

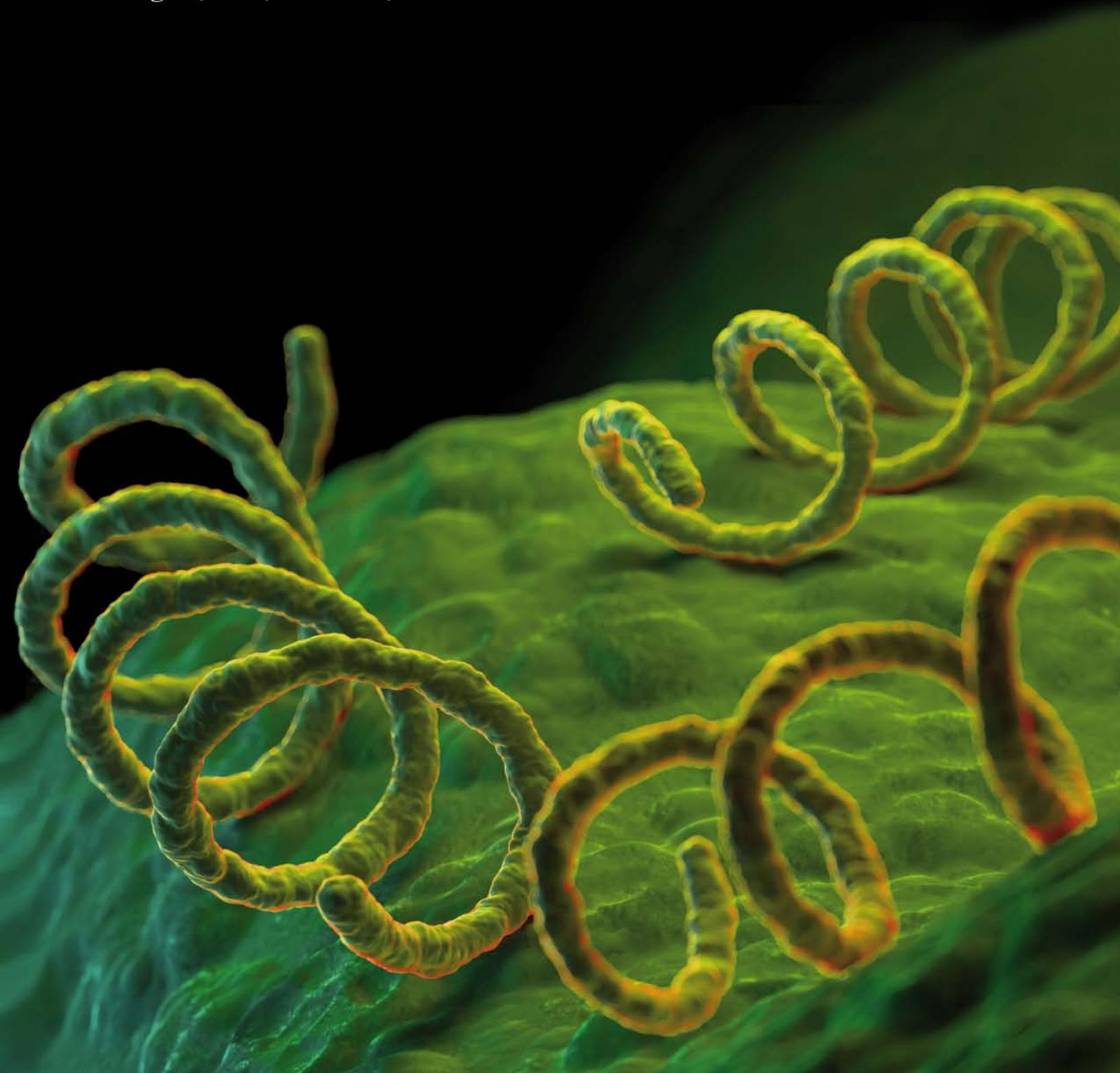
ISSN 0120-4157

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 36, No. 1 - Marzo de 2016

Bogotá, D.C., Colombia, S.A.



**Portada:** *Treponema pallidum*, bacteria responsable de la sífilis  
Reproducción autorizada por SciencePicture.Co  
<http://www.sciencepicture.co/>

# Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 36, No. 1, Bogotá, D.C., Colombia - Marzo de 2016

---

## Comité Editorial

### EDITORES

LUIS ALBERTO GÓMEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

CARLOS ARTURO HERNÁNDEZ  
Bogotá, D.C., Colombia

RUBÉN SANTIAGO NICHOLLS  
Organización Panamericana de la Salud  
Brasilia, Brasil

### EDITORES ASOCIADOS

ENRIQUE ARDILA  
Bogotá, D.C., Colombia

MIGUEL A. GUZMÁN  
Investigador Emérito  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

NANCY GORE SARAVIA  
Centro Internacional de Entrenamiento  
e Investigaciones Médicas  
Cali, Colombia

RAÚL PARDO  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

LEONARD MUNSTERMANN  
Yale University School of Medicine  
New Haven, CT, Estados Unidos

GUSTAVO C. ROMÁN  
Methodist Neurological Institute  
Houston, TX, Estados Unidos

OMAR SEGURA  
Federación Médica Colombiana  
Bogotá, D.C., Colombia

ORLANDO TORRES-FERNÁNDEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

---

## Comité Científico

ARNOLDO BARBOSA RAMÍREZ  
Universidad del Tolima  
Ibagué, Colombia

ANTONIO BERMÚDEZ  
Instituto Nacional de Salud  
Bogotá, D.C., Colombia

JORGE H. BOTERO  
Universidad de Antioquia  
Medellín, Colombia

VÍCTOR CÁRDENAS  
University of Texas  
El Paso, TX, Estados Unidos

ALBERTO CONCHA-EASTMAN  
Guatapé, Colombia

ZOILO CUÉLLAR  
Academia Nacional de Medicina  
Bogotá, D.C., Colombia

LUIS GABRIEL CUERVO  
Organización Panamericana  
de la Salud  
Washington, D.C., Estados Unidos

PATRICIA DEL PORTILLO  
Corpogén  
Bogotá, D.C., Colombia

ANDRÉS DE FRANCISCO  
Organización Mundial de la Salud  
Ginebra, Suiza

FERNANDO DE LA HOZ  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

JOSÉ LUIS DI FABIO  
Organización Panamericana de la Salud  
Washington, D.C., Estados Unidos

JORGE HERNANDO DONADO  
Universidad Pontificia Bolivariana  
Medellín, Colombia

JOSÉ FIGUEROA  
World Health Organization  
Ginebra, Suiza

LUIS FERNANDO GARCÍA  
Universidad de Antioquia  
Medellín, Colombia

ALBERTO GÓMEZ  
Pontificia Universidad Javeriana  
Bogotá, D.C., Colombia

ENRIQUE GONZÁLEZ  
University of Texas Health Science Center  
at San Antonio  
San Antonio, TX, Estados Unidos

JOHN MARIO GONZÁLEZ  
Universidad de los Andes  
Bogotá, D.C., Colombia

FELIPE GUHL  
Universidad de los Andes  
Bogotá, D.C., Colombia

ANTONIO IGLESIAS  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

JORGE JARA  
Centers for Disease Control and  
Prevention, Regional Office for  
Central America and Panama,  
CDC-CAP  
Ciudad de Guatemala, Guatemala

