs son metabolizados por el microbioma intestinal del lactante, o bien son excretados intactos a través de las heces (196); en tanto que aproximadamente un 1% logra acceder al torrente sanguíneo y es secretado intacto a través de la orina (197). La asociación de los HMOs con la salud de los lactantes sigue siendo objeto de investigación y es de gran interés científico, ya que su complejidad y sus posibles implicaciones no son completamente comprendidas, sugiriendo que su influencia podría extenderse a otros sistemas y no limitarse únicamente al tracto gastrointestinal (168). En estudios realizados en los últimos años se ha observado que los HMOs podrían ser clasificados como prebióticos debido a su capacidad para favorecer el desarrollo de microorganismos beneficiosos para la salud del niño (198,199). En estudios realizados *in vitro*, se ha observado que el consumo de este producto promueve el crecimiento de cepas beneficiosas como *Bifidobacteria* (200) y cepas de *Staphylococcus* como *S. aureus* y *S. epidermidis* (199). Además, estos HMOs podrían funcionar como punto de anclaje para ciertos patógenos que muestran afinidad a oligosacáridos presentes en la superficie intestinal del niño; de este modo, se impediría que estos microorganismos puedan desencadenar enfermedades (97). Los HMOs podrían modificar el perfil de expresión de los sitios de unión de patógenos, lo que podría resultar en una disminución de las enfermedades infecciosas. Por otro lado, se ha observado que los HMOs disminuyen la adhesión y activación de leucocitos en modelos *in vitro* y *ex vivo* (201). Además, se ha señalado que los HMOs podrían tener la capacidad de influir en la apoptosis, la proliferación y la diferenciación de las células epiteliales intestinales (202), así como afectar a las células del sistema inmunológico. Altas concentraciones del HMO 2'-FL se han asociado a reducción

de incidencia de diarreas (203), una significativa disminución del riesgo de infección por *Campylobacter jejuni* (204) y se considera un potencial factor de protección ante ciertos genotipos de rotavirus (205) y NoV (206). Se ha observado que GII.10, GI.1 y GII.17 tienen la capacidad de unirse a los HMOs (206). Además, los niños cuyas muestras de leche materna presentaban concentraciones más reducidas de HMOs α 1,2-fucosilados mostraban mayor probabilidad de desarrollar infecciones por *Campylobacter*, calicivirus y episodios de diarrea de intensidad moderada a grave en contraste con aquellos cuyas muestras de leche materna contenía niveles más elevados de HMOs α 1,2-fucosilados (203).

Agentes patógenos asociados a gastroenteritis

Cada año, se registran alrededor de 200 millones de casos de enfermedades diarreicas a nivel global, las cuales contribuyen a la mortalidad de 1.9 millones de muertes de niños menores de 5 años en países en vías de desarrollo (207). NoV GI y GII, Rotavirus A (RVA), Adenovirus humano (HAdV), Astrovirus (HAstV) y Sapovirus (SaV), *E. coli*, *Campylobacter* spp. y *Shigella* spp. son los principales patógenos asociados a enfermedades diarreicas (52,208).

Un estudio realizado en Perú, con niños enrolados en los distritos de Chorrillos, Villa El Salvador, Villa Maria del Triunfo y San Juan de Miraflores, encontró que la prevalencia de NoV era del 17.4%, siendo más frecuente en el grupo de niños comprendidos entre los 12 y 24 meses de edad (209). El genotipo GII, identificado en un 92 % de las muestras positivas para NoV, fue notablemente más prevalente en comparación con el genotipo GI, el cual estuvo presente en tan solo un 8 % (209).

En un estudio de cohorte de nacimiento, llevado a cabo en Las Pampas, San Juan de Miraflores, de 291 niños seguidos hasta los dos años de edad, se encontró que 38 % de los niños experimentó al menos 1 episodio de diarrea asociado a NoV al año de edad, mientras que este porcentaje se elevó al 71% a la edad de 2 años (56). Adicionalmente, es importante destacar que, de las muestras positivas para NoV, se identificaron los genogrupos GII en un 75.8 % de los casos, el genogrupo GI en un 23.1% y una combinación GI/GII en un 1.1%.

Rotavirus (RV) es considerado el principal agente patógeno responsable de provocar gastroenteritis aguda más frecuente en población infantil, especialmente en niños menores de 5 años (210). Si bien, la prevalencia de infecciones ha disminuido tras la implementación de programas de vacunación, sigue manteniéndose elevada en infantes (211). En el 2016, se estima que fue responsable de un total de 128 500 muertes a nivel mundial (212). En un estudio epidemiológico realizado en Perú, se observó fracciones atribuibles de RV alcanzaron un valor de 8.9 (IC 95%: 6.8 – 9.7) en niños menores de 5 años, incluso posterior a la implementación de la vacunación contra este patógeno (213).

HAdV puede atacar diferentes sistemas del organismo a nivel respiratorio, hepático, renal y gastrointestinal (214). Los genotipos 40 y 41 se han asociado a 1- 20 % de casos de diarrea en niños alrededor del mundo (215–217), aunque también se ha reportado la presencia de HadV-B, HadV-C, HadV-D y HadV-G en heces de niños con gastroenteritis aguda (215,217,218).

SaV es un virus que puede provocar gastroenteritis aguda tanto en animales como en seres humanos. Los síntomas asociados a esta infección son similares a los ocasionados por el NoV, incluyendo vómitos, diarrea, malestar estomacal y fiebre (219). Es responsable de entre 1.3 y 8.0% de los brotes de gastroenteritis (220–222). Suele afectar a menores de 5 años de edad (223) con una prevalencia que supera el 90% en aquellos con edades comprendidas entre los 20 y los 24 meses (224).

E. coli enterotoxigénica (ETEC) fue responsable de provocar aproximadamente 100 millones de casos de diarrea y ocasionar 60 mil fallecimientos en el año 2015 (225,226). Una vez que colonizado el epitelio intestinal mediante adhesinas, las bacterias liberan enterotoxinas termolábiles (LT) y/o termoestables (ST) (227), que desencadena la aparición de diarrea y la consiguiente pérdida de electrolitos y agua, al incrementar la síntesis de nucleótidos cíclicos (228). En el estudio llevado a cabo en los distritos de Chorrillos, Villa El Salvador, Villa Maria del Triunfo y San Juan de Miraflores, se logró identificar ETEC en 5.4 % de las muestras heces de niños con diarrea, mientras que en las muestras control se encontró en un 4.3 % (229).

Las especies de *Campylobacter* suelen ser la causa de diarrea complicada o persistente en niños menores de un año que requieren hospitalización (230). En países en vías de desarrollo, *Campylobacter* se encontró en hasta 32 % de los casos de diarrea en niños menores de 5 años atendidos en establecimientos de salud; mientras que en Perú, se observó 13.3 % en niños menores de 12 años (230). *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* causan cerca del 90 % de infecciones humanas (231).

Shigella es responsable de más de 80 millones de caso de diarrea con sangre y 700 000 muertes por año a nivel mundial (232). Puede producir diarrea persistente, deterioro nutricional o incluso la muerte en niños, presentándose con mayor incidencia entre 1 y 4 años (233,234). Su detección en los casos de diarrea en niños menores de 5 años atendidos en establecimientos de salud se ha reportado en 8 – 13 % en países en vías de desarrollo (37,235).

Coinfecciones por enteropatógenos

Anteriormente, se consideraba que un solo agente patógeno era el responsable de los episodios de gastroenteritis y se le vinculaba con los síntomas clínicos (236,237); no obstante, gracias a los avances tecnológicos, se ha descubierto que múltiples agentes pueden coexistir en el mismo huésped, en periodos similares y desencadenar un proceso de coinfección; aunque la comprensión de la interacción entre los agentes coinfectantes y su impacto en los síntomas o gravedad de la enfermedad aún es limitada (238). El porcentaje de coinfecciones que se ha determinado en múltiples estudios varía considerablemente, oscilando entre un 5 % y un 76.7 % (83), lo cual complica la tarea de identificar con precisión cuál es el patógeno asociado a la sintomatología (239). En un estudio llevado a cabo en una comunidad suburbana de Lima, se pudo observar que la presencia de coinfección con más de un patógenos se presentó en 206/788 muestras (26.1 %). siendo significativamente más altos en muestras positivas para NoV que negativas (53% [146 de 275] frente al 11.6% [60 de 513]; $P < 0.001$) (52). Además, los agentes coinfectantes más comunes fueron *E. coli* diarreogénica (45%), *Campylobacter* spp. (12%), *Giardia lamblia* (9%) y *Shigella* spp. (3%); los mismos que fueron más

prevalentes en muestras de diarrea con porcentajes del 31.0%, 10.5%, 6.5% y 6.2%, respectivamente. En lo que respecta a la severidad de los síntomas, se observó que los episodios de diarrea con coinfecciones de NoV junto con patógenos bacterianos presentaron un mayor número de casos y una severidad más pronunciada en comparación con los episodios en los que solo se detectó la presencia de NoV (52). Gran cantidad de la literatura disponible hasta la fecha que se centra en analizar la relación en el consumo de LM y el riesgo de infecciones está principalmente basada en datos recopilados en poblaciones europeas y africanas. La asociación entre los HMOs y los HBGAs con la infección por NoV y otros patógenos gastrointestinales aún no ha sido completamente esclarecida en países latinoamericanos en vías de desarrollo dado que la composición de la LM puede experimentar variaciones en función del nivel socioeconómico, la herencia genética, el historial inmunológico y el estado nutricional de la madre (141–143). Entendiendo que la interacción patógeno-hospedero puede verse afectada por variaciones genómica en el hospedero que son particulares para los grupos étnicos; que NoV y otros patógenos tienen la capacidad de unirse a glicanos altamente polimórficos como los HMOs y HBGAs (240–243); que se observa una prevalencia elevada de coinfecciones entéricas en poblaciones de bajos y medianos ingresos y que la existe dificultad para atribuir un episodio infeccioso en un patógeno en particular, el análisis del presente estudio proporcionará información importante para comprender el rol de los HMOs en la infección por NoV y otros patógenos al caracterizarlos en una población peruana.

El objetivo de esta investigación es evaluar si las concentraciones de HMOs en la leche materna están asociadas a la presencia de diarrea causada por NoV durante los primeros seis meses de vida. Aunque la presencia de NoV se detecta en muestras de heces, esto no implica necesariamente un cuadro de gastroenteritis, ya que existen diversos factores protectores frente a la infección, entre ellos los HMOs. Se ha reportado que estas moléculas tienen la capacidad de unirse a NoV y neutralizar su adhesión a los HBGAs del epitelio intestinal, evitando así que el virus ingrese a las células para causar infección. Aunque no se conoce bien el patrón de anclaje NoV-HMO. Para abordar esto, se analizaron dos grupos: NoV+/D+, donde NoV se asocia con diarrea, indicando gastroenteritis activa; y NoV+/D-, donde NoV está presente sin causar diarrea. Este análisis exploratorio busca aportar evidencia sobre el posible papel protector de la concentración de los HMOs en la prevención de cuadros de gastroenteritis causados NoV.

1.9.2.2 Hipótesis:

Las concentraciones de HMOs en leche materna están asociadas a la presencia de diarrea por NoV durante los primeros seis meses de vida.

1.10. 2.3. Objetivo de la Investigación:

Evaluar si las concentraciones de HMOs en leche materna están asociadas a la presencia de diarrea por NoV durante los primeros seis meses de vida.

1.11. 2.4. Materiales y Métodos

2.4.1 Diseño

La presente investigación es un análisis transversal tipo caso-control de muestras recolectadas en el estudio primario.

2.4.2 Población y Diseño muestral

2.4.2.1 Población

- 1) Población del estudio de la investigación 2: Niños que provienen del estudio primario.

2.4.2.2. Criterios de selección

a. Criterios de inclusión

- Madres que dieron lactancia materna exclusiva antes de la primera infección de NoV del niño.

b. Criterios de exclusión

- Niños sin evaluación completa de muestras de heces.
- Niños que no hubieran cumplido al menos 6 meses de seguimiento.

2.4.3. Muestreo

i. Tipo de muestreo

Para el presente estudio, se analizó las muestras de leche materna colectadas durante el estudio primario. Las muestras se almacenaron a -80° hasta su procesamiento mediante la prueba de ELISA para la determinación de concentraciones de HMOs. La selección de las muestras a procesar se realizó considerando estrictamente los criterios de inclusión y exclusión.

2.4.4. Procedimiento del estudio.

La información detallada sobre la recolección de datos, que abarca tanto los cuestionarios empleados como la obtención y el procesamiento de muestras biológicas, ha sido detalladamente elaborada en la sección 1.4.4.2 del documento.

Muestras biológicas

a. Procesamiento de muestras biológicas

1. Cuantificación de HMOs

Las muestras de leche materna fueron enviadas a la Universidad de California, San Diego, en los Estados Unidos, con el propósito de cuantificar los HMOs mediante la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para ello, se empleó una columna amida-80 (15 cm de longitud, 2 mm de diámetro interno, 3 µm de tamaño de partícula) y un sistema de amortiguación basado en formiato de amonio-acetonitrilo (50 mmol/L). La separación se realizó a una temperatura de 25°C, y se realizó un monitoreo mediante un detector de fluorescencia con una excitación a 360 nm y una emisión a 425 nm (147).

2. Identificación de patógenos entéricos.

La metodología referente a la identificación de NoV y ETEC, ha sido desarrollada en la sección 1.4.4.2.

a. Detección de *Campylobacter*

Se realizó PCR usando las regiones conservadas del gen *IpxA* específicos para *C. jejuni* en un mix de volumen final de 25 µl que contenía 10 pmol/µl de primer forward y 10 pmol/µl de primer reverse, 200 µM de cada dNTPs, 1X de buffer de reacción sin MgCl₂, 2 mM de MgCl₂ (Qiagen, Valencia, California) y 1.25 unidades de Taq ADN polimerasa. Se añadieron 20 ng de ADN genómico.

El protocolo de ciclamiento fue 94 °C por 1 min, 50 °C por 1 min y 72 °C por 1 min, con un tiempo de extensión final de 5 min, para un total de 35 ciclos. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 3%, teñidos con bromuro de etidio, visualizados bajo luz UV (244).

b. Detección de parásitos

La detección parasitológica se realizó mediante microscopía utilizando objetivos de 10X y 40X para identificar las diferentes formas parasitarias como quistes, trofozoítos y huevos.

2.4.5. Variables de estudio

Variable dependiente 1:

Concentración de HMOs en leche materna: La concentración de HMOs fue determinada por HPLC.

Tipo de variable: numérica, continua, de razón.

Variable independiente:

Diarrea por NoV: Esta es una variable que clasifica en dos grupos las muestras de leche materna tomadas durante el estudio primario, basándose en la combinación de dos observaciones derivadas de los análisis de heces de sus respectivos hijos: la presencia de infecciones por NoV y la presencia de episodios de diarrea.

- a. NoV+/D+: El niño presentó infección por NoV y episodio de diarrea dentro de los 7 días anteriores o posteriores a la colección de leche materna.
- b. NoV+/D-: El niño presentó infección por NoV dentro de los 7 días anteriores o posteriores a la colección de leche materna, pero no presentó diarrea en el mismo periodo.

Otras variables exploratorias

- **Coinfección por enteropatógenos:** La detección de al menos dos patógenos (NoV GI, NoV GII, SaV, RoV, HAdV, *Campylobacter*, *Shigella*, ETEC o parásitos) en las muestras de heces mediante PCR

o microscopía según sea el caso. Se categorizó en “presencia de coinfección” y “ausencia de coinfección”.

- Tipo de variable: cualitativa, dicotómica, nominal.

2.4.6. Procesamiento y análisis estadístico.

Para la evaluación de diferencias en las concentraciones entre los grupos, se empleó la prueba de Mann-Whitney, una prueba no paramétrica idónea para la interpretación de datos en muestras pequeñas y con distribución que no cumple los supuestos de normalidad. Se consideró un nivel significancia de 0.05.

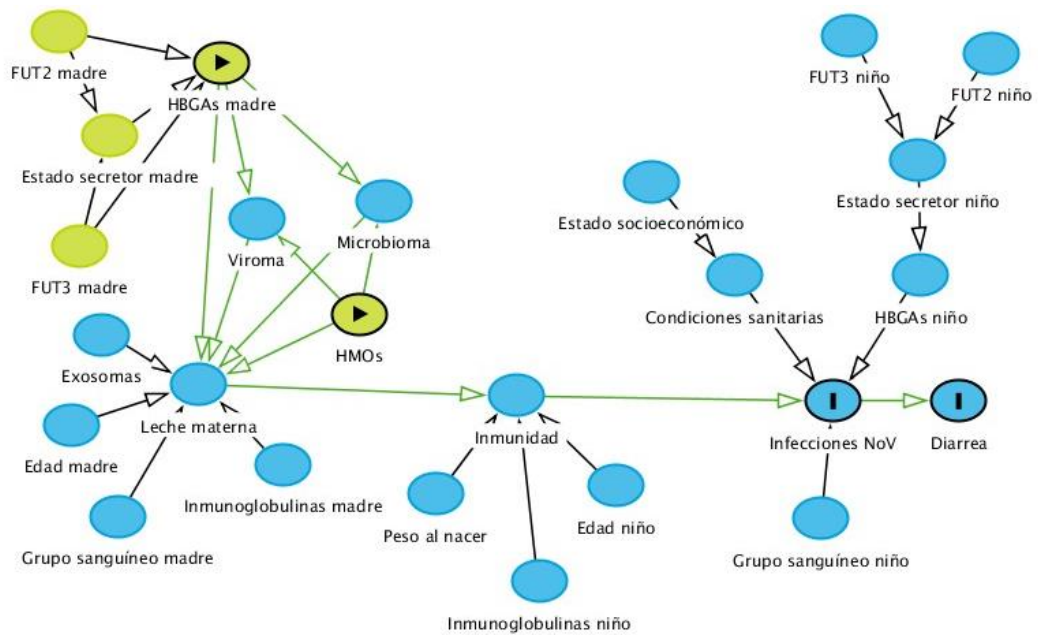


Figura 3. DAG Gráfico acíclico dirigido (DAG) de la asociación de la HMOs con la presencia de infecciones por NoV en el que se observa las variables de confusión.

2.4.7. Potencia estadística

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en el presente análisis, considerando que luego de la clasificación de las muestras de leche se obtuvo 6 muestras en el grupo NV+/D+ y 16 en el grupo NV-/D+ y que la proporción del HMO más abundante fue de 0.24 y 0.45, respectivamente, se obtuvo un poder estadístico de 7 %.

```
. power twomeans 0.24 0.45, n1(6) n2(16) alpha(0.05)
```

```
Estimated power for a two-sample means test
t test assuming sd1 = sd2 = sd
H0: m2 = m1 versus Ha: m2 != m1
```

```
Study parameters:
```

```
alpha = 0.0500
N = 22
N1 = 6
N2 = 16
N2/N1 = 2.6667
delta = 0.2100
m1 = 0.2400
m2 = 0.4500
sd = 1.0000
```

```
Estimated power:
```

```
power = 0.0702
```

1.12. 2.5. Resultados

1. Concentración de HMOs asociado a presencia de diarrea por NoV

De acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión, se seleccionó un total de 154 muestras de leche materna, de las cuales 6 fueron incluidas en el grupo NoV positivo con diarrea (NoV+/D+) y 16 en grupo NoV positivo sin diarrea (NoV+/D). Las características de los niños en los grupos fueron similares entre los grupos, lo que sugiere que las diferencias observadas en los resultados del análisis estadístico no fueron influenciadas por factores de confusión relacionados con estas variables (Anexo 4). Se analizaron 19 HMOS con la prueba de Mann-Whitney no encontrándose diferencias estadísticamente significativas (Tabla 3).

Tabla 3. Concentración de HMOs por grupo asignado.

HMO	NoV+/D+ (6) mediana±RIQ	NoV+/D- (16) mediana±RIQ	p
2'-FL	24.16±29.77	45.69±36.47	0.115
3'-FL	6.33±22.81	4.58±6.16	0.971
LNNT	1.43±3.89	1.65±0.90	0.856
3'-SL	3.69±0.98	4.13±4.23	0.802
DFLAC	3.38±2.68	3.60±1.94	0.693
6'-SL	2.91±2.75	3.36±3.01	0.914
LNT	8.77±4.98	4.66±3.05	0.115
LNFP1	9.74±12.03	7.46±14.50	0.971
LNFP2	9.65±3.02	8.32±5.00	0.261
LNFP3	0.59±0.33	0.51±0.36	0.858
LSTB	0.63±0.45	0.42±0.37	0.329
LSTC	0.75±0.37	0.78±0.87	0.590
DFLNT	1.86±5.88	4.01±4.48	0.494
LNH	0.43±0.08	0.58±0.52	0.329
DSLNT	1.61±2.88	1.29±1.01	0.329
FLNH	0.40±0.49	0.53±0.65	0.858
DFLNH	0.49±0.09	0.41±1.40	0.802
FDSLNH	1.35±0.59	1.40±1.38	0.971
DSLNH	0.28±0.25	0.39±0.72	0.231

2. Análisis exploratorio – concentración de HMOs asociada a la presencia de diarrea en niños con infección NoV negativa

Debido a que no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de HMOs en los grupos con y sin diarrea en niños infectados por NoV, se exploraron los grupos NoV negativo con diarrea (NoV-/D+) y NoV negativo sin diarrea (NoV-/D-). Este análisis identifica si las concentraciones de HMOs en leche materna varían según la presencia de diarrea en niños sin infección por NoV, lo que ayuda a identificar posibles diferencias en la interacción entre los HMOs y otros patógenos o factores que contribuyen a la diarrea. De los 19 HMOs analizados con la prueba Mann-Whitney, se identificaron diferencias estadísticamente significativas en 6'-SL, LNFP-I, DFLNT y FLNH (Tabla 4). LA

Figuras 4a, 4b y 4d muestran la distribución de las concentraciones de 6'-SL, LNFP-I y FLNH en niños sin infección por NoV, diferenciados por la presencia de diarrea. En todos los casos, el grupo sin diarrea presenta una mayor variabilidad en las concentraciones de estos HMOs, con algunos valores que superan el 30% en el caso de 6'-SL y 25 % en LNFP-I. Sin embargo, las medianas de las concentraciones son mayores en el grupo con diarrea (5.56 ± 6.67 , 11.57 ± 10.73 , 0.83 ± 0.86) en comparación al grupo sin diarrea (3.11 ± 3.90 , 5.54 ± 7.09 , 0.46 ± 0.74) para 6'-SL, LNFP-I y FLNH, respectivamente. Caso contrario, en la figura 4c, el grupo con diarrea agrupa la mayoría de las observaciones de concentración de DFLNT cerca de 0%, con pocos valores que superan el 5% (mediana de 1.22 ± 0.92). En el grupo sin diarrea, la distribución es más amplia, con varios puntos que tienen valores más altos, sobre todo entre 0% y 5%, pero también se ven algunos valores más altos cerca del 15% y hasta el 20% (mediana de 1.69 ± 5.63). Este estudio indica que los niveles de DFLNT suelen ser menores en niños con diarrea que en niños sin diarrea.

Tabla 4. Concentración de HMOs por grupo asignado.

HMO	NoV-/D+ (25) mediana $\pm$ RIQ	NoV-/D- (107) mediana $\pm$ RIQ	<i>p</i>
2'-FL	20.86 $\pm$ 18.85	27.31 $\pm$ 30.27	0.116
3'-FL	18.58 $\pm$ 32.19	9.29 $\pm$ 31.16	0.054
LNNT	0.81 $\pm$ 0.68	1.15 $\pm$ 1.31	0.086
3'-SL	3.65 $\pm$ 2.85	4.96 $\pm$ 3.25	0.060
DFLAC	3.31 $\pm$ 0.97	3.05 $\pm$ 1.68	0.556
6'-SL	5.56 $\pm$ 6.67	3.11 $\pm$ 3.90	0.001
LNT	6.09 $\pm$ 4.10	5.25 $\pm$ 4.78	0.514
LNFP1	11.57 $\pm$ 10.73	5.54 $\pm$ 7.09	0.035
LNFP2	9.44 $\pm$ 4.54	10.71 $\pm$ 5.18	0.247
LNFP3	0.31 $\pm$ 0.21	0.33 $\pm$ 0.36	0.552
LSTB	0.35 $\pm$ 0.28	0.38 $\pm$ 0.38	0.460
LSTC	1.09 $\pm$ 1.25	0.95 $\pm$ 1.00	0.084
DFLNT	1.22 $\pm$ 0.92	1.69 $\pm$ 5.63	0.014
LNH	0.64 $\pm$ 0.54	0.52 $\pm$ 0.60	0.144
DSLNT	0.91 $\pm$ 0.47	1.04 $\pm$ 1.28	0.343
FLNH	0.83 $\pm$ 0.86	0.46 $\pm$ 0.74	0.002