ERNESTO JARAMILLO  
Organización Mundial de la Salud  
Ginebra, Suiza

MARCELO LABRUNA  
Universidade de São Paulo  
São Paulo, Brasil

JAIRO LIZARAZO  
Hospital Universitario Erasmo  
Meoz  
Cúcuta, Colombia

JUAN GUILLERMO McEWEN  
Corporación para Investigaciones  
Biológicas  
Medellín, Colombia

ROBERTO MENDOZA  
The Hospital for Sick Children  
Toronto, Ontario, Canada

ÁLVARO MONCAYO  
Universidad de los Andes  
Bogotá, D.C., Colombia

RICARDO NEGRONI  
Hospital de Infecciosas  
Francisco Javier Muñiz  
Buenos Aires, Argentina

MARÍA TERESA OCHOA  
University of California Los Ángeles  
Los Ángeles, CA, Estados Unidos

JUAN P. OLANO  
University of Texas Medical Branch  
Galveston, TX, Estados Unidos

BLANCA RESTREPO  
University of Texas  
Brownsville, TX, Estados Unidos

VÍCTOR E. REYES  
University of Texas Medical Branch  
Galveston, TX, Estados Unidos

PEDRO ROMERO  
Ludwig Center for Cancer Research  
University of Lausanne  
Lausana, Suiza

GERZAÍN RODRÍGUEZ  
Investigador Emérito  
Instituto Nacional de Salud  
Universidad de la Sabana  
Bogotá, D.C., Colombia

ÁLVARO RUIZ  
Pontificia Universidad Javeriana  
Bogotá, D.C., Colombia

GIOCONDA SAN BLAS  
Instituto Venezolano de  
Investigaciones Científicas  
Caracas, Venezuela

ÁLVARO SANABRIA  
Hospital Pablo Tobón Uribe  
Universidad de Antioquia  
Medellín, Colombia  
Universidad de la Sabana  
Chía, Colombia

RICARDO SÁNCHEZ  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

ROBERT TESH  
University of Texas  
GALVESTON, TX, ESTADOS UNIDOS

BRUNO TRAVI  
University of Texas  
Galveston, TX, Estados Unidos

GUSTAVO VALBUENA  
University of Texas  
Galveston, TX, Estados Unidos

JUAN MIGUEL VILLALOBOS  
Universidade Federal de Rondônia  
Porto Velho, Brasil

MOISÉS WASSERMAN  
Investigador Emérito  
Instituto Nacional de Salud  
Universidad Nacional de Colombia  
Bogotá, D.C., Colombia

---

CARLOS ARTURO HERNÁNDEZ  
Edición y corrección de estilo

LINDA GRACE MOLANO  
Asistencia editorial

MARTHA RENZA  
Corrección de estilo

ELIZABETH GUZMÁN  
Mercadeo digital

JOHANNA MORALES  
Diagramación

---

© Instituto Nacional de Salud

La revista *Biomédica* del Instituto Nacional de Salud es una publicación trimestral, eminentemente científica. Está amparada por la resolución número 003768 de 1981, emanada del Ministerio de Gobierno, y con tarifa postal reducida según resolución número 1128 del 5 de mayo de 1982.

Ninguna publicación, nacional o extranjera, podrá reproducir ni traducir sus artículos ni sus resúmenes sin previa autorización escrita del editor. Ni la revista, ni el Instituto asumen responsabilidad alguna por los puntos de vista expresados por los autores. La revista no publicará ningún tipo de propaganda comercial. Los nombres de equipos, materiales y productos manufacturados que eventualmente puedan mencionarse, no implican recomendación ni propaganda para su uso y sólo se mencionan como identificación genérica.

La revista *Biomédica* aparece reseñada en *Index Medicus/Medline de la National Library of Medicine*, en el *Science Citation Index Expanded (also known as SciSearch®)* y *Journal Citation Reports/Science Edition de Thomson Scientific*, en *SciELO Colombia (Scientific Electronic Library Online)*, en el índice de la *Literatura Latinoamericana en Ciencias de la Salud (LILACS)*, en la Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (*RedAlyC*), en el *Índice Mexicano de Revistas Biomédicas Latinoamericanas (Imbiomed)*, en *Scopus* de Elsevier B.V., en el *Sistema de Información Bibliográfica Regional Andina (SIBRA)*, en *CAB Abstracts*, *Review of Medical and Veterinary Entomology*, y forma parte del *Índice Nacional de Publicaciones Seriadas Científicas y Tecnológicas Colombianas* de Colciencias y del *Índice Latinoamericano de Revistas Científicas y Tecnológicas (LATINDEX)*.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
Avenida Calle 26 No. 51-20  
Apartado aéreo 80334 y 80080  
Bogotá, D.C., Colombia, S.A.

URL: <http://www.ins.gov.co>  
[biomedica@ins.gov.co](mailto:biomedica@ins.gov.co)

Impresión: Imprenta Nacional de Colombia

## Contenido

### Editorial

- Zika, evidencia de la derrota en la batalla  
contra *Aedes aegypti*  
Jaime E. Castellanos ..... 5

### Presentación de caso

- Urticaria inducible: serie de casos y revisión de la literatura  
Daniel Amaya, Andrés Sánchez, Jorge Sánchez ..... 10

- Microcalcificaciones cerebrales en un recién nacido  
con tuberculosis congénita  
Yolanda Cifuentes, Martha I. Murcia, Jorge Piar,  
Patricia Pardo ..... 22

### Artículo original

- Validación inicial de la escala de medición de esfuerzo  
percibido infantil (EPInfant) en niños chilenos  
Iván Rodríguez-Núñez, Carlos Manterola ..... 29

- Producción y evaluación del antígeno recombinante  
TES-30 de *Toxocara canis* para el inmunodiagnóstico  
de toxocarías  
Ana M. Olave, Jairo A. Mesa, Jorge H. Botero, Edwin B.  
Patiño, Gisela M. García, Juan F. Alzate ..... 39

- Análisis del polimorfismo del gen APOE en  
la población de Barranquilla, Colombia  
Martha Ruiz, Isis Arias, Gloria Rolón, Enio Hernández,  
Pilar Garavito, Carlos Silvera-Redondo ..... 52

- Reacciones adversas a medicamentos en una población  
colombiana, 2007-2013: análisis de bases de datos  
Jorge Enrique Machado-Alba, Manuel José  
Londoño-Builes, Luis Felipe Echeverri-Cataño,  
Sergio Andrés Ochoa-Orozco ..... 59

- La separación materna durante la lactancia altera  
los niveles basales del sistema neuroendocrino  
en ratas adolescentes y adultas  
Irene Riveros-Barrera, Zulma Dueñas ..... 67

- Polimorfismos de los genes *LEP*, *LDLR*, *APOA4*  
y sus relaciones con el sobrepeso, la obesidad y  
el riesgo de enfermedades crónicas en adultos  
del estado Sucre, Venezuela  
Greta Rodríguez-Arroyo, Irene Paradisi, Mertlyn  
Vivenes-Lugo, Dinorah Castro-Guerra,  
Álvaro Rodríguez-Larralde ..... 78

- Predicción de la sensibilidad a la warfarina con  
base en polimorfismos de los genes *VKORC1* y  
*CYP2C9* en pacientes colombianos  
Ricardo A. Cifuentes, Juan Murillo-Rojas, Esperanza  
Avella-Vargas ..... 91

- Caracterización y seguimiento durante seis meses  
de una cohorte de recién nacidos con sífilis congénita  
Cristian Vallejo, Yolanda Cifuentes ..... 101