DFLNH	0.82±1.05	0.40±0.55	0.061
FDSLNH	1.12±1.16	1.20±1.28	0.449
DSLNH	0.43±0.41	0.34±0.50	0.326

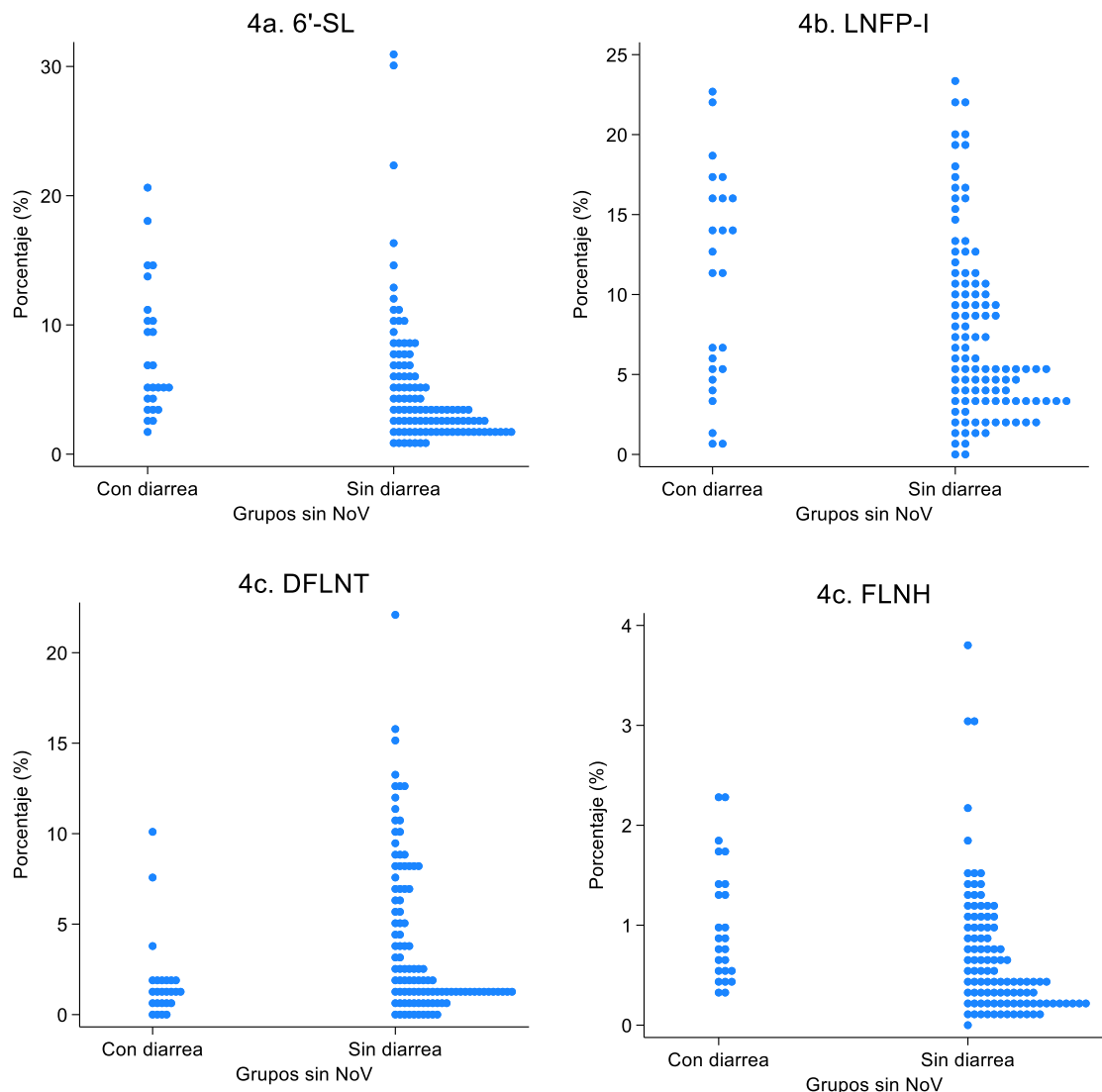


Figura 4. Comparación de las concentraciones de HMOs con diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con y sin diarrea en niños con infección NoV negativa.

3. Análisis exploratorio de infecciones por otros patógenos y coinfecciones

Debido a que se encontró 3 HMOs con concentraciones más altas en el grupo con diarrea sin la presencia de NoV, se exploró la posible presencia de otro patógenos en este grupo NV-/D+. Se detectaron *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)

en 7 de muestras, SaV en una muestra y RoV-HAdV en otra muestra (datos no mostrados). Respecto a la presencia de coinfecciones, de las 154 muestras de heces analizadas, se identificaron seis casos de coinfección: cuatro correspondieron a NoV-ETEC, uno a RoV-HAdV y uno a NoV junto con un parásito.

Tabla 5. Coinfecciones e infecciones por otros patógenos				
Otros patógenos	NoV+/D+ (6)	NoV+/D- (16)	NoV-/D+ (25)	NoV-/D- (107)
ETEC	1	3	7	-
SaV	-	-	1	-
RoV-HAdV	-	-	1	-
Parásito	1	-	-	-

1.13. 2.6. Discusión.

Al analizar 19 HMOs utilizando la prueba de Mann-Whitney, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos NoV+/D+ y NoV+/D- lo que podría indicar que, en este análisis preliminar, los HMOs no están asociados de manera significativa con la presencia de diarrea en niños con infección por NoV, o que factores adicionales podrían estar influyendo en la variabilidad de los resultados. Es importante señalar que el número de muestras en cada grupo es relativamente pequeño, lo que limita la capacidad para detectar diferencias significativas por lo que sería necesario realizar estudios adicionales con mayor número de muestras. Aunque no era parte del objetivo de este estudio, al no encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de HMOs en los grupos con y sin diarrea en niños infectados por NoV, se realizó un análisis exploratorio entre los grupos de niños sin infección por NoV. Se observó que las concentraciones de 6'-SL, LNFP-I y FLNH tenían mayor variabilidad en el grupo sin diarrea, aunque las medianas fueron menores al grupo

con diarrea. Estudios previos indican que 6'-SL puede influir en la infectividad de virus como RoV, al inhibir la unión del virus a las células, especialmente en cepas dependientes de ácido siálico (249). Otras investigaciones indican que la cápside de NoV reconoce LNFP-I polivalente y monovalente pudiendo impedir la unión de la cápside de NoV a los receptores de la superficie celular previniendo infección (245). LNFP-I bloquea la unión de los virus VLP de GI.4 a los receptores HBGA. También, mayores concentraciones de este HMO se han asociado a abundancia de *Bifidobacterium*, particularmente *B. longum*, el cual forma parte de la microbiota intestinal (246). Esto sugiere que las concentraciones elevadas de LNFP-I en el grupo con diarrea podrían estar actuando como un mecanismo de defensa para evitar la unión de patógenos al epitelio intestinal, aunque también podría reflejar un aumento en la respuesta inmunológica en presencia de diarrea (247). Estos compuestos podrían estar relacionados con otros factores de disbiosis o vulnerabilidad del intestino que facilitan la aparición de diarrea en ausencia de NoV. Esto podría deberse a que estos HMOs no interfieren directamente con el NoV, pero podrían estar involucrados en la regulación de la microbiota intestinal u otros mecanismos inmunomoduladores que impactan la susceptibilidad a la diarrea. Según la literatura existente, determinados HMOs pueden tener un impacto en la composición de la microbiota y propiciar el desarrollo de bacterias beneficiosas, lo cual podría justificar sus efectos indirectos en la protección contra infecciones (248). LNFP-I y FLNH tienen fucosa en su estructura y estudios previos han señalado que la fucosa es crucial en el reconocimiento del dominio VP1 de las cepas GII de NoV (39,125). Se ha reportado que altos niveles de oligosacáridos fucosilados en leche humana con una menor incidencia de diarrea

por calicivirus en lactantes (203). El hecho de que en el grupo NV-/D+ se encontrara patógenos como ETEC, SaV y RoV-HAdV, podría sugerir otras infecciones virales y bacterianas podrían estar desempeñando un papel importante en la diarrea de los niños. Las concentraciones de DFLNT son predominantemente altas en el grupo sin diarrea y esto podría deberse a una mayor defensa intestinal o a una regulación más eficiente de la respuesta inmune frente a infecciones.

Es importante subrayar que, a pesar de que se detectaron correlaciones entre los niveles de HMOs específicos y la presencia de NoV o diarrea, no es factible postular una relación causal. La heterogeneidad en la composición de los HMOs puede ser afectada tanto por factores genéticos de las madres como por el proceso de lactancia y el ambiente circundante. En investigaciones futuras, resultaría relevante investigar la correlación longitudinal entre los microorganismos específicos y la prevalencia de infecciones gastrointestinales en niños, incluyendo un examen de la incidencia de la diversidad microbiota intestinal y su función en la salud gastrointestinal.

1.14. 2.7. Conclusiones.

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de HMOs entre los grupos NoV+/D+ y NoV+/D-, lo que sugiere que los HMOs no están asociados de manera directa con la presencia de diarrea en niños infectados por NoV. Sin embargo, debido al tamaño limitado de la muestra, se recomienda realizar estudios con mayor cantidad de muestras para obtener resultados más robustos. En el análisis exploratorio entre los grupos sin infección por NoV, se

observó que 6'-SL, LNFP-I y FLNH presentaban medianas de concentración mayores lo que podría ser indicativo de que cumplen un rol en la defensa contra NoV, pero no de otros patógenos como los detectados (ETEC, SaV y RoV-HAdV); sin embargo, no queda claro qué otros factores podrían estar influyendo en la presencia de diarrea.

IV. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudio utilizó las muestras previamente recolectadas durante el estudio primario, por consiguiente, no fue necesario establecer contacto directo con individuos de la cohorte ni obtener un consentimiento informado. El estudio primario cuenta con la aprobación por parte del Comité de Ética e Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (CIE-UPCH) con el número de registro SIDISI 65178, en el cual se contempla el uso de las muestras recolectadas para futuros análisis y estudios adicionales con fines de investigación. Las muestras biológicas se mantuvieron debidamente codificadas con el fin de preservar la confidencialidad y proteger la privacidad de los individuos participantes en la investigación. En el momento de la divulgación de los hallazgos obtenidos en el estudio, se omitió cualquier dato que pueda llevar a la identificación de los sujetos involucrados en el mismo.

Una vez obtenida la aprobación por parte del CIE-UPCH, se dio inicio a la ejecución y puesta en marcha del mencionado proyecto. Durante el desarrollo de la investigación, se garantizó de manera estricta el cumplimiento de las directrices establecidas en la Declaración de Helsinki, así como la adopción de las recomendaciones emitidas del CIE-UPCH.

V. LIMITACIONES

Este estudio exhibe ciertas limitaciones, tales como el tamaño pequeño de niños no secretor, lo que podría haber restringido la capacidad estadística de algunas comparaciones. Adicionalmente, a pesar de que se controlaron múltiples variables a través de un análisis multivariado, no se lograron ajustes para abarcar todas las posibles fuentes de confusión, tales como factores socioeconómicos o acceso a servicios de salud, que pueden incidir en la incidencia de infecciones. En investigaciones subsiguientes, se aconseja expandir la muestra y contemplar una evaluación exhaustiva de otros factores ambientales y genéticos que puedan alterar la correlación entre la lactancia materna y la susceptibilidad a infecciones virales.

A pesar de que la investigación abarcó una muestra representativa de lactantes, el examen de subconjuntos de HMOs específicos en relación con la infección por NoV y la presencia de diarrea puede restringir la extrapolación de los resultados a otras poblaciones. Adicionalmente, la naturaleza observacional de la investigación obstaculiza la determinación de relaciones causales definitivas entre los niveles de HMOs y la incidencia de NoV o diarrea. Las variaciones significativas en los HMOs en la leche materna pueden ser atribuibles a factores genéticos y ambientales, factores que pueden tener un impacto en los resultados obtenidos. La ausencia de control sobre estas variaciones individuales constituye una restricción en la exactitud de los descubrimientos.

VI. RECOMENDACIONES GENERALES

Para concluir, esta investigación enfatiza la función esencial de la lactancia materna exclusiva en la salvaguarda contra infecciones gastrointestinales en lactantes. Los hallazgos subrayan la necesidad de fomentar políticas de salud pública dirigidas a prolongar la lactancia materna exclusiva y examinar el rol del estado secretor en poblaciones de alto riesgo. Esta estrategia podría contribuir a una disminución considerable en la incidencia de enfermedades diarreicas durante la infancia. Se aconseja llevar a cabo investigaciones longitudinales con un seguimiento más exhaustivo para examinar la manera en que los perfiles de HMOs en la leche materna inciden en la salud gastrointestinal infantil a lo largo del tiempo. Esto implica evaluar su influencia en la microbiota y su función en la inmunidad a largo plazo.

VII. CONCLUSIONES GENERALES

En conclusión, esta investigación destaca la relevancia de la lactancia materna exclusiva durante los primeros seis meses de vida como un elemento protector relevante frente a infecciones por norovirus siendo que cada día adicional de lactancia exclusiva redujo el riesgo de infección en un 36 % (HR: 0.64; IC 95 %: 0.42–0.98; $p=0.041$).

Aunque no se encontró asociación significativa entre la concentración de HBGAs en saliva y el riesgo de infección por NoV, esto resalta que otros componentes bioactivos en la leche materna, como HMOs e IgA específicas, podrían jugar un rol más relevante en la protección contra infecciones.

Los resultados del presente estudio sugieren una ausencia de asociación significativa entre la concentración de oligosacáridos de la leche materna (HMOs) y la presencia de diarrea en niños infectados con NoV durante los primeros seis meses de vida; sin embargo, se debe resaltar el número pequeño de muestras analizadas en cada grupo, por lo que sería recomendable llevar a cabo el estudio a mayor escala. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de fomentar la lactancia materna como una estrategia esencial para la mejora de la salud infantil y la disminución de la morbilidad vinculada a infecciones gastrointestinales.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Majowicz SE, Hall G, Scallan E, Adak GK, Gauci C, Jones TF, et al. A common, symptom-based case definition for gastroenteritis. *Epidemiol Infect.* julio de 2008;136(7):886-94.
2. Graves NS. Acute Gastroenteritis. *Prim Care.* septiembre de 2013;40(3):727-41.
3. Khanna R, Lakhanpaul M, Burman-Roy S, Murphy MS. Diarrhoea and vomiting caused by gastroenteritis in children under 5 years: summary of NICE guidance. *BMJ.* 22 de abril de 2009;338:b1350.
4. Troeger C, Forouzanfar M, Rao PC, Khalil I, Brown A, Reiner RC, et al. 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.* 1 de septiembre de 2017;17(9):909-48.

5. K P, Sl B, E A, Nk B, Nr B, E B, et al. Diagnosis of neglected tropical diseases among patients with persistent digestive disorders (diarrhoea and/or abdominal pain ≥ 14 days): Pierrea multi-country, prospective, non-experimental case-control study. BMC Infect Dis [Internet]. 18 de agosto de 2015 [citado 18 de septiembre de 2024];15. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26282537/>
6. MINSALUD. Análisis de la situación de salud (ASIS). Colombia, 2016 [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>
7. Walker CLF, Rudan I, Liu L, Nair H, Theodoratou E, Bhutta ZA, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. The Lancet. 20 de abril de 2013;381(9875):1405-16.
8. Alam NH, Ashraf H. Treatment of Infectious Diarrhea in Children. Pediatr Drugs. 1 de marzo de 2003;5(3):151-65.
9. Enfermedades diarreicas [Internet]. [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
10. Guarino A, Albano F, Working Group on Intestinal Infections of the Italian Society of Paediatric Gastroenterology and Hepatology. Guidelines for the approach to outpatient children with acute diarrhoea. Acta Paediatr Oslo Nor 1992. octubre de 2001;90(10):1087-95.
11. Liu L, Johnson HL, Cousens S, Perin J, Scott S, Lawn JE, et al. Global, regional, and national causes of child mortality: an updated systematic analysis for

2010 with time trends since 2000. *Lancet Lond Engl*. 9 de junio de 2012;379(9832):2151-61.

12. Bakir H, Hadi M, Jurdi M. Towards a renewed public health regulatory and surveillance role in water, sanitation and hygiene (Editorial). *East Mediterr Health J Rev Sante Mediterr Orient Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit*. 30 de octubre de 2017;23(8):525-6.

13. Hodge J, Chang HH, Boisson S, Collin SM, Peletz R, Clasen T. Assessing the Association between Thermotolerant Coliforms in Drinking Water and Diarrhea: An Analysis of Individual-Level Data from Multiple Studies. *Environ Health Perspect*. octubre de 2016;124(10):1560-7.

14. Lanata CF, Fischer-Walker CL, Olascoaga AC, Torres CX, Aryee MJ, Black RE, et al. Global Causes of Diarrheal Disease Mortality in Children <5 Years of Age: A Systematic Review. *PLOS ONE*. 4 de septiembre de 2013;8(9):e72788.

15. Parashar UD, Hummelman EG, Bresee JS, Miller MA, Glass RI. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis*. mayo de 2003;9(5):565-72.

16. Lee HY, Van Huy N, Choi S. Determinants of early childhood morbidity and proper treatment responses in Vietnam: results from the Multiple Indicator Cluster Surveys, 2000-2011. *Glob Health Action*. 2016;9:29304.

17. Colombara DV, Hernández B, McNellan CR, Desai SS, Gagnier MC, Haakenstad A, et al. Diarrhea Prevalence, Care, and Risk Factors among Poor Children Under 5 Years of Age in Mesoamerica. *Am J Trop Med Hyg*. 2 de marzo de 2016;94(3):544-52.

18. Wasiq AN, Saw YM, Jawid S, Kariya T, Yamamoto E, Hamajima N. Determinants of diarrhea in children under the age of five in Afghanistan: a secondary analysis of the Afghanistan Demographic and Health Survey 2015. *Nagoya J Med Sci.* agosto de 2020;82(3):545-56.
19. Bin Mohanna MA, Al-Sonboli N. Prevalence of Diarrhoea and Related Risk Factors among Children Aged Under 5 years in Sana'a, Yemen. *Hamdan Med J.* marzo de 2018;11(1):29.
20. Ahmed SF, Farheen A, Muzaffar A, Mattoo GM. Prevalence of Diarrhoeal Disease, its Seasonal and Age Variation in under- fives in Kashmir, India. *Int J Health Sci.* julio de 2008;2(2):126-33.
21. Demissie GD, Yeshaw Y, Aleminew W, Akalu Y. Diarrhea and associated factors among under five children in sub-Saharan Africa: Evidence from demographic and health surveys of 34 sub-Saharan countries. *PLOS ONE.* 20 de septiembre de 2021;16(9):e0257522.
22. Persistent diarrhoea in children in developing countries: memorandum from a WHO meeting. *Bull World Health Organ.* 1988;66(6):709-17.
23. INEI. Perú: Encuesta Demográfica y de Salud Familiar 2021—Nacional y Departamental. Lima: Instituto Nacional de Estadística e Informática. [Internet]. 2022. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1838/pdf/Libro.pdf
24. Reiner RC, Wiens KE, Deshpande A, Baumann MM, Lindstedt PA, Blacker BF, et al. Mapping geographical inequalities in childhood diarrhoeal morbidity and mortality in low-income and middle-income countries, 2000–17: analysis for the

Global Burden of Disease Study 2017. The Lancet. 6 de junio de 2020;395(10239):1779-801.

25. CDC. Sala Situacional - Enfermedades diarreicas agudas [Internet]. 2024. Disponible en:

<https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/sala/2024/SE05/edas.pdf>

26. Escobar AL, Coimbra CE, Welch JR, Horta BL, Santos RV, Cardoso AM. Diarrhea and health inequity among Indigenous children in Brazil: results from the First National Survey of Indigenous People's Health and Nutrition. BMC Public Health. 27 de febrero de 2015;15(1):191.

27. Hussein H. Prevalence of Diarrhea and assoicated risk factors in children under five years of age in Northern Nigeria : A secondary data analysis of Nigeria and Demographic and Health Survey 2013. En 2017 [citado 19 de octubre de 2023]. Disponible en: [https://www.semanticscholar.org/paper/Prevalence-of-Diarrhea-and-assoicated-risk-factors-](https://www.semanticscholar.org/paper/Prevalence-of-Diarrhea-and-assoicated-risk-factors-Hussein/4ba389920e9e707cc11f6791aa835d52fdfa8b97)

[Hussein/4ba389920e9e707cc11f6791aa835d52fdfa8b97](https://www.semanticscholar.org/paper/Prevalence-of-Diarrhea-and-assoicated-risk-factors-Hussein/4ba389920e9e707cc11f6791aa835d52fdfa8b97)

28. Moon J, Choi JW, Oh J, Kim K. Risk factors of diarrhea of children under five in Malawi: based on Malawi Demographic and Health Survey 2015–2016. J Glob Health Sci. 2019;1(2):e45.

29. Fetensa G, Fekadu G, Tekle F, Markos J, Etafa W, Hasen T. Diarrhea and associated factors among under-5 children in Ethiopia: A secondary data analysis. SAGE Open Med. 31 de julio de 2020;8:2050312120944201.

30. Hernández-Vásquez A, Vargas-Fernández R, Turpo Cayo EY. Determinants, inequalities, and spatial patterns of diarrhea in the Peruvian under-

five population: findings from nationally representative survey data. *Front Public Health*. 27 de junio de 2023;11:1170670.

31. Katona P, Katona-Apte J. The interaction between nutrition and infection. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 15 de mayo de 2008;46(10):1582-8.

32. Mata LJ, Urrutia JJ, Albertazzi C, Pellecer O, Arellano E. Influence of recurrent infections on nutrition and growth of children in Guatemala. *Am J Clin Nutr*. noviembre de 1972;25(11):1267-75.

33. Niehaus MD, Moore SR, Patrick PD, Derr LL, Lorntz B, Lima AA, et al. Early childhood diarrhea is associated with diminished cognitive function 4 to 7 years later in children in a northeast Brazilian shantytown. *Am J Trop Med Hyg*. mayo de 2002;66(5):590-3.

34. Taylor-Robinson DC, Maayan N, Soares-Weiser K, Donegan S, Garner P. Deworming drugs for soil-transmitted intestinal worms in children: effects on nutritional indicators, haemoglobin, and school performance. *Cochrane Database Syst Rev*. 23 de julio de 2015;2015(7):CD000371.

35. McCormick BJJ, Lang DR. Diarrheal disease and enteric infections in LMIC communities: how big is the problem? *Trop Dis Travel Med Vaccines*. 19 de julio de 2016;2(1):11.

36. Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfield LE, de Onis M, Ezzati M, et al. Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Lancet Lond Engl*. 19 de enero de 2008;371(9608):243-60.

37. Guerrant RL, Oriá RB, Moore SR, Oriá MOB, Lima AAM. Malnutrition as an enteric infectious disease with long-term effects on child development. *Nutr Rev*. septiembre de 2008;66(9):487-505.

38. Marionneau S, Ruvoën N, Le Moullac-Vaidye B, Clement M, Cailleau-Thomas A, Ruiz-Palacois G, et al. Norwalk virus binds to histo-blood group antigens present on gastroduodenal epithelial cells of secretor individuals. *Gastroenterology*. junio de 2002;122(7):1967-77.
39. Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. *Nat Med*. mayo de 2003;9(5):548-53.
40. Hutson AM, Atmar RL, Graham DY, Estes MK. Norwalk virus infection and disease is associated with ABO histo-blood group type. *J Infect Dis*. 1 de mayo de 2002;185(9):1335-7.
41. Clausen H, Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. *Vox Sang*. 1989;56(1):1-20.
42. Tan M, Jin M, Xie H, Duan Z, Jiang X, Fang Z. Outbreak studies of a GII-3 and a GII-4 norovirus revealed an association between HBGA phenotypes and viral infection. *J Med Virol*. julio de 2008;80(7):1296-301.
43. Carlsson B, Kindberg E, Buesa J, Rydell GE, Lidón MF, Montava R, et al. The G428A Nonsense Mutation in FUT2 Provides Strong but Not Absolute Protection against Symptomatic GII.4 Norovirus Infection. *PLOS ONE*. 18 de mayo de 2009;4(5):e5593.
44. Van Trang N, Vu HT, Le NT, Huang P, Jiang X, Anh DD. Association between norovirus and rotavirus infection and histo-blood group antigen types in Vietnamese children. *J Clin Microbiol*. mayo de 2014;52(5):1366-74.

45. Bányai K, Estes MK, Martella V, Parashar UD. Viral gastroenteritis. *Lancet Lond Engl*. 14 de julio de 2018;392(10142):175-86.
46. Operario DJ, Platts-Mills JA, Nadan S, Page N, Seheri M, Mphahlele J, et al. Etiology of Severe Acute Watery Diarrhea in Children in the Global Rotavirus Surveillance Network Using Quantitative Polymerase Chain Reaction. *J Infect Dis*. 15 de julio de 2017;216(2):220-7.
47. Das J, Duggan C, Bhutta Z. Persistent Diarrhea in Children in Developing Countries. En 2016.
48. Kolling G, Wu M, Guerrant RL. Enteric pathogens through life stages. *Front Cell Infect Microbiol*. 2012;2:114.
49. O’Ryan M, Lucero Y, O’Ryan-Soriano MA, Ashkenazi S. An update on management of severe acute infectious gastroenteritis in children. *Expert Rev Anti Infect Ther*. junio de 2010;8(6):671-82.
50. Chhabra P, Payne DC, Szilagyi PG, Edwards KM, Staat MA, Shirley SH, et al. Etiology of Viral Gastroenteritis in Children <5 Years of Age in the United States, 2008–2009. *J Infect Dis*. 1 de septiembre de 2013;208(5):790-800.
51. Payne DC, Vinjé J, Szilagyi PG, Edwards KM, Staat MA, Weinberg GA, et al. Norovirus and Medically Attended Gastroenteritis in U.S. Children. *N Engl J Med*. 21 de marzo de 2013;368(12):1121-30.
52. Zambruni M, Luna G, Silva M, Bausch DG, Rivera FP, Velapatino G, et al. High Prevalence and Increased Severity of Norovirus Mixed Infections Among Children 12–24 Months of Age Living in the Suburban Areas of Lima, Peru. *J Pediatr Infect Dis Soc*. 1 de septiembre de 2016;5(3):337-41.

53. O’Ryan M, Riera-Montes M, Lopman B. Norovirus in Latin America: Systematic Review and Meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J.* febrero de 2017;36(2):127-34.
54. Lima AAM, Oliveira DB, Quetz JS, Havt A, Prata MMG, Lima IFN, et al. Etiology and severity of diarrheal diseases in infants at the semiarid region of Brazil: A case-control study. *PLoS Negl Trop Dis.* 8 de febrero de 2019;13(2):e0007154.
55. Farfán-García AE, Imdad A, Zhang C, Arias-Guerrero MY, Sánchez-Álvarez NT, Iqbal J, et al. Etiology of acute gastroenteritis among children less than 5 years of age in Bucaramanga, Colombia: A case-control study. *PLoS Negl Trop Dis.* 30 de junio de 2020;14(6):e0008375.
56. Saito M, Goel-Apaza S, Espetia S, Velasquez D, Cabrera L, Loli S, et al. Multiple norovirus infections in a birth cohort in a Peruvian Periurban community. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* febrero de 2014;58(4):483-91.
57. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, et al. 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. *The Lancet.* 20 de julio de 2013;382(9888):209-22.
58. Platts-Mills JA, Babji S, Bodhidatta L, Gratz J, Haque R, Havt A, et al. Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries (MAL-ED): a multisite birth cohort study. *Lancet Glob Health.* septiembre de 2015;3(9):e564-75.