- La transición alimentaria y el exceso de peso en  
adultos evaluados con base en la Encuesta de  
la Situación Nutricional en Colombia, 2010  
Óscar F. Herrán, Gonzalo A. Patiño,  
Sara E. Del Castillo ..... 109

- Epidemiología de las infecciones bacterianas en  
pacientes con cirrosis hepática, experiencia de un  
centro español de atención terciaria  
Katerina Klímová, Camilo Padilla, Juan Carlos Ávila,  
Gerardo Clemente, Alejandra Ochoa ..... 121

- Caracterización clínica de pacientes que consultaron  
por dengue en un hospital de tercer nivel en Cali,  
Colombia, 2013  
Lorena Matta, Mario M. Barbosa, Cristhian D.  
Morales-Plaza ..... 133

- Manejo de las redes sociales electrónicas por parte  
de los estudiantes de medicina: el caso de la publicación  
de fotografías de los pacientes y el profesionalismo médico  
Pedro José Villamizar, Sandra Milena Moreno,  
Freddy Moreno ..... 140

- La insuficiencia de conocimientos para el diagnóstico  
microscópico de la malaria en técnicos de la red  
de laboratorios de Luanda, Angola  
García Nazaré-Pembele, Lázara Rojas, Fidel  
Ángel Núñez ..... 149

### Comunicación breve

- Comparación entre métodos de cultivo independientes y  
dependientes para la detección de bacteriemia transitoria  
en individuos diabéticos con periodontitis crónica  
Anna Carolina Ratto-Tespestini, Paula Juliana Pérez-  
Chaparro, Guiseppe Alexandre Romito, Luciene Cristina  
Figueiredo, Marcelo Faveri, Hilana Paula Carillo,  
Priscila Larcher, Magda Feres ..... 156

- In memoriam ..... 162

- Instrucciones a los autores



## Contents

### Editorial

- Zika: a defeat in the struggle against *Aedes aegypti*  
Jaime E. Castellanos ..... 5

### Case presentation

- Inducible urticaria: Case series and literature review  
Daniel Amaya, Andrés Sánchez, Jorge Sánchez ..... 10
- Cerebral microcalcifications in a newborn with congenital tuberculosis  
Yolanda Cifuentes, Martha I. Murcia, Jorge Piar, Patricia Pardo ..... 22

### Original articles

- Initial validation of the scale of perceived exertion (EPInfant) in Chilean children  
Iván Rodríguez-Núñez, Carlos Manterola ..... 29
- Production and evaluation of the recombinant antigen TES-30 of *Toxocara canis* for the immunodiagnosis of toxocaríasis  
Ana M. Olave, Jairo A. Mesa, Jorge H. Botero, Edwin B. Patiño, Gisela M. García, Juan F. Alzate ..... 39
- APOE gene polymorphism analysis in Barranquilla, Colombia  
Martha Ruiz, Isis Arias, Gloria Rolón, Enio Hernández, Pilar Garavito, Carlos Silvera-Redondo ..... 52
- Adverse drug reactions in Colombian patients, 2007-2013: Analysis of population databases  
Jorge Enrique Machado-Alba, Manuel José Londoño-Builes, Luis Felipe Echeverri-Cataño, Sergio Andrés Ochoa-Orozco ..... 59
- Maternal separation during nursing alters basal neuroendocrine levels in juvenile and adult rats  
Irene Riveros-Barrera, Zulma Dueñas ..... 67
- LEP, LDLR and APOA4 gene polymorphisms and their relationship with the risk of overweight, obesity and chronic diseases in adults of the State of Sucre, Venezuela  
Greta Rodríguez-Arroyo, Irene Paradisi, Merlyn Vivenes-Lugo, Dinorah Castro-Guerra, Álvaro Rodríguez-Larralde ..... 78
- Prediction of sensitivity to warfarin based on *VKORC1* and *CYP2C9* polymorphisms in patients from different places in Colombia  
Ricardo A. Cifuentes, Juan Murillo-Rojas, Esperanza Avella-Vargas ..... 91

- Characterization and six-month follow-up on a cohort of newborns with congenital syphilis  
Cristian Vallejo, Yolanda Cifuentes ..... 101

- Dietary transition and excess weight in adults according to the *Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010*  
Óscar F. Herrán, Gonzalo A. Patiño, Sara E. Del Castillo ..... 109

- Epidemiology of bacterial infections in patients with liver cirrhosis. Experience in a Spanish tertiary health center  
Katerina Klímová, Camilo Padilla, Juan Carlos Ávila, Gerardo Clemente, Alejandra Ochoa ..... 121

- Clinical profile of dengue in patients consulting a tertiary hospital in the city of Cali, Colombia, 2013  
Lorena Matta, Mario M. Barbosa, Cristhian D. Morales-Plaza ..... 133

- Management of electronic social networks by students of medicine: The case of publication of photographs with patients and professional medical conduct  
Pedro José Villamizar, Sandra Milena Moreno, Freddy Moreno ..... 140

- Lack of knowledge regarding the microscopic diagnosis of malaria by technicians of the laboratory network in Luanda, Angola  
García Nazaré-Pembele, Lázara Rojas, Fidel Ángel Núñez ..... 140

### Brief communication

- Comparison of independent and dependent culture methods for the detection of transient bacteremia in diabetic subjects with chronic periodontitis  
Anna Carolina Ratto-Tespestini, Paula Juliana Pérez-Chaparro, Guisepppe Alexandre Romito, Luciene Cristina Figueiredo, Marcelo Faveri, Hilana Paula Carillo, Priscila Larcher, Magda Feres ..... 156

- In memoriam ..... 162

- Instructions for authors

## Editorial

### **Zika, evidencia de la derrota en la batalla contra *Aedes aegypti***

Aunque el virus del Zika (ZIKV) fue aislado por primera vez de monos en Uganda en 1947, solo hasta el 2007 se detectaron casos en seres humanos por fuera de África en un brote en las islas de la Micronesia, posteriormente en las islas de la Polinesia Francesa (2013-2014) y desde el 2014 en Brasil, desde donde se ha dispersado por toda América continental e insular (1). Hasta febrero de 2016, se han reportado casos en 48 países y territorios del mundo, 36 de los cuales con transmisión de casos autóctonos, lo que demuestra la gran capacidad de adaptación y dispersión del virus usando como vector al mosquito *Aedes aegypti*, presente en los países tropicales (2).

En la epidemia de la Polinesia Francesa, los pacientes presentaron síntomas leves (fiebre, erupción cutánea con prurito intenso, conjuntivitis, mialgias y artralgias con edema asociado) y ameritaron solo cuidados menores; con los datos de las consultas se estimó que hubo tres veces más casos de los que se presentaron de forma asintomática (3). Por el contrario, los datos recopilados durante las epidemias de Brasil y Colombia apuntan a que, aproximadamente, la mitad de los pacientes infectados presentan manifestaciones clínicas, pero esta es una cifra que debe ser confirmada por investigaciones específicas.

Es claro que las personas con infecciones asintomáticas son capaces de transmitir el virus a nuevos individuos mediante el mosquito, expandiendo la infección con mayor rapidez, ya que no se incapacitan. En el caso de los pacientes con síntomas, el diagnóstico clínico y la confirmación por el laboratorio se presentan como un desafío enorme debido a la similitud clínica con el dengue y a la reacción cruzada en las pruebas serológicas (4). La descripción de la evolución de la infección por el ZIKV pone de manifiesto que la enfermedad ha cambiado su perfil: de la presentación endémica de poca gravedad en África y Asia, a los grandes brotes y epidemias en América, con signos y síntomas más frecuentes en la población y con la aparición de manifestaciones neurológicas (5).