59. Paniagua GL, Monroy E, García-González O, Alonso J, Negrete E, Vaca S. Two or more enteropathogens are associated with diarrhoea in Mexican children. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 28 de diciembre de 2007;6(1):17.
60. Zhang SX, Yang CL, Gu WP, Ai L, Serrano E, Yang P, et al. Case-control study of diarrheal disease etiology in individuals over 5 years in southwest China. *Gut Pathog.* 16 de noviembre de 2016;8(1):58.
61. Kapikian AZ, Wyatt RG, Dolin R, Thornhill TS, Kalica AR, Chanock RM. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J Virol.* noviembre de 1972;10(5):1075-81.
62. Kapikian AZ. The discovery of the 27-nm Norwalk virus: an historic perspective. *J Infect Dis.* mayo de 2000;181 Suppl 2(Suppl 2):S295-302.
63. Jiang X, Wang M, Wang K, Estes MK. Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology.* julio de 1993;195(1):51-61.
64. Lambden PR, Caul EO, Ashley CR, Clarke IN. Sequence and genome organization of a human small round-structured (Norwalk-like) virus. *Science.* 22 de enero de 1993;259(5094):516-9.
65. Thorne LG, Goodfellow IG. Norovirus gene expression and replication. *J Gen Virol.* febrero de 2014;95(Pt 2):278-91.
66. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. *Clin Microbiol Rev.* 1 de enero de 2015;28(1):134-64.
67. Tseng CY, Chen CH, Su SC, Wu FT, Chen CC, Hsieh GY, et al. Characteristics of norovirus gastroenteritis outbreaks in a psychiatric centre. *Epidemiol Infect.* febrero de 2011;139(2):275-85.

68. Lee RM, Lessler J, Lee RA, Rudolph KE, Reich NG, Perl TM, et al. Incubation periods of viral gastroenteritis: a systematic review. *BMC Infect Dis*. 25 de septiembre de 2013;13:446.
69. Hl K, J C, S B, Aj H, Nj C, H L, et al. Likely transmission of norovirus on an airplane, October 2008. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am* [Internet]. 5 de enero de 2010 [citado 1 de octubre de 2024];50(9). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20353365/>
70. Wikswo ME, Cortes J, Hall AJ, Vaughan G, Howard C, Gregoricus N, et al. Disease transmission and passenger behaviors during a high morbidity Norovirus outbreak on a cruise ship, January 2009. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. mayo de 2011;52(9):1116-22.
71. Matthews JE, Dickey BW, Miller RD, Felzer JR, Dawson BP, Lee AS, et al. The epidemiology of published norovirus outbreaks: a review of risk factors associated with attack rate and genogroup. *Epidemiol Infect*. julio de 2012;140(7):1161-72.
72. Vega E, Barclay L, Gregoricus N, Shirley SH, Lee D, Vinjé J. Genotypic and epidemiologic trends of norovirus outbreaks in the United States, 2009 to 2013. *J Clin Microbiol*. enero de 2014;52(1):147-55.
73. Ahmed SM, Hall AJ, Robinson AE, Verhoef L, Premkumar P, Parashar UD, et al. Global prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. agosto de 2014;14(8):725-30.
74. Pires SM, Fischer-Walker CL, Lanata CF, Devleeschauwer B, Hall AJ, Kirk MD, et al. Aetiology-Specific Estimates of the Global and Regional Incidence

and Mortality of Diarrhoeal Diseases Commonly Transmitted through Food. PLOS ONE. 3 de diciembre de 2015;10(12):e0142927.

75. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinjé J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. Emerg Infect Dis. agosto de 2008;14(8):1224-31.

76. da Silva Poló T, Peiró JR, Mendes LCN, Ludwig LF, de Oliveira-Filho EF, Bucardo F, et al. Human norovirus infection in Latin America. J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol. mayo de 2016;78:111-9.

77. Nguyen GT, Phan K, Teng I, Pu J, Watanabe T. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of norovirus in cases of gastroenteritis in developing countries. Medicine (Baltimore). octubre de 2017;96(40):e8139.

78. Harris JP, Edmunds WJ, Pebody R, Brown DW, Lopman BA. Deaths from Norovirus among the Elderly, England and Wales. Emerg Infect Dis. octubre de 2008;14(10):1546-52.

79. Hall AJ, Curns AT, McDonald LC, Parashar UD, Lopman BA. The roles of Clostridium difficile and norovirus among gastroenteritis-associated deaths in the United States, 1999-2007. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. julio de 2012;55(2):216-23.

80. van Asten L, Siebenga J, van den Wijngaard C, Verheij R, van Vliet H, Kretzschmar M, et al. Unspecified gastroenteritis illness and deaths in the elderly associated with norovirus epidemics. Epidemiol Camb Mass. mayo de 2011;22(3):336-43.

81. van Asten L, van den Wijngaard C, van Pelt W, van de Kasstele J, Meijer A, van der Hoek W, et al. Mortality attributable to 9 common infections: significant

- effect of influenza A, respiratory syncytial virus, influenza B, norovirus, and parainfluenza in elderly persons. *J Infect Dis*. 1 de septiembre de 2012;206(5):628-39.
82. Platts-Mills JA, Liu J, Rogawski ET, Kabir F, Lertsethtakarn P, Sigua M, et al. Use of quantitative molecular diagnostic methods to assess the aetiology, burden, and clinical characteristics of diarrhoea in children in low-resource settings: a reanalysis of the MAL-ED cohort study. *Lancet Glob Health*. 1 de octubre de 2018;6(12):e1309-18.
83. Mans J. Norovirus Infections and Disease in Lower-Middle- and Low-Income Countries, 1997–2018. *Viruses*. abril de 2019;11(4):341.
84. Chantry CJ, Howard CR, Auinger P. Full breastfeeding duration and associated decrease in respiratory tract infection in US children. *Pediatrics*. febrero de 2006;117(2):425-32.
85. Ip S, Chung M, Raman G, Trikalinos TA, Lau J. A summary of the Agency for Healthcare Research and Quality's evidence report on breastfeeding in developed countries. *Breastfeed Med Off J Acad Breastfeed Med*. octubre de 2009;4 Suppl 1:S17-30.
86. Nishimura T, Suzue J, Kaji H. Breastfeeding reduces the severity of respiratory syncytial virus infection among young infants: a multi-center prospective study. *Pediatr Int Off J Jpn Pediatr Soc*. diciembre de 2009;51(6):812-6.
87. Quigley MA, Kelly YJ, Sacker A. Breastfeeding and hospitalization for diarrheal and respiratory infection in the United Kingdom Millennium Cohort Study. *Pediatrics*. abril de 2007;119(4):e837-842.

88. Section on Breastfeeding. Breastfeeding and the use of human milk. *Pediatrics*. marzo de 2012;129(3):e827-841.
89. Das UN. Breastfeeding prevents type 2 diabetes mellitus: but, how and why? *Am J Clin Nutr*. 1 de mayo de 2007;85(5):1436-7.
90. Horta BL, Loret de Mola C, Victora CG. Long-term consequences of breastfeeding on cholesterol, obesity, systolic blood pressure and type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. diciembre de 2015;104(467):30-7.
91. Owen CG, Martin RM, Whincup PH, Smith GD, Cook DG. Effect of infant feeding on the risk of obesity across the life course: a quantitative review of published evidence. *Pediatrics*. mayo de 2005;115(5):1367-77.
92. Rosenbauer J, Herzig P, Giani G. Early infant feeding and risk of type 1 diabetes mellitus-a nationwide population-based case-control study in pre-school children. *Diabetes Metab Res Rev*. abril de 2008;24(3):211-22.
93. Mueller NT, Bakacs E, Combellick J, Grigoryan Z, Dominguez-Bello MG. The infant microbiome development: mom matters. *Trends Mol Med*. febrero de 2015;21(2):109-17.
94. Hanson LA, Korotkova M, Lundin S, Håversen L, Silfverdal SA, Mattsby-Baltzer I, et al. The transfer of immunity from mother to child. *Ann N Y Acad Sci*. abril de 2003;987:199-206.
95. Bergenhenegouwen J van, Kraneveld AD, Rutten L, Kettelarij N, Garssen J, Vos AP. Extracellular Vesicles Modulate Host-Microbe Responses by Altering TLR2 Activity and Phagocytosis. *PLOS ONE*. 20 de febrero de 2014;9(2):e89121.

96. Zempleni J, Aguilar-Lozano A, Sadri M, Sukreet S, Manca S, Wu D, et al. Biological Activities of Extracellular Vesicles and Their Cargos from Bovine and Human Milk in Humans and Implications for Infants. *J Nutr.* 2017;147(1):3-10.
97. Ballard O, Morrow AL. Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatr Clin North Am.* febrero de 2013;60(1):49-74.
98. Indicators for assessing infant and young child feeding practices: part 1 definition [Internet]. [citado 21 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789241596664>
99. UNICEF. BREASTFEEDING. A Mother's Gift, for Every Child [Internet]. 2018. Disponible en: https://www.unicef.org/media/48046/file/UNICEF_Breastfeeding_A_Mothers_Gift_for_Every_Child.pdf
100. WHO. Breastfeeding [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://www.who.int/health-topics/breastfeeding#tab=tab_1
101. Hou L, Li X, Yan P, Li Y, Wu Y, Yang Q, et al. Impact of the Duration of Breastfeeding on the Intelligence of Children: A Systematic Review with Network Meta-Analysis. *Breastfeed Med.* septiembre de 2021;16(9):687-96.
102. Syeda B, Agho K, Wilson L, Maheshwari GK, Raza MQ. Relationship between breastfeeding duration and undernutrition conditions among children aged 0–3 Years in Pakistan. *Int J Pediatr Adolesc Med.* 1 de marzo de 2021;8(1):10-7.
103. Dalili H, Shariat M, Nayeri F, Emami Z, Sahebi R, Sahebi L. Duration of Breastfeeding and Maternal-Related Factors in Iran, Systematic Review and Meta-Analysis. *J Pediatr Nurs.* 1 de septiembre de 2020;54:e23-30.

104. Zong X, Wu H, Zhao M, Magnussen CG, Xi B. Global prevalence of WHO infant feeding practices in 57 LMICs in 2010-2018 and time trends since 2000 for 44 LMICs. *EClinicalMedicine*. julio de 2021;37:100971.
105. North K, Gao M, Allen G, Lee AC. Breastfeeding in a Global Context: Epidemiology, Impact, and Future Directions. *Clin Ther*. febrero de 2022;44(2):228-44.
106. Murray CJL, Aravkin AY, Zheng P, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi-Kangevari M, et al. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet*. 17 de octubre de 2020;396(10258):1223-49.
107. Bhattacharjee NV, Schaeffer LE, Hay SI, Local Burden of Disease Exclusive Breastfeeding Collaborators. Mapping inequalities in exclusive breastfeeding in low- and middle-income countries, 2000-2018. *Nat Hum Behav*. agosto de 2021;5(8):1027-45.
108. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú, Encuesta Demográfica y de Salud Familiar-ENDES 2020. [Internet]. 2021. Disponible en: https://proyectos.inei.gob.pe/endes/2020/INFORME_PRINCIPAL_2020/INFORME_PRINCIPAL_ENDES_2020.pdf
109. Hernández-Vásquez A, Vargas-Fernández R. Socioeconomic determinants and inequalities in exclusive breastfeeding among children in Peru. *Front Nutr* [Internet]. 2022 [citado 25 de octubre de 2023];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2022.1073838>
110. Vielot NA, François R, Huseynova E, González F, Reyes Y, Gutierrez L, et al. Association between breastfeeding, host genetic factors, and calicivirus

gastroenteritis in a Nicaraguan birth cohort. PLOS ONE. 14 de octubre de 2022;17(10):e0267689.

111. Marionneau S, Cailleau-Thomas A, Rocher J, Le Moullac-Vaidye B, Ruvoën N, Clément M, et al. ABH and Lewis histo-blood group antigens, a model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a changing world. *Biochimie*. 1 de julio de 2001;83(7):565-73.

112. Bansil R, Turner BS. The biology of mucus: Composition, synthesis and organization. *Adv Drug Deliv Rev*. 15 de enero de 2018;124:3-15.

113. Watkins WM. Blood-group substances. *Science*. 8 de abril de 1966;152(3719):172-81.

114. Kumazaki T, Yoshida A. Biochemical evidence that secretor gene, Se, is a structural gene encoding a specific fucosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. julio de 1984;81(13):4193-7.

115. Oriol R. Genetic control of the fucosylation of ABH precursor chains. Evidence for new epistatic interactions in different cells and tissues. *J Immunogenet*. octubre de 1990;17(4-5):235-45.

116. Le Pendu J, Cartron JP, Lemieux RU, Oriol R. The presence of at least two different H-blood-group-related beta-D-gal alpha-2-L-fucosyltransferases in human serum and the genetics of blood group H substances. *Am J Hum Genet*. julio de 1985;37(4):749-60.

117. Shirato H, Ogawa S, Ito H, Sato T, Kameyama A, Narimatsu H, et al. Noroviruses Distinguish between Type 1 and Type 2 Histo-Blood Group Antigens for Binding. *J Virol*. 11 de enero de 2008;82(21):10756-67.

118. Henry S, Oriol R, Samuelsson B. Lewis histo-blood group system and associated secretory phenotypes. *Vox Sang*. 1995;69(3):166-82.
119. Oriol R, Le Pendu J, Mollicone R. Genetics of ABO, H, Lewis, X and related antigens. *Vox Sang*. 1986;51(3):161-71.
120. Ferrer-Admetlla A, Sikora M, Laayouni H, Esteve A, Roubinet F, Blancher A, et al. A natural history of FUT2 polymorphism in humans. *Mol Biol Evol*. septiembre de 2009;26(9):1993-2003.
121. Kelly RJ, Rouquier S, Giorgi D, Lennon GG, Lowe JB. Sequence and expression of a candidate for the human Secretor blood group alpha(1,2)fucosyltransferase gene (FUT2). Homozygosity for an enzyme-inactivating nonsense mutation commonly correlates with the non-secretor phenotype. *J Biol Chem*. 3 de marzo de 1995;270(9):4640-9.
122. Le Pendu J, Lemieux RU, Lambert F, Dalix AM, Oriol R. Distribution of H type 1 and H type 2 antigenic determinants in human sera and saliva. *Am J Hum Genet*. mayo de 1982;34(3):402-15.
123. Menon VK, George S, Sarkar R, Giri S, Samuel P, Vivek R, et al. Norovirus Gastroenteritis in a Birth Cohort in Southern India. *PLoS ONE* [Internet]. 10 de junio de 2016 [citado 4 de junio de 2019];11(6). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4902233/>
124. Kindberg E, Åkerlind B, Johnsen C, Knudsen JD, Heltberg O, Larson G, et al. Host Genetic Resistance to Symptomatic Norovirus (GGII.4) Infections in Denmark. *J Clin Microbiol*. agosto de 2007;45(8):2720-2.
125. Lopman BA, Trivedi T, Vicuña Y, Costantini V, Collins N, Gregoricus N, et al. Norovirus Infection and Disease in an Ecuadorian Birth Cohort: Association

of Certain Norovirus Genotypes With Host FUT2 Secretor Status. *J Infect Dis.* 1 de junio de 2015;211(11):1813-21.

126. Labayo HKM, Pajuelo MJ, Tohma K, Ford-Siltz LA, Gilman RH, Cabrera L, et al. Norovirus-specific immunoglobulin A in breast milk for protection against norovirus-associated diarrhea among infants. *EClinicalMedicine.* 1 de octubre de 2020;27:100561.

127. Pajuelo MJ, Noazin S, Cabrera L, Toledo A, Velagic M, Arias L, et al. Epidemiology of enterotoxigenic *Escherichia coli* and impact on the growth of children in the first two years of life in Lima, Peru. *Front Public Health* [Internet]. 22 de marzo de 2024 [citado 5 de junio de 2024];12. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/public-health/articles/10.3389/fpubh.2024.1332319/full>

128. Marionneau S, Airaud F, Bovin NV, Le Pendu J, Ruvoën-Clouet N. Influence of the combined ABO, FUT2, and FUT3 polymorphism on susceptibility to Norwalk virus attachment. *J Infect Dis.* 15 de septiembre de 2005;192(6):1071-7.

129. Nordgren J, Nitiema LW, Ouermi D, Simpore J, Svensson L. Host genetic factors affect susceptibility to norovirus infections in Burkina Faso. *PloS One.* 2013;8(7):e69557.

130. Nordgren J, Sharma S, Bucardo F, Nasir W, Günaydin G, Ouermi D, et al. Both Lewis and Secretor Status Mediate Susceptibility to Rotavirus Infections in a Rotavirus Genotype-Dependent Manner. *Clin Infect Dis.* 1 de diciembre de 2014;59(11):1567-73.

131. Huang P, Xia M, Tan M, Zhong W, Wei C, Wang L, et al. Spike Protein VP8* of Human Rotavirus Recognizes Histo-Blood Group Antigens in a Type-Specific Manner. *J Virol.* mayo de 2012;86(9):4833-43.
132. Ettayebi K, Crawford SE, Murakami K, Broughman JR, Karandikar U, Tenge VR, et al. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science.* 23 de septiembre de 2016;353(6306):1387-93.
133. Colston JM, Francois R, Pisanic N, Peñataro Yori P, McCormick BJJ, Olortegui MP, et al. Effects of Child and Maternal Histo-Blood Group Antigen Status on Symptomatic and Asymptomatic Enteric Infections in Early Childhood. *J Infect Dis.* 5 de junio de 2019;220(1):151-62.
134. Huang P, Farkas T, Zhong W, Tan M, Thornton S, Morrow AL, et al. Norovirus and histo-blood group antigens: demonstration of a wide spectrum of strain specificities and classification of two major binding groups among multiple binding patterns. *J Virol.* junio de 2005;79(11):6714-22.
135. Ruiz-Palacios GM, Cervantes LE, Ramos P, Chavez-Munguia B, Newburg DS. *Campylobacter jejuni* binds intestinal H(O) antigen (Fuc alpha 1, 2Gal beta 1, 4GlcNAc), and fucosyloligosaccharides of human milk inhibit its binding and infection. *J Biol Chem.* 18 de abril de 2003;278(16):14112-20.
136. Chessa D, Winter MG, Jakomin M, Bäumlér AJ. *Salmonella enterica* serotype Typhimurium Std fimbriae bind terminal alpha(1,2)fucose residues in the cecal mucosa. *Mol Microbiol.* febrero de 2009;71(4):864-75.
137. Gary GW, Anderson LJ, Keswick BH, Johnson PC, DuPont HL, Stine SE, et al. Norwalk virus antigen and antibody response in an adult volunteer study. *J Clin Microbiol.* octubre de 1987;25(10):2001-3.

138. Parrino TA, Schreiber DS, Trier JS, Kapikian AZ, Blacklow NR. Clinical immunity in acute gastroenteritis caused by Norwalk agent. *N Engl J Med*. 14 de julio de 1977;297(2):86-9.
139. Kato K, Ishiwa A. The role of carbohydrates in infection strategies of enteric pathogens. *Trop Med Health*. marzo de 2015;43(1):41-52.
140. Nordgren J, Kindberg E, Lindgren PE, Matussek A, Svensson L. Norovirus Gastroenteritis Outbreak with a Secretor-independent Susceptibility Pattern, Sweden. *Emerg Infect Dis*. enero de 2010;16(1):81-7.
141. Bravi F, Wiens F, Decarli A, Dal Pont A, Agostoni C, Ferraroni M. Impact of maternal nutrition on breast-milk composition: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 1 de septiembre de 2016;104(3):646-62.
142. Le Doare K, Holder B, Bassett A, Pannaraj PS. Mother's Milk: A Purposeful Contribution to the Development of the Infant Microbiota and Immunity. *Front Immunol* [Internet]. 28 de febrero de 2018 [citado 23 de junio de 2018];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5863526/>
143. Thurl S, Munzert M, Henker J, Boehm G, Müller-Werner B, Jelinek J, et al. Variation of human milk oligosaccharides in relation to milk groups and lactational periods. *Br J Nutr*. noviembre de 2010;104(9):1261-71.
144. PERÚ - INEI:: Provincia de Lima: Resultados Definitivos de los Censos Nacionales 2017 [Internet]. [citado 22 de junio de 2020]. Disponible en: https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1583/
145. Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on

real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* abril de 2003;41(4):1548-57.

146. Toledo Cornejo AS. Determinación fenotípica de antígeno H en muestras de saliva de una cohorte de recién nacidos. 2019 [citado 15 de febrero de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/8418>

147. Lagström H, Rautava S, Ollila H, Kaljonen A, Turta O, Mäkelä J, et al. Associations between human milk oligosaccharides and growth in infancy and early childhood. *Am J Clin Nutr.* 1 de abril de 2020;111(4):769-78.

148. Toledo Cornejo AK. Asociación entre la mutación SNP G428A en el gen de la $\alpha(1,2)$ -fucosiltransferasa 2 y la tasa de infección por norovirus en una cohorte de recién nacidos peruanos. 2020 [citado 27 de junio de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/8502>

149. Chaves RG, Lamounier JA, César CC. Factors associated with duration of breastfeeding. *J Pediatr (Rio J).* junio de 2007;83:241-6.

150. Brown KH, Creed de Kanashiro H, del Aguila R, Lopez de Romana G, Black RE. Milk consumption and hydration status of exclusively breast-fed infants in a warm climate. *J Pediatr.* mayo de 1986;108(5 Pt 1):677-80.

151. [PDF] Exclusive breastfeeding reduces acute respiratory infection and diarrhea deaths among infants in Dhaka slums. | Semantic Scholar [Internet]. [citado 12 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Exclusive-breastfeeding-reduces-acute-respiratory-Arifeen-Black/6a4c691adbbd9f348802c116773af572c7a0db78>

152. Black RE. Optimal duration of exclusive breast feeding in low income countries. *BMJ.* 30 de noviembre de 2002;325(7375):1252-3.

153. Khadivzadeh T, Parsai S. Effect of exclusive breastfeeding and complementary feeding on infant growth and morbidity. *East Mediterr Health J Rev Sante Mediterr Orient Al-Majallah Al-Sihhiyah Li-Sharq Al-Mutawassit*. mayo de 2004;10(3):289-94.
154. Onayade AA, Abiona TC, Abayomi IO, Makanjuola ROA. The first six month growth and illness of exclusively and non-exclusively breast-fed infants in Nigeria. *East Afr Med J*. marzo de 2004;81(3):146-53.
155. McCormick BJ, Richard SA, Murray-Kolb LE, Kang G, Lima AA, Mduma E, et al. Full breastfeeding protection against common enteric bacteria and viruses: results from the MAL-ED cohort study. *Am J Clin Nutr*. 1 de marzo de 2022;115(3):759-69.
156. Chen D, Zhi Q, Zhou Y, Tao Y, Wu L, Lin H. Association between Dental Caries and BMI in Children: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Caries Res*. 20 de enero de 2018;52(3):230-45.
157. Reyes Y, González F, Gutiérrez L, Blandón P, Centeno E, Zepeda O, et al. Secretor Status Strongly Influences the Incidence of Symptomatic Norovirus Infection in a Genotype-Dependent Manner in a Nicaraguan Birth Cohort. *J Infect Dis*. 1 de enero de 2022;225(1):105-15.
158. Muthumuni D, Miliku K, Wade KH, Timpson NJ, Azad MB. Enhanced Protection Against Diarrhea Among Breastfed Infants of Nonsecretor Mothers. *Pediatr Infect Dis J*. marzo de 2021;40(3):260.
159. Bu W, Mamedova A, Tan M, Xia M, Jiang X, Hegde RS. Structural basis for the receptor binding specificity of Norwalk virus. *J Virol*. junio de 2008;82(11):5340-7.

160. Cao S, Lou Z, Tan M, Chen Y, Liu Y, Zhang Z, et al. Structural basis for the recognition of blood group trisaccharides by norovirus. *J Virol.* junio de 2007;81(11):5949-57.
161. Chen Y, Tan M, Xia M, Hao N, Zhang XC, Huang P, et al. Crystallography of a Lewis-Binding Norovirus, Elucidation of Strain-Specificity to the Polymorphic Human Histo-Blood Group Antigens. *PLOS Pathog.* 21 de julio de 2011;7(7):e1002152.
162. Huang P, Farkas T, Marionneau S, Zhong W, Ruvoën-Clouet N, Morrow AL, et al. Noroviruses bind to human ABO, Lewis, and secretor histo-blood group antigens: identification of 4 distinct strain-specific patterns. *J Infect Dis.* 1 de julio de 2003;188(1):19-31.
163. Lindesmith L, Moe C, Lependu J, Frelinger JA, Treanor J, Baric RS. Cellular and humoral immunity following Snow Mountain virus challenge. *J Virol.* marzo de 2005;79(5):2900-9.
164. Violato M, Taylor-Robinson D, Hungerford D, Gray A, O'Brien S, Iturriza-Gomara M. Family income and exposure to norovirus in childhood: Findings from the UK Millennium Cohort Study. *SSM - Popul Health.* 1 de agosto de 2019;8:100445.
165. DeWalt DA, Hink A. Health Literacy and Child Health Outcomes: A Systematic Review of the Literature. *Pediatrics.* 1 de noviembre de 2009;124(Supplement_3):S265-74.
166. Hyun S, Lee S, Ventura WR, McMenamin J. Knowledge, Awareness, and Prevention of Hepatitis B Virus Infection Among Korean American Parents. *J Immigr Minor Health.* 1 de agosto de 2018;20(4):943-50.

167. Andreas NJ, Kampmann B, Mehring Le-Doare K. Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Hum Dev.* 1 de noviembre de 2015;91(11):629-35.
168. Bode L. The functional biology of human milk oligosaccharides. *Early Hum Dev.* 1 de noviembre de 2015;91(11):619-22.
169. Urashima T, Hirabayashi J, Sato S, Kobata A. Human Milk Oligosaccharides as Essential Tools for Basic and Application Studies on Galectins. *Trends Glycosci Glycotechnol.* 2018;30(172):SE51-65.
170. Thum C, Wall CR, Weiss GA, Wang W, Szeto IMY, Day L. Changes in HMO Concentrations throughout Lactation: Influencing Factors, Health Effects and Opportunities. *Nutrients.* julio de 2021;13(7):2272.
171. Bode L, Jantscher-Krenn E. Structure-Function Relationships of Human Milk Oligosaccharides. *Adv Nutr.* 1 de mayo de 2012;3(3):383S-391S.
172. Soyuyılmaz B, Mikš MH, Röhrig CH, Matwiejuk M, Meszaros-Matwiejuk A, Vignæs LK. The Mean of Milk: A Review of Human Milk Oligosaccharide Concentrations throughout Lactation. *Nutrients.* agosto de 2021;13(8):2737.
173. Johnson PH, Watkins WM. Purification of the Lewis blood-group gene associated alpha-3/4-fucosyltransferase from human milk: an enzyme transferring fucose primarily to type 1 and lactose-based oligosaccharide chains. *Glycoconj J.* octubre de 1992;9(5):241-9.
174. Bode L, Raman AS, Murch SH, Rollins NC, Gordon JI. Understanding the mother-breastmilk-infant “triad”. *Science.* 6 de marzo de 2020;367(6482):1070-2.