Como se sabía que la enfermedad febril asociada al ZIKV era de menor intensidad que la fiebre por el virus del dengue, inicialmente el brote de Brasil causó poca alarma. Sin embargo, la crisis estalló cuando se describió un aumento de diez veces en el número de casos de microcefalia en niños nacidos de madres de las zonas de circulación intensa del ZIKV (6,7). Posteriormente, la aparición de casos importados en Estados Unidos y Europa, la confirmación de la replicación en la próstata, la excreción viral en el semen hasta por 62 días (8) y la transmisión por vía sexual, atrajeron la atención de los medios de comunicación del mundo, los cuales han contribuido a alimentar el temor e, incluso, las teorías conspirativas en torno al virus.

Con respecto a las malformaciones congénitas, en octubre de 2015 se comenzó a encontrar evidencia de que este arbovirus (*arthropod borne virus*) estaba relacionado con la aparición de casos de microcefalia en niños nacidos de madres que habían tenido infección por el ZIKV durante el embarazo y que estaban ubicadas en la región nororiental de Brasil (9). Más recientemente, se describió en profundidad, y con muy buen respaldo, que el virus puede mantenerse y replicarse hasta por 20 semanas en el cerebro del feto y en la placenta, develando así una propiedad de persistencia desconocida en los flavivirus (10). No deja de causar interés el hecho de que no se hayan reportado previamente secuelas tan graves en otros brotes del ZIKV, aunque la magnitud de las epidemias actuales no se compara con las ocurridas anteriormente, lo que no habría permitido evaluar la verdadera incidencia de las manifestaciones graves.

Asimismo, en Brasil se observó un aumento considerable de la incidencia de los casos del síndrome de Guillain-Barré en las zonas de transmisión del virus, un hallazgo que había sido reportado en la Polinesia Francesa (11) y que se ha repetido en otros países en los que la transmisión del virus comenzó en el 2015, como Colombia, El Salvador, Venezuela y Surinam. Aunque hasta el momento la evidencia de la relación de estos trastornos neurológicos y la infección por el ZIKV es circunstancial, los investigadores y el personal de salud involucrado en el estudio de estos casos consideran que es muy probable que esta relación sea verdadera. Por ejemplo, ante la alarma generada por los casos de Brasil, las autoridades de salud de la Polinesia Francesa estudiaron retrospectivamente su epidemia de 2013-2014, y encontraron que hubo un incremento inusitado de casos de malformaciones neurológicas congénitas en fetos y niños nacidos en el 2015, ratificando así una asociación temporal entre la infección por el ZIKV en el primer trimestre del embarazo y los casos de malformaciones (12).

En Brasil, se calcula que han sido infectados 1,5 millones de personas, aproximadamente, y se han reportado 41 casos de microcefalia en niños de madres con infección confirmada por el ZIKV, aunque más de 3.800 casos siguen en investigación (7). En Colombia, se habían reportado casi 40.000 casos del ZIKV hasta la semana epidemiológica 6 de 2016 y cerca de 6.000 de ellos corresponden a mujeres embarazadas (1.612 confirmados por laboratorio). No se han reportado oficialmente casos de microcefalia (13), aunque sí más de un centenar de casos de síndrome de Guillain-Barré en pacientes con antecedentes de infección por el ZIKV e, incluso, se ha reportado en los medios de comunicación el fallecimiento de tres pacientes con diagnóstico de síndrome de Guillain-Barré y con antecedentes de infección por el ZIKV. Más recientemente, en Barranquilla, se reportó el caso de una paciente con antecedentes de anemia falciforme e infectada con el ZIKV, que tuvo un desenlace fatal (14), lo que pone de relieve la importancia de vigilar con mayor cuidado a los pacientes con enfermedades concomitantes.

Es bien conocido que *A. aegypti*, el zancudo vector, es el principal responsable de la transmisión de los virus del dengue (DENV) y de la fiebre amarilla (YFV) en toda Latinoamérica, y que la infestación generalizada del mosquito en la mayor parte de las ciudades y pueblos de nuestros países fue la causa de la epidemia de fiebre originada por el virus del chikungunya (CHIKV) en 2013-2014 y la actual responsable de la epidemia del ZIKV. Estos virus comparten los mismos nichos, como lo demostraron investigadores de la Costa Atlántica de Colombia, quienes reportaron un caso de un paciente con infección simultánea por los tres virus, con lo que se hizo evidente un temor latente sobre la circulación simultánea de los tres agentes y la probabilidad de cuadros clínicos más agresivos (15).

La desbordada transmisión de los dos nuevos arbovirus recientemente detectados en América, es evidencia del fracaso de las estrategias de control del zancudo en nuestros países en los últimos 30 años. Nos hemos acostumbrado a convivir con cifras crecientes de casos de dengue y, peor aún, con casos fatales por dengue en cientos de pacientes, sin que esto se haya traducido en la adopción de medidas de control vectorial que realmente reduzcan la circulación del mosquito. En Colombia, por ejemplo, después de la grave epidemia de dengue de 2010 (666 casos por 100.000 habitantes), las cifras se han mantenido entre las más altas de la región, reportándose tasas de 222, 470, 401 y 323 casos por 100.000 habitantes en los años 2012, 2013, 2014 y 2015, respectivamente, lo que evidencia más directamente la infestación permanente del zancudo en nuestras ciudades, consecuencia de varias circunstancias desafortunadas, como la ineficacia de los programas de control vectorial, la debilidad de los sistemas de vigilancia epidemiológica y de salud pública, las dificultades en la prestación de los servicios de salud y la escasa participación de los pobladores en las actividades de erradicación.

Independientemente del tipo de aproximación que se adopte para investigar el fenómeno de la transmisión de los arbovirus, las conclusiones siempre llegan al mismo punto: la falta del servicio continuo de acueducto en las ciudades y barrios más pobres obliga a las familias a almacenar el agua en tanques, albercas, canecas y baldes; estos contenedores se convierten en el mejor sitio de reproducción del mosquito, lo que lleva a que los índices aélicos sigan siendo muy altos en estos lugares. Con esta epidemia seguimos pagando las consecuencias de décadas de atraso y abandono en las políticas de acceso a agua potable y segura, a saneamiento básico y a mejoría en las condiciones de vida de grandes



sectores de la población, lo cual, añadido a las falencias en el control vectorial, ha facilitado la explosión de las enfermedades vectoriales. El ZIKV y la posible afectación de nuestros niños, nos han puesto contra la pared y en la penosa aceptación de nuestra derrota.

Obviamente, ante esta emergencia sale a relucir una verdad que es preocupante para muchas personas: el crecimiento desbordado de las poblaciones de mosquitos se relaciona también con el aumento de la temperatura en el planeta. Es sabido que con el aumento de la temperatura ambiental, *A. aegypti* se desarrolla de larva a adulto en menos tiempo y el mosquito puede llegar más fácilmente a zonas de mayor altitud donde antes no existía. Esto, sumado a las deficientes condiciones en las zonas urbanas más pobres y al aumento de la resistencia a los insecticidas, agrava los pronósticos sobre enfermedades como el dengue, el zika y el chikungunya (16).

A raíz de la decisión del gobierno brasileño de desplazar 200.000 soldados a actividades de control del vector en las ciudades con mayor transmisión, se ha puesto en el centro de la discusión si las medidas de emergencia, como la fumigación, serán efectivas en ciudades y barrios sin acueducto y con una deficiente recolección de basuras, que siguen siendo los principales lugares para la proliferación de los criaderos del mosquito. Además de estas medidas de urgencia, no deben dejarse de lado otras estrategias, como la educación comunitaria y la promoción de la participación ciudadana, que han mostrado mayor efectividad (17).

Desde otro punto de vista, la epidemia y la muy probable relación entre la microcefalia y la infección por el ZIKV, han puesto a Colombia en el centro de la atención mundial, ya que con la colaboración internacional se han diseñado varios protocolos para el seguimiento de miles de mujeres embarazadas en las zonas de circulación del virus con el fin de definir si existe causalidad entre la infección y los defectos neurológicos de los fetos. Se ha desatado, asimismo, una intensa discusión sobre la conveniencia de la interrupción voluntaria del embarazo en mujeres en las que se confirme un feto con malformaciones, aduciendo que un feto con graves deficiencias neurológicas y cognitivas supone un peligro para la salud de la madre. Se ha abierto así la posibilidad de ver desde otra óptica los dilemas éticos y legales de la anticoncepción y el aborto en el marco de la epidemia por el ZIKV.

Con la evolución de la epidemia y la demostración de la transmisión del ZIKV por contacto sexual y por transfusiones (18), la infección ha tomado nuevos rumbos, pues ya las autoridades nacionales e internacionales han definido orientaciones sobre la prevención durante el contacto sexual y han recomendado no detener la recolección de sangre de donantes en zonas de circulación viral pero extremando las precauciones para detectar casos recientes en estos donantes.

Existen varios aspectos cruciales que dificultan el seguimiento y el control de la epidemia, y que ameritan un esfuerzo académico y técnico de la comunidad científica nacional, así como de las autoridades del sistema de salud, en los siguientes campos.

1. Se requieren pruebas de serología (IgM o IgG) para el diagnóstico de los casos agudos o recientes. Estas pruebas no están disponibles comercialmente, y las que hay tienen baja sensibilidad y especificidad en pacientes que tengan o hayan tenido dengue debido a la cercana relación entre el ZIKV y el DENV, que pertenecen a la misma familia.
2. El diagnóstico se hace esencialmente mediante la detección del ARN viral con RT-PCR en tiempo real, una técnica que, aunque sencilla, requiere de un alto nivel de experiencia y equipos apropiados, además de una muestra tomada en el momento preciso, en personas que pueden o no presentar síntomas.
3. Las guías de seguimiento clínico para las mujeres embarazadas y los niños nacidos de madres con antecedentes de infección, indican la necesidad de contar con profesionales especializados y ecografías frecuentes, lo cual tendrá un fuerte impacto en los costos de atención del sistema de salud, que todavía no se han calculado concienzudamente.
4. Es necesario prever los costos asociados a la atención de los recién nacidos con déficit neurológico grave y de los pacientes con síndrome de Guillain-Barré.
5. Se debe evaluar el impacto de las estrategias de control vectorial y reforzar las actividades relacionadas con el programa de gestión integral de las enfermedades vectoriales, fortaleciendo decididamente la

participación de las poblaciones más afectadas en las labores de eliminación del mosquito, ya que este enfoque es el que más beneficios ha reportado.

6. El desarrollo de vacunas y medicamentos antivirales es un campo en el que se esperan avances rápidamente, aunque los esfuerzos económicos y técnicos se encuentran fuera del alcance de los países más afectados por la circulación del virus.

Por último, con esta epidemia del ZIKV podríamos decir que las enfermedades ‘tropicales’ comenzaron a desaparecer, pues los nichos ecológicos y los grupos humanos vulnerables se encuentran ahora en todos los países del mundo. La humanidad y la comunidad científica internacional están obligadas a atender y entender la ecología, los vectores y la patogenia de las infecciones que tanto daño han causado en los países subdesarrollados.

Es presumible que, ante el desafío evolutivo que supone la aparición del ZIKV en un nuevo ecosistema y con un grupo tan heterogéneo de huéspedes, se produzca una evolución genética que implique cambios en el comportamiento que se manifiesten en mayores tasas de transmisión o en una mayor gravedad de las infecciones, por lo que es imperativo avanzar en la comprensión de los mecanismos del virus y luchar por mejorar las condiciones generales de salud para así hacer retroceder y comenzar a ganarle la batalla a *A. aegypti*.

Jaime E. Castellanos

Grupo de Virología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia  
castellanosjaime@unbosque.edu.co

## Referencias

1. **Zanluca C, de Melo VCA, Mosimann ALP, dos Santos GIV, dos Santos CND, Luz K.** First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2015;110:569-72. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150192>
2. **World Health Organization.** Zika virus microcephaly and Guillain-Barré syndrome. Situation report. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2016. Disponible en: <http://www.who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/19-february-2016/en/>
3. **Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, et al.** Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. Emerg Infect Dis. 2014;20:1085-6. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2006.140138>
4. **Mátar S, González M.** Now is the time for the Zika virus. Revista MVZ Córdoba. 2015;20:4511-2.
5. **Kindhauser MK, Allen T, Frank V, Santhana RS, Dye C.** Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus [Submitted]. Bull World Health Organ. 2016. <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.171082>
6. **Pan American Health Organization, World Health Organization.** Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas. Fecha de consulta: 1º de diciembre de 2015. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&Itemid=&gid=32405&lang=en](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=&gid=32405&lang=en).
7. **Ministério da Saúde, Brasil.** Boletim epidemiológico. Ministério da Saúde divulga novos dados de microcefalia. Fecha de consulta: 9 de febrero de 2016. Disponible en: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/21019-ministerio-da-saude-divulga-novos-dados-de-microcefalia>.
8. **Atkinson B, Hearn P, Afrough B, Lumley S, Carter D, Aarons EJ, et al.** Detection of Zika virus in semen. Emerg Infect Dis. 2016. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2205.160107>
9. **Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IML, Horovitz DDG, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al.** Possible association between Zika virus infection and microcephaly – Brazil 2015. Morb Mortal Wkly Rep. 2016;65:59-62. <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6503e2>
10. **Mlakar J, Korva M, Tul N, Popovic M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, et al.** Zika virus associated with microcephaly. N Engl J Med. 2016. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1600651>
11. **Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparc-Goffart I, Lastère S, Valour F, et al.** Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome –case report, French Polynesia, December 2013. Euro Surveill. 2014;19:pii=20720. <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.9.20720>
12. **European Centre for Disease Prevention and Control.** Rapid risk assesment: Zika virus epidemic in the Americas: potential association with microcephaly and Guillain-Barré syndrome (first update). [Fecha de consulta: 21 de enero de 2016]. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/rapid-risk-assessment-zika-virus-first-update-jan-2016.pdf>.
13. **Instituto Nacional de Salud.** Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo. Zika a semana epidemiológica 06 de 2016. [Fecha de consulta: 9 de febrero de 2016]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/Noticias/ZIKA/CONTEO%20CASOS%20ZIKA%20MUNICIPIOS%20SE%2006%202016.pdf>.