175. Urashima T, Asakuma S, Leo F, Fukuda K, Messer M, Oftedal OT. The predominance of type I oligosaccharides is a feature specific to human breast milk. *Adv Nutr Bethesda Md*. 1 de mayo de 2012;3(3):473S-82S.
176. C K, S R, W B, N K, S S. Oligosaccharides in human milk: structural, functional, and metabolic aspects. *Annu Rev Nutr* [Internet]. 2000 [citado 3 de octubre de 2023];20. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10940350/>
177. Samuel TM, Binia A, de Castro CA, Thakkar SK, Billeaud C, Agosti M, et al. Impact of maternal characteristics on human milk oligosaccharide composition over the first 4 months of lactation in a cohort of healthy European mothers. *Sci Rep*. 13 de agosto de 2019;9(1):11767.
178. McJarrow P, Radwan H, Ma L, MacGibbon AKH, Hashim M, Hasan H, et al. Human Milk Oligosaccharide, Phospholipid, and Ganglioside Concentrations in Breast Milk from United Arab Emirates Mothers: Results from the MISC Cohort. *Nutrients*. 8 de octubre de 2019;11(10):2400.
179. Austin S, De Castro CA, Bénet T, Hou Y, Sun H, Thakkar SK, et al. Temporal Change of the Content of 10 Oligosaccharides in the Milk of Chinese Urban Mothers. *Nutrients*. 8 de junio de 2016;8(6):346.
180. Ma L, McJarrow P, Jan Mohamed HJB, Liu X, Welman A, Fong BY. Lactational changes in the human milk oligosaccharide concentration in Chinese and Malaysian mothers' milk. *Int Dairy J*. 1 de diciembre de 2018;87:1-10.
181. Thurl S, Munzert M, Boehm G, Matthews C, Stahl B. Systematic review of the concentrations of oligosaccharides in human milk. *Nutr Rev*. noviembre de 2017;75(11):920-33.

182. Spevacek AR, Smilowitz JT, Chin EL, Underwood MA, German JB, Slupsky CM. Infant Maturity at Birth Reveals Minor Differences in the Maternal Milk Metabolome in the First Month of Lactation. *J Nutr.* agosto de 2015;145(8):1698-708.
183. Austin S, Bénet T. Quantitative determination of non-lactose milk oligosaccharides. *Anal Chim Acta.* 20 de junio de 2018;1010:86-96.
184. Balogh R, Szarka S, Béni S. Determination and quantification of 2'-O-fucosyllactose and 3-O-fucosyllactose in human milk by GC-MS as O-trimethylsilyl-oxime derivatives. *J Pharm Biomed Anal.* 10 de noviembre de 2015;115:450-6.
185. Torres Roldan VD, Urtecho S M, Gupta J, Yonemitsu C, Cárcamo CP, Bode L, et al. Human milk oligosaccharides and their association with late-onset neonatal sepsis in Peruvian very-low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr.* julio de 2020;112(1):106-12.
186. Ruhaak LR, Lebrilla CB. Advances in Analysis of Human Milk Oligosaccharides. *Adv Nutr.* 1 de mayo de 2012;3(3):406S-414S.
187. Yan J, Ding J, Liang X. Chromatographic methods for the analysis of oligosaccharides in human milk. *Anal Methods.* 16 de febrero de 2017;9(7):1071-7.
188. Bao Y, Chen C, Newburg DS. Quantification of neutral human milk oligosaccharides by graphitic carbon high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Anal Biochem.* 1 de febrero de 2013;433(1):28-35.

189. Dong X, Zhou S, Mechref Y. LC-MS/MS analysis of permethylated free oligosaccharides and N-glycans derived from human, bovine, and goat milk samples. *Electrophoresis*. junio de 2016;37(11):1532-48.
190. Oursel S, Cholet S, Junot C, Fenaille F. Comparative analysis of native and permethylated human milk oligosaccharides by liquid chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 15 de diciembre de 2017;1071:49-57.
191. Tonon KM, Miranda A, Abrão ACFV, de Moraes MB, Moraes TB. Validation and application of a method for the simultaneous absolute quantification of 16 neutral and acidic human milk oligosaccharides by graphitized carbon liquid chromatography – electrospray ionization – mass spectrometry. *Food Chem*. 15 de febrero de 2019;274:691-7.
192. Galeotti F, Coppa GV, Zampini L, Maccari F, Galeazzi T, Padella L, et al. Capillary electrophoresis separation of human milk neutral and acidic oligosaccharides derivatized with 2-aminoacridone. *Electrophoresis*. marzo de 2014;35(6):811-8.
193. Mantovani V, Galeotti F, Maccari F, Volpi N. Recent advances in capillary electrophoresis separation of monosaccharides, oligosaccharides, and polysaccharides. *Electrophoresis*. enero de 2018;39(1):179-89.
194. Kunz C, Rudloff S, Hintelmann A, Pohlentz G, Egge H. High-pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection and molar response factors of human milk oligosaccharides. *J Chromatogr B Biomed Appl*. 25 de octubre de 1996;685(2):211-21.

195. Marrubini G, Appelblad P, Maietta M, Papetti A. Hydrophilic interaction chromatography in food matrices analysis: An updated review. *Food Chem.* 15 de agosto de 2018;257:53-66.
196. Albrecht S, Schols HA, van den Heuvel EGHM, Voragen AGJ, Gruppen H. CE-LIF-MS n profiling of oligosaccharides in human milk and feces of breast-fed babies. *Electrophoresis.* abril de 2010;31(7):1264-73.
197. Rudloff S, Pohlentz G, Borsch C, Lentze MJ, Kunz C. Urinary excretion of in vivo ¹³C-labelled milk oligosaccharides in breastfed infants. *Br J Nutr.* abril de 2012;107(7):957-63.
198. Aakko J, Kumar H, Rautava S, Wise A, Autran C, Bode L, et al. Human milk oligosaccharide categories define the microbiota composition in human colostrum. *Benef Microbes.* 24 de agosto de 2017;8(4):563-7.
199. Hunt KM, Preuss J, Nissan C, Davlin CA, Williams JE, Shafii B, et al. Human milk oligosaccharides promote the growth of staphylococci. *Appl Environ Microbiol.* julio de 2012;78(14):4763-70.
200. Rockova S, Nevoral J, Rada V, Marsik P, Sklenar J, Hinkova A, et al. Factors affecting the growth of bifidobacteria in human milk. *Int Dairy J.* 1 de julio de 2011;21(7):504-8.
201. Bode L. Human milk oligosaccharides: prebiotics and beyond. *Nutr Rev.* 1 de noviembre de 2009;67(suppl_2):S183-91.
202. Kuntz S, Rudloff S, Kunz C. Oligosaccharides from human milk influence growth-related characteristics of intestinally transformed and non-transformed intestinal cells. *Br J Nutr.* marzo de 2008;99(3):462-71.

203. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Altaye M, Jiang X, Guerrero ML, Meinen-Derr JK, et al. Human milk oligosaccharides are associated with protection against diarrhea in breast-fed infants. *J Pediatr.* septiembre de 2004;145(3):297-303.
204. Morrow AL, Ruiz-Palacios GM, Jiang X, Newburg DS. Human-milk glycans that inhibit pathogen binding protect breast-feeding infants against infectious diarrhea. *J Nutr.* mayo de 2005;135(5):1304-7.
205. Laucirica DR, Triantis V, Schoemaker R, Estes MK, Ramani S. Milk Oligosaccharides Inhibit Human Rotavirus Infectivity in MA104 Cells. *J Nutr.* septiembre de 2017;147(9):1709-14.
206. Koromyslova A, Tripathi S, Morozov V, Schroten H, Hansman GS. Human norovirus inhibition by a human milk oligosaccharide. *Virology.* 1 de agosto de 2017;508:81-9.
207. Farthing M, Salam MA, Lindberg G, Dite P, Khalif I, Salazar-Lindo E, et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol.* enero de 2013;47(1):12-20.
208. Corcoran MS, van Well GTJ, van Loo IHM. Diagnosis of viral gastroenteritis in children: interpretation of real-time PCR results and relation to clinical symptoms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* octubre de 2014;33(10):1663-73.
209. Rivera FP, Ochoa TJ, Ruiz J, Medina AM, Ecker L, Mercado E, et al. Norovirus prevalence in «pathogen negative» gastroenteritis in children from periurban areas in Lima, Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* diciembre de 2011;105(12):734-6.

210. Dong S, Huang D, Wang Z, Zhang G, Zhang F, Sai L. Clinical and molecular epidemiological characterization of rotavirus infections in children under five years old in Shandong province, China. *Arch Virol.* 1 de septiembre de 2021;166(9):2479-86.
211. Patton JT. Rotavirus Diversity and Evolution in the Post-Vaccine World. *Discov Med.* enero de 2012;13(68):85-97.
212. Troeger C, Khalil IA, Rao PC, Cao S, Blacker BF, Ahmed T, et al. Rotavirus Vaccination and the Global Burden of Rotavirus Diarrhea Among Children Younger Than 5 Years. *JAMA Pediatr.* 1 de octubre de 2018;172(10):958-65.
213. Ballard SB, Requena D, Mayta H, Sanchez GJ, Oyola-Lozada MG, Colquechagua Aliaga FD, et al. Enteropathogen Changes After Rotavirus Vaccine Scale-up. *Pediatrics.* 17 de diciembre de 2021;149(1):e2020049884.
214. Lynch JP, Kajon AE. Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Semin Respir Crit Care Med.* agosto de 2016;37(4):586-602.
215. Lu L, Jia R, Zhong H, Xu M, Su L, Cao L, et al. Molecular characterization and multiple infections of rotavirus, norovirus, sapovirus, astrovirus and adenovirus in outpatients with sporadic gastroenteritis in Shanghai, China, 2010-2011. *Arch Virol.* mayo de 2015;160(5):1229-38.
216. Ramani S, Kang G. Viruses causing childhood diarrhoea in the developing world. *Curr Opin Infect Dis.* octubre de 2009;22(5):477-82.
217. Primo D, Pacheco GT, Timenetsky M do CST, Luchs A. Surveillance and molecular characterization of human adenovirus in patients with acute

gastroenteritis in the era of rotavirus vaccine, Brazil, 2012-2017. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol.* diciembre de 2018;109:35-40.

218. Nandan S, Taylor MB, Groome MJ, Cohen C, Madhi SA, Page NA. Epidemiology of human astroviruses among children younger than 5 years: Prospective hospital-based sentinel surveillance in South Africa, 2009-2014. *J Med Virol.* febrero de 2019;91(2):225-34.

219. Oka T, Wang Q, Katayama K, Saif LJ. Comprehensive Review of Human Sapoviruses. *Clin Microbiol Rev.* enero de 2015;28(1):32-53.

220. Hedlund KO, Rubilar-Abreu E, Svensson L. Epidemiology of calicivirus infections in Sweden, 1994-1998. *J Infect Dis.* mayo de 2000;181 Suppl 2:S275-280.

221. Blanton LH, Adams SM, Beard RS, Wei G, Bulens SN, Widdowson MA, et al. Molecular and epidemiologic trends of caliciviruses associated with outbreaks of acute gastroenteritis in the United States, 2000-2004. *J Infect Dis.* 1 de febrero de 2006;193(3):413-21.

222. Svraka S, Vennema H, van der Veer B, Hedlund KO, Thorhagen M, Siebenga J, et al. Epidemiology and genotype analysis of emerging sapovirus-associated infections across Europe. *J Clin Microbiol.* junio de 2010;48(6):2191-8.

223. Rockx B, De Wit M, Vennema H, Vinjé J, De Bruin E, Van Duynhoven Y, et al. Natural history of human calicivirus infection: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 1 de agosto de 2002;35(3):246-53.

224. Farkas T, Deng X, Ruiz-Palacios G, Morrow A, Jiang X. Development of an Enzyme Immunoassay for Detection of Sapovirus-Specific Antibodies and Its

Application in a Study of Seroprevalence in Children. *J Clin Microbiol*. 1 de octubre de 2006;44(10):3674-9.

225. Anderson JD, Bagamian KH, Muhib F, Amaya MP, Laytner LA, Wierzbza T, et al. Burden of enterotoxigenic *Escherichia coli* and shigella non-fatal diarrhoeal infections in 79 low-income and lower middle-income countries: a modelling analysis. *Lancet Glob Health*. marzo de 2019;7(3):e321-30.

226. Bagamian KH, Anderson JD, Muhib F, Cumming O, Laytner LA, Wierzbza TF, et al. Heterogeneity in enterotoxigenic *Escherichia coli* and shigella infections in children under 5 years of age from 11 African countries: a subnational approach quantifying risk, mortality, morbidity, and stunting. *Lancet Glob Health*. enero de 2020;8(1):e101-12.