14. **Arzuza-Ortega L, Polo A, Pérez-Tatis G, López-García H, Parra E, Pardo-Herrera LC, et al.** Fatal Zika virus infection in girl with sickle cell disease, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2016. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2205.151934>
15. **Villamil-Gómez WE, González-Camargo O, Rodríguez-Ayubi J, Zapata-Serpa D, Rodríguez-Morales AJ.** Dengue, chikungunya and Zika co-infection in a patient from Colombia. *J Infect Public Health.* 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2015.12.002>.
16. **Santacoloma L, Chaves B, Brochero HL.** Estado de la susceptibilidad de poblaciones naturales del vector del dengue a insecticidas en trece localidades de Colombia. *Biomédica.* 2012;32:333-43. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.680>
17. **Caprara A, Lima JW, Peixoto AC, Motta CM, Nobre JM, Sommerfeld J.** Entomological impact and social participation in dengue control: A cluster randomized trial in Fortaleza, Brazil. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg.* 2015;109:99-105. <http://dx.doi.org/10.1093/trstmh/tru187>
18. **Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, et al.** Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* 2014;19:pii:20761. <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.14.20761>

## PRESENTACIÓN DE CASO

# Urticaria inducible: serie de casos y revisión de la literatura

Daniel Amaya<sup>1</sup>, Andrés Sánchez<sup>2,3,5</sup>, Jorge Sánchez<sup>1,2,4</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Alergología Clínica y Experimental (GACE), IPS Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Fundación para el Desarrollo de las Ciencias Médicas y Biológicas (FUNDEMB), Cartagena, Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Inmunología, Universidad de Magdalena, Santa Marta, Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Alergología Experimental e Inmunogenética, Instituto de Investigaciones Inmunológicas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

<sup>5</sup> Programa de Medicina, Corporación Universitaria Rafael Núñez, Cartagena, Colombia

Las urticarias inducibles constituyen un grupo heterogéneo de trastornos cutáneos caracterizados por la aparición de habones, prurito o angioedema, que en ocasiones se acompañan de síntomas sistémicos causados por estímulos inoocuos para la mayoría de la población, como el frío, el calor, la presión, etc., y que comprometen la calidad de vida de los pacientes. La mayor parte de la literatura médica pertinente proviene de reportes y series de casos, ya que su epidemiología se ha estudiado poco.

El objetivo de esta revisión es ofrecer una visión actualizada de la información disponible sobre varios tipos de urticaria inducida, mediante la presentación de un caso clínico ilustrativo y la descripción de los mecanismos fisiopatológicos, las manifestaciones clínicas y el tratamiento de cada condición.

**Palabras clave:** alergia e inmunología, angioedema, enfermedades de la piel, urticaria, edema

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2678>

### Inducible urticaria: Case series and literature review

Inducible urticaria is a heterogeneous group of skin disorders characterized by the appearance of wheals, pruritus and/or angioedema, sometimes accompanied by systemic symptoms caused by innocuous stimuli (cold, heat, pressure, etc.). This group of disorders compromises people's quality of life and most of the literature in this regard comes from case reports and case series since its epidemiology has been poorly studied and some cases are very rare. The aim of this review is to show an up-to-date overview of the available literature for various types of inducible urticarias, always beginning with an illustrative case and then describing their pathophysiological mechanisms, clinical manifestations, and treatment.

**Key words:** Allergy and immunology, angioedema, skin disease, urticaria, edema.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2678>

La urticaria es una enfermedad cutánea y de las mucosas caracterizada por la aparición de habones o angioedema que es preciso diferenciar de otras condiciones médicas en las que pueden presentarse habones, angioedema o los dos, por ejemplo, la anafilaxia, los síndromes autoinflamatorios o el angioedema hereditario (1). Según su duración se ha clasificado en aguda y

crónica, definiéndose esta como aquella con una duración mayor a seis semanas. La prevalencia de la urticaria crónica se estima entre 0,5 y 5 % de la población general. Según algunos estudios, en la población estadounidense la incidencia es de 1,4 % por año, aproximadamente (2).

La *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* (EAACI) ha propuesto recientemente una clasificación etiológica más acorde con el conocimiento actual de los mecanismos subyacentes de la enfermedad, que incluye bajo el nombre de "urticaria inducible" aquellas desencadenadas por estímulos físicos comúnmente inoocuos como, por ejemplo, el calor, el frío, la presión aplicada a la piel, el ejercicio, la vibración, la luz solar y los

#### Correspondencia:

Jorge Sánchez, Carrera 42 N° 7A sur-92, apartamento 1710, Cartagena, Colombia  
Teléfono: (300) 393 4000  
[jotamsc@yahoo.com](mailto:jotamsc@yahoo.com)

Recibido: 29/01/15; aceptado: 29/07/15

#### Contribución de los autores:

Jorge Sánchez: idea central del artículo

Todos los autores contribuyeron por igual en la redacción y revisión del manuscrito.

estímulos electromagnéticos; en ocasiones, estas también pueden acompañarse de angioedema. En el cuadro 1 se presenta la clasificación de las urticarias crónicas.

En muchas ocasiones es difícil identificar cuál estímulo o estímulos actúan como detonantes; sin embargo, una buena historia clínica y, si es necesario, la exposición controlada al estímulo sospechoso, permiten confirmar la causa de la urticaria y establecer medidas de control adecuadas. En esta revisión se presentan algunos

casos clínicos y se revisan de forma detallada algunas de las urticarias físicas comunes en nuestro medio (figura 1).

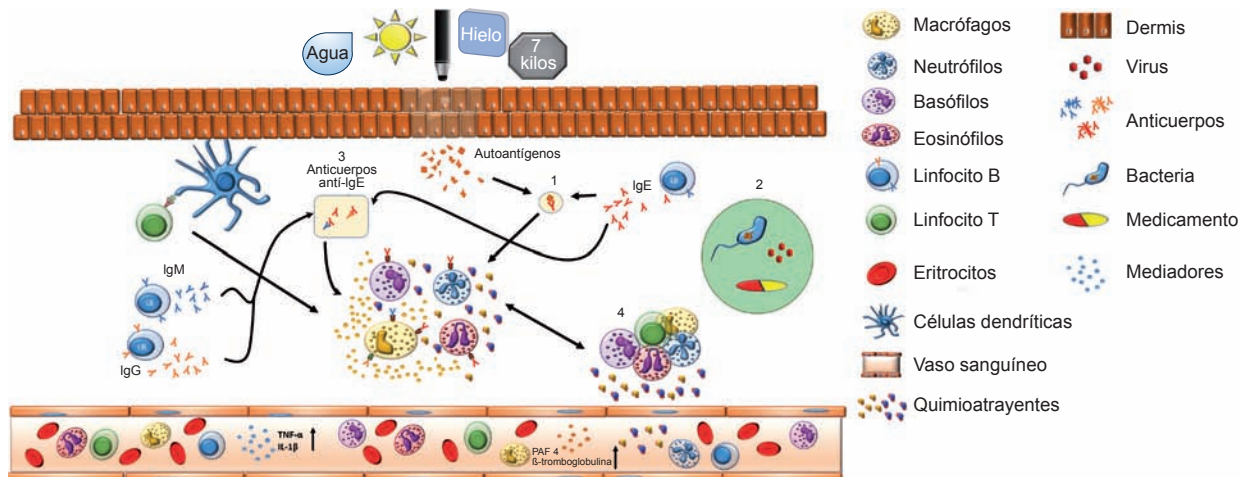
**Caso clínico 1**

Se trata de una mujer de 22 años con un cuadro de habones pruriginosos de más de cuatro años de evolución. La paciente refirió que los habones se presentaban casi a diario en cualquier parte de cuerpo, aunque predominantemente en los brazos, y que al rascarse sentía alivio por unos cuantos minutos, pero menos de 5 minutos después el prurito aumentaba y se formaban lesiones elevadas “como si me hubieran golpeado con una correa delgadita”.