227. Qadri F, Saha A, Ahmed T, Al Tarique A, Begum YA, Svennerholm AM. Disease burden due to enterotoxigenic *Escherichia coli* in the first 2 years of life in an urban community in Bangladesh. *Infect Immun*. agosto de 2007;75(8):3961-8.

228. Zhang Y, Tan P, Zhao Y, Ma X. Enterotoxigenic *Escherichia coli*: intestinal pathogenesis mechanisms and colonization resistance by gut microbiota. *Gut Microbes*. 31 de diciembre de 2022;14(1):2055943.

229. Rivera FP, Ochoa TJ, Maves RC, Bernal M, Medina AM, Meza R, et al. Genotypic and Phenotypic Characterization of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Strains Isolated from Peruvian Children. *J Clin Microbiol*. septiembre de 2010;48(9):3198-203.

230. Perales D M, Camiña M, Quiñones C. Infección por *Campylobacter* y *Shigella* como causa de Diarrea Aguda Infecciosa en niños menores de dos años en

el Distrito de la Victoria, Lima-Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. octubre de 2002;19(4):186-92.

231. Newell DG, Fearnley C. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl Environ Microbiol*. agosto de 2003;69(8):4343-51.

232. Guidelines for the control of shigellosis, including epidemics due to *Shigella dysenteriae* type 1 [Internet]. [citado 22 de octubre de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9241592330>

233. Lanata CF, Black RE, Maúrtua D, Gil A, Gabilondo A, Yi A, et al. Etiologic agents in acute vs persistent diarrhea in children under three years of age in peri-urban Lima, Perú. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992 Suppl. septiembre de 1992;381:32-8.

234. Keusch GT, Bennish ML. Shigellosis: recent progress, persisting problems and research issues. *Pediatr Infect Dis J*. octubre de 1989;8(10):713-9.

235. Guerrant RL, Kirchhoff LV, Shields DS, Nations MK, Leslie J, de Sousa MA, et al. Prospective study of diarrheal illnesses in northeastern Brazil: patterns of disease, nutritional impact, etiologies, and risk factors. *J Infect Dis*. diciembre de 1983;148(6):986-97.

236. Zhang DL, Jin Y, Li DD, Cheng WX, Xu ZQ, Yu JM, et al. Prevalence of human parechovirus in Chinese children hospitalized for acute gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. octubre de 2011;17(10):1563-9.

237. Baumgarte S, de Souza Luna LK, Grywna K, Panning M, Drexler JF, Karsten C, et al. Prevalence, types, and RNA concentrations of human

parechoviruses, including a sixth parechovirus type, in stool samples from patients with acute enteritis. *J Clin Microbiol.* enero de 2008;46(1):242-8.

238. Makimaa H, Ingle H, Baldridge MT. Enteric Viral Co-Infections: Pathogenesis and Perspective. *Viruses.* agosto de 2020;12(8):904.

239. Vergadi E, Maraki S, Dardamani E, Ladomenou F, Galanakis E. Polymicrobial gastroenteritis in children. *Acta Paediatr.* 2021;110(7):2240-5.

240. Hanisch FG, Hansman GS, Morozov V, Kunz C, Schroten H. Avidity of α -fucose on human milk oligosaccharides and blood group-unrelated oligo/polyfucoses is essential for potent norovirus-binding targets. *J Biol Chem.* 27 de 2018;293(30):11955-65.

241. Schroten H, Hanisch FG, Hansman GS. Human Norovirus Interactions with Histo-Blood Group Antigens and Human Milk Oligosaccharides. *J Virol.* 1 de julio de 2016;90(13):5855-9.

242. Tan M, Jiang X. Histo-blood group antigens: a common niche for norovirus and rotavirus. *Expert Rev Mol Med.* 10 de marzo de 2014;16:e5.

243. Cong X, Sun X man, Qi J xun, Li H bo, Chai W gang, Zhang Q, et al. GII.13/21 Noroviruses Recognize Glycans with a Terminal β -Galactose via an Unconventional Glycan Binding Site. *J Virol* [Internet]. 1 de agosto de 2019 [citado 24 de abril de 2020];93(15). Disponible en: <https://jvi.asm.org/content/93/15/e00723-19>

244. Klena JD, Parker CT, Knibb K, Ibbitt JC, Devane PML, Horn ST, et al. Differentiation of *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter upsaliensis* by a multiplex PCR developed from the nucleotide

sequence of the lipid A gene lpxA. J Clin Microbiol. diciembre de 2004;42(12):5549-57.

245. Etzold S, Bode L. Glycan-dependent viral infection in infants and the role of human milk oligosaccharides. Curr Opin Virol. 1 de agosto de 2014;7:101-7.

246. Chichlowski M, van Diepen JA, Prodan A, Olga L, Ong KK, Kortman GAM, et al. Early development of infant gut microbiota in relation to breastfeeding and human milk oligosaccharides. Front Nutr [Internet]. 9 de marzo de 2023 [citado 13 de diciembre de 2024];10. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/nutrition/articles/10.3389/fnut.2023.1003032/full>

247. Morozov V, Hansman G, Hanisch FG, Schrotten H, Kunz C. Human Milk Oligosaccharides as Promising Antivirals. Mol Nutr Food Res. 2018;62(6):1700679.

248. Bode L. Human milk oligosaccharides: Every baby needs a sugar mama. Glycobiology. septiembre de 2012;22(9):1147-62.

249. Ciarlet M, Estes MK. Human and most animal rotavirus strains do not require the presence of sialic acid on the cell surface for efficient infectivity. J Gen Virol. abril de 1999;80 (Pt 4):943-8.

IX. ANEXOS

Anexo 1



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
Vicerrectorado de Investigación
Dirección Universitaria de Investigación,
Ciencia y Tecnología (DUICT)

CONSTANCIA 520- 23- 15

El Presidente del Comité Institucional de Ética (CIE) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité de Ética.

Título del Proyecto : "La infección natural de norovirus y sapovirus en una cohorte de nacimiento en una comunidad periurbana del Perú"

Código de inscripción : 65178

Investigador principal : Robert Gilman

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. Protocolo de investigación, versión 2.0 de fecha setiembre 2015.
2. Consentimiento parental para participación de niños, versión 3.0 de fecha octubre 2015.
3. Consentimiento de adultos (madres), versión 2.1 de fecha setiembre 2015.
4. Consentimiento parental para la participación de madres menores de 18 años, versión 1.1 de fecha agosto 2015.
5. Asentimiento de madres menores de 18 años, versión 2.1 de fecha setiembre 2015.
6. Consentimiento para bioespecímenes parental para niños, versión 2.1 de fecha setiembre 2015.
7. Consentimiento para bioespecímenes de madres (mayores de 18 años), versión 2.1 de fecha setiembre 2015.
8. Consentimiento para bioespecímenes parental para madres menores de 18 años, versión 2.1 de fecha setiembre 2015.
9. Asentimiento para bioespecímenes de madres menores de 18 años, versión 1.1 de fecha setiembre 2015.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la Confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **14 de noviembre del 2016**. Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 15 de noviembre del 2015


Dra. Frine Samalvides Cuba
Presidenta
Comité Institucional de Ética en Investigación

//pr

Anexo 2.



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CONSTANCIA-CIEI-016-01-24

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo la categoría de revisión **EXENTO**. La aprobación será informada en la sesión más próxima del comité.

Título del Proyecto : "Epidemiología de la infección por norovirus en niños menores de dos años en Villa El Salvador, Lima, Perú: rol de la lactancia materna, HMOs, HBGAs y coinfecciones"

Código SIDISI : 213131

Investigador(a) principal(es) : Toledo Cornejo, Angie Katiushka

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. Protocolo de investigación, versión 1 de fecha noviembre del 2023.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. La categoría de **EXENTO** es otorgado al proyecto por un periodo de cinco años en tanto la categoría se mantenga y no existan cambios o desviaciones al protocolo original. El investigador está exonerado de presentar un reporte del progreso del estudio por el periodo arriba descrito y sólo alcanzará un informe final al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **17 de diciembre del 2028**.

El presente proyecto de investigación sólo podrá iniciarse después de haber obtenido la(s) autorización(es) de la(s) institución(es) donde se ejecutará.

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 18 de diciembre de 2023.



Dr. Manuel Raúl Pérez Martinot
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación

/or

Av. Honorio Delgado 430
San Martín de Porres
Apartado Postal 4314
319 0000 Anexo 201355
orvelciei@oficinas-upch.pe
cayetano.edu.pe

**Comité Institucional de
Ética en Investigación**

Anexo 3.

Tabla S1. Comparación de las características de los niños incluidos y excluidos en el análisis del estudio 1.

Características	Niños incluidos n (%)	Niños excluidos n (%)	p
Sexo del Niño			0.219*
Femenino	150 (50.17)	27 (60.00)	
Masculino	149 (49.83)	18 (40.00)	
Grupo sanguíneo			1.000†
O+	216 (78.55)	1 (100.00)	
O-	4 (1.45)	0 (0.00)	
A+	35 (12.73)	0 (0.00)	
B+	20 (7.27)	0 (0.00)	
Estado secretor niño			0.054*
Secretor	229 (98.71)	30 (93.75)	
No secretor	3 (1.29)	2 (6.25)	
Índice de Probabilidad de Pobreza	52.43±9.95	53.74±8.88	0.434**
Grado de instrucción madre			0.176†
Primaria incompleta o menos	23 (7.72)	7 (18.42)	
Primaria completa	84 (28.19)	8 (21.05)	
Secundaria completa	154 (51.68)	20 (52.63)	
Superior no universitaria completa o más	37 (12.42)	3 (7.89)	
Fuente de agua			0.631*
Conexión intradomiciliaria	233 (78.19)	31 (81.58)	
Otras fuentes	65 (21.81)	7 (18.42)	
Eliminación de excretas			0.799*
Desagüe intradomiciliario	246 (82.55)	32 (84.21)	
Otro	52 (17.45)	6 (15.79)	

* El valor p fue obtenido mediante la prueba de Chi cuadrado

† El valor p fue obtenido mediante la prueba exacta de Fisher

** El valor p fue obtenido mediante la Prueba t de Student

Anexo 4.

Tabla S2. Comparación de las características de los niños de la cohorte de acuerdo con el grupo asignado.

Características	NoV+/D+ n (%)	NoV+/D- n (%)	p
Características de los niños			
Sexo del Niño			0.132*
Femenino	4 (66.67)	5 (31.25)	
Masculino	2 (33.33)	11 (68.75)	
Grupo sanguíneo			0.768†
O+	4 (66.67)	11 (78.57)	
A+	1 (16.67)	1 (7.14)	
B+	1 (16.67)	2 (14.29)	
Estado secretor niño			0.356*
Secretor	6 (100.00)	16 (100.00)	
Características de las madres			
Estado secretor			0.096*
Secretor	5 (83.33)	16 (100.)	
No secretor	1 (16.67)	0 (0.00)	
Grado de instrucción			0.268†
Primaria incompleta o menos	1 (16.67)	1 (6.25)	
Primaria completa	2 (33.33)	8 (50.00)	
Secundaria completa	1 (16.67)	6 (37.50)	
Superior no universitaria completa o más	2 (33.33)	1 (6.25)	
Características de las viviendas			
Fuente de agua			0.449*
Conexión intradomiciliaria	5 (83.33)	15 (93.75)	
Otras fuentes	1 (16.67)	1 (6.25)	
Eliminación de excretas			0.449*
Desagüe intradomiciliario	5 (83.33)	15 (93.75)	
Otro	1 (16.67)	1 (6.25)	

* El valor p fue obtenido mediante la prueba de Chi cuadrado

† El valor p fue obtenido mediante la prueba exacta de Fisher

Anexo 5.

Tabla S3. Comparación de las características de los niños de la cohorte de acuerdo con el grupo asignado.

Características	NoV-/D+ n (%)	NoV-/D- n (%)	<i>p</i>
Características de los niños			
Sexo del Niño			0.172*
Femenino	10 (40.00)	59 (55.14)	
Masculino	15 (60.00)	48 (44.86)	
Grupo sanguíneo			0.615†
O+	20 (83.33)	74 (70.48)	
O-	0 (0.00)	1 (0.95)	
A+	2 (8.33)	19 (18.10)	
B+	2 (8.33)	11 (10.48)	
Estado secretor niño			0.487*
Secretor	25 (100.00)	103 (98.10)	
No secretor	0 (0.00)	2 (1.90)	
Características de las madres			
Estado secretor			0.795*
Secretor	23 (92.00)	100 (93.46)	
No secretor	2 (8.00)	7 (6.54)	
Grado de instrucción			0.281†
Primaria incompleta o menos	1 (4.00)	8 (7.48)	
Primaria completa	3 (12.00)	29 (27.10)	
Secundaria completa	16 (64.00)	58 (54.21)	
Superior no universitaria completa o más	5 (20.00)	12 (11.21)	
Características de las viviendas			
Fuente de agua			0.051*
Conexión intradomiciliaria	23 (92.00)	79 (73.83)	
Otras fuentes	2 (8.00)	28 (26.17)	
Eliminación de excretas			0.373*
Desagüe intradomiciliario	22 (83.00)	86 (80.37)	
Otro	3 (12.00)	21 (19.63)	

* El valor p fue obtenido mediante la prueba de Chi cuadrado

† El valor p fue obtenido mediante la prueba exacta de Fisher