Señaló que con el uso de antihistamínicos se calmaba el prurito, pero persistía la presencia de los habones al rascarse o frotarse contra alguna superficie, lo que la llevó a suponer que tenía alergia a telas, colorantes, maquillajes y otras muchas sustancias. Se le hizo la prueba de provocación (fricción con un objeto romo tres veces en la cara anterior del antebrazo), la cual resultó positiva para urticaria dermatográfica. Se le aclaró la información sobre su condición, enfatizando las medidas de evitación, con lo cual se logró el control total del prurito y la mejoría de los habones, aunque estos siguieron presentándose de forma aislada (figura 2).

**Cuadro 1.** Tipos de urticaria crónica. Clasificación de la urticaria crónica propuesta por la *World Allergy Organization*, la *European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, la *Global Allergy and Asthma European Network* y el *European Dermatology Forum*

Urticaria crónica espontánea	Urticaria inducible
Aparición espontánea de habones, de angioedema o de ambos, que persiste por más de seis semanas sin un factor detonante externo conocido	Dermografismo sintomático Urticaria por contacto con el frío Urticaria por presión retardada Urticaria solar Urticaria por calor Angioedema por vibración Urticaria colinérgica Urticaria por contacto Urticaria acuagénica



**Figura 1.** Mecanismos fisiopatológicos propuestos

- 1- En el caso de la urticaria dermatográfica, la fricción de la piel puede liberar autoantígenos que son reconocidos por anticuerpos IgE capaces de desencadenar una reacción inmunológica.
- 2- Diferentes tipos de urticarias se han asociado con la presencia de ciertas infecciones, como las producidas por el virus de Epstein-Barr y *Helicobacter pylori*, así como con el uso de medicamentos como la progesterona o la atorvastatina.
- 3- En la urticaria por contacto con el frío, se han encontrado reacciones de autoanticuerpos IgM e IgG contra la IgE y sus receptores de alta afinidad, FcεRI.
- 4- En los diferentes tipos de urticaria se ha podido observar un incremento de histamina, de IL-1β, TNF-α, PAF 4, y β-tromboglobulina, entre otros, lo que resulta en leucocitosis y genera un ambiente propicio para las inflamaciones.





**Figura 2.** Urticaria dermatográfica. En los pacientes con urticaria dermatográfica los habones se presentan con roces que no necesariamente son fuertes y, además de ser protuberantes, son bastante pruriginosos.

Fotografía tomada en la IPS Universitaria, Universidad de Antioquia. Reproducida con permiso del paciente.

### **Dermografismo sintomático**

La expresión ‘dermografismo sintomático’ significa “escribir en la piel” y la condición que describe también se denomina urticaria facticia o urticaria dermatográfica. Constituye la urticaria inducida más frecuente (30 a 50 % de los casos de urticaria inducida) (3,4); su duración promedio es de 6,5 años y afecta principalmente a adultos jóvenes. Se caracteriza por la aparición de prurito y edema ante cualquier roce mínimo en la piel. Se la debe diferenciar del dermografismo simple, ya que este no ocasiona prurito, suele durar menos de 10 minutos luego del estímulo y se presenta en el 20 % de la población.

Para la prueba se utiliza algún objeto romo que no cause daño (una espátula de madera, un bolígrafo con la punta cerrada) o un dermografómetro, instrumento diseñado para este fin (4,5), con el cual se aplica un estímulo de fricción sobre la piel de la persona mediante presiones definidas y reproducibles. El instrumento tiene una punta de acero liso de resorte de 0,9 mm de diámetro y la presión en la punta se puede variar girando un tornillo en la parte superior; los ajustes de escala de 0 a 15 son equivalentes a un rango de presión de la punta de 20 a 160 g/mm<sup>2</sup>. La prueba se hace aplicando una presión perpendicular en la piel de la cara anterior del antebrazo y se considera positiva si se forman habones pruriginosos en el sitio de la fricción. La reacción debe constatarse a los 10 minutos. La superficie de la piel donde se aplica la fricción debe estar íntegra y libre de infecciones y el paciente no debe haber consumido

antihistamínicos durante la semana previa a la prueba, ya que la vida media de algunos fármacos es prolongada (6,7).

Los mecanismos fisiopatológicos de la enfermedad son desconocidos. Se ha postulado una asociación con ciertos medicamentos (progesterona, atorvastatina), con infecciones (hepatitis, infecciones respiratorias y dentales) y con enfermedades sistémicas (diabetes mellitus), pero la evidencia es circunstancial y no se han hecho ensayos controlados (8). Otro mecanismo propuesto es la presencia de anticuerpos IgE específicos para alérgenos generados por la exposición de la piel a la fricción. En un estudio sobre transferencia pasiva (mediada por IgE), se han demostrado niveles elevados de histamina después de las pruebas de provocación en pacientes con dermografismo (9).

El objetivo del tratamiento es eliminar los síntomas, para lo cual es necesario evitar los estímulos desencadenantes. Los antihistamínicos de segunda generación son el tratamiento farmacológico de primera línea y, cuando la dosis convencional no es suficiente, puede ser necesario aumentarla hasta cuatro veces. En varios ensayos controlados se ha comparado el efecto de diversos antihistamínicos con resultados heterogéneos, por lo que no es posible afirmar que un antihistamínico en particular sea superior a otro, además de que, en gran medida, la reacción parece depender de las características de cada paciente.

En los pacientes que no mejoran con las medidas de evitación y el uso de antihistamínicos, se han propuesto otros tratamientos con ciclosporina, montelukast y omalizumab (10). Metz, *et al.*, reportaron, en el 2011, el primer estudio de serie de casos de urticaria inducible tratada con omalizumab, con resultados satisfactorios (11). Sin embargo, todavía no se han hecho ensayos controlados para evaluar tratamientos diferentes a los antihistamínicos.

### **Caso clínico 2**

Se trata de una mujer de 18 años que presentaba un cuadro de habones pruriginosos desde hacía tres años, los cuales aparecían en cualquier parte del cuerpo, aunque más frecuentemente en la cadera y en los hombros. La paciente refería que otro punto frecuente eran los muslos y los antebrazos, y que los habones eran, por lo general, simétricos.

Se le hizo la prueba de provocación para urticarias físicas, la cual resultó positiva para la presión luego de 20 minutos de cargar un peso de 7 kg. La

paciente trabajaba como oficinista y los lugares en los que aparecían lesiones frecuentes en brazos y piernas correspondían a los puntos de presión en el escritorio donde laboraba.

Con las medidas de evitación (ropa holgada, cambio de escritorio de trabajo), notó una reducción significativa del cuadro e, incluso, suspendió el uso de antihistamínicos de forma regular y solo los tomaba en caso de exacerbaciones (menos de una vez al mes) (figura 3).

### **Urticaria por presión**

Esta condición se caracteriza por la aparición de angioedema, normalmente en el área expuesta a la presión, y no tanto de habones. El edema producido por la presión puede aparecer acompañado de prurito, ardor o dolor y síntomas sistémicos como malestar y artralgias, lo que compromete de manera notable la calidad de vida de los afectados y limita las actividades diarias (3). Se ha observado, además, el aumento de reactantes de fase aguda (eritrosedimentación y proteína C reactiva, así como leucocitosis). Los hombres se ven afectados dos veces más que las mujeres y la edad de mayor incidencia es alrededor de los 30 años (12).



**Figura 3.** Urticaria por presión. La imagen muestra el caso de una niña con urticaria por presión cuyas lesiones aparecen al dormir de medio lado. Fotografía tomada en la IPS Universitaria, Universidad de Antioquia. Reproducida con permiso de la paciente.

Las situaciones que normalmente desencadenan los síntomas son cargar bolsos en los hombros, caminar con calzado apretado o permanecer sentado en sillas no acolchadas. Los síntomas suelen aparecer a los pocos minutos (<30 minutos), pero también, entre cuatro y ocho horas después del estímulo, y persistir durante varias horas, en ocasiones más de 24 horas. La condición se presenta concomitantemente con la urticaria crónica espontánea hasta en 30 % de los pacientes (13) y su duración promedio es de 6 a 9 años.

La fisiopatología exacta de la enfermedad no se conoce; sin embargo, se ha propuesto que los mastocitos y la histamina intervienen por medio de mecanismos no inmunológicos, es decir, la degranulación no específica de los mediadores de los mastocitos. Además, entre los pacientes afectados se ha observado un incremento del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y de la interleucina 1-beta (IL-1 $\beta$ ) en suero y en las capas basales de la epidermis no afectada. También, se ha sugerido que los derivados del ácido araquidónico están implicados, pero esto no se ha podido comprobar (12,14). También, se han asociado otros neuropéptidos, como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina. Además, en los afectados se han encontrado niveles elevados del factor plaquetario 4 y de la  $\beta$ -tromboglobulina comparados con los de sujetos de control (15).

En cuanto a la histopatología, en las primeras fases se ha reportado una reacción con edema de la dermis, dilatación de capilares y vasos linfáticos, e infiltrado perivascular de neutrófilos y eosinófilos. En la fase tardía se ha observado infiltrado mononuclear con eosinófilos, mastocitos, macrófagos y células T CD4<sup>+</sup> e interleucina-5 (IL-5) (16,17).

Hay varias formas de hacer las pruebas diagnósticas; la más utilizada es colgar un peso de 7 kg (o 10 % del peso corporal total del paciente) en el hombro durante 10 a 15 minutos. Se evalúa la aparición de una reacción del tipo del habón en diferentes periodos (de 30 minutos hasta 24 horas después del estímulo). Si se forma un habón pruriginoso o que produce ardor, la prueba se considera positiva (3).

El manejo de esta enfermedad puede ser difícil, pues frecuentemente no mejora con los antihistamínicos. Los antagonistas de leucotrienos han demostrado su efectividad en el tratamiento según un estudio

de asignación aleatoria en 36 pacientes distribuidos en tres grupos: desloratadina más placebo, desloratadina más montelukast y placebo solo. En los pacientes de los grupos activos se evidenció una reducción significativa en la formación de habones, comparados con el grupo tratado con placebo, y en el grupo que recibió el montelukast la mejoría fue significativamente superior a la de quienes recibieron desloratadina sola (18).

En algunos artículos se propone que la coexistencia de la urticaria por presión y la urticaria crónica espontánea, es un factor de mal pronóstico en cuanto a la gravedad y la duración de la enfermedad. Con base en algunos reportes de casos se ha sugerido que el omalizumab es eficaz para el tratamiento de esta condición; sin embargo, no hay ensayos controlados que sustenten su recomendación, al igual que la de otros medicamentos como la dapsona, la cloroquina, la sulfasalazina, la inmunoglobulina intravenosa y los agentes anti-TNF, cuyos resultados son controversiales (19-21).

### Caso clínico 3

Se trata de una mujer de 26 años que presentaba habones pruriginosos desde hacía un año. La paciente refería que se presentaban de forma esporádica en el transcurso del día, pero que su aparición era constante en la mañana durante el baño. Señalaba que en varias ocasiones, al bañarse en ríos o piscinas, había presentado un brote generalizado y dificultad respiratoria leve. La paciente no refería haber tenido angioedema con el consumo de bebidas frías. El uso de antihistamínicos redujo la aparición de los síntomas, aunque seguían apareciendo durante el baño pero de forma más leve.

En las pruebas cutáneas de provocación para urticarias físicas, la paciente reaccionó al estímulo con agua a temperatura ambiente (22-24 °C) después de 15 minutos de exposición. Se le dieron las recomendaciones de evitación, y se le explicó que debía bañarse exponiéndose al agua durante lapsos cortos (menos de tres minutos) y por segmentos corporales (brazos, tórax, miembros inferiores, etc.), para evitar así la exposición de superficies corporales más extensas al agua. No se restringió el uso de jabones o sales. Con estas medidas y el uso de antihistamínicos, la paciente no volvió a presentar dificultad respiratoria y las recaídas cutáneas sucedían solo ocasionalmente, cuando se exponía mucho al agua, por ejemplo, “si me moja la lluvia en la calle y estoy sin paraguas” (figura 4).



**Figura 4.** Urticaria acuagénica. Paciente a quien se expuso al contacto de una toalla húmeda durante 20 minutos. Fotografía tomada en la IPS Universitaria, Universidad de Antioquia. Reproducida con permiso del paciente

### Urticaria acuagénica

Como su nombre lo indica, se produce por contacto directo con el agua y debe diferenciarse de otras formas de urticaria inducible, como la colinérgica y la inducida por contacto con el frío. Esta condición fue descrita por primera vez por Shelley y Rawnsley en 1964 (22). Es una condición rara y son muy pocos los casos descritos. Afecta un poco más a las mujeres, especialmente después de la pubertad, y se ha reportado su asociación con antecedentes familiares: según un reporte, tres generaciones de una misma familia se vieron afectadas (23). Los habones aparecen rápidamente después del contacto con el agua, independientemente de su temperatura, y el tiempo necesario de exposición es variable.

Las lesiones características son habones pequeños, puntiformes, de 1 a 3 mm, predominantemente perifoliculares, que pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo, aunque no suelen afectar las palmas de las manos ni las plantas de los pies. En apariencia, los habones son indistinguibles de los causados por la urticaria colinérgica. En un paciente se reportó la aparición de habones después de la exposición al agua del grifo, a la nieve y a la sudoración, pero no así al agua de mar, lo que llevaría a pensar que la salinidad puede ser importante para evitarla (24). Los habones aparecen 20 o 30 minutos después de la exposición al agua y, aunque los síntomas sistémicos son raros, sí se han descrito. La exposición repetida puede llevar a la depleción de los mediadores (mecanismo de desensibilización) y a la disminución en la formación de habones.



Se sabe muy poco sobre la patogénesis de la enfermedad. Shelley y Rawnsley propusieron que el agua interactuaba con el sebo para formar una sustancia capaz de causar la degranulación de los mastocitos (22). En su estudio, Chalamidas y Charles describieron un caso en el que los parches de sudor y sebo causaron considerable urticaria en el sujeto evaluado (25) y, posteriormente, Czarnetzki, *et al.*, propusieron que el agua actuaría como un transportador que favorecería la entrada de antígenos (26), mientras que otros autores han propuesto que el agua hipotónica podría desencadenar cambios en la presión coloido-osmótica e, indirectamente, provocar urticaria. Se ha propuesto, además, que la reacción con el agua sería una reacción colinérgica debido a la capacidad de la escopolamina de inhibir la formación de habones cuando se aplica en la piel antes del contacto con el agua (27). Ha sido difícil reproducir este conjunto de hipótesis en medios controlados, por lo que hasta el momento ninguna ha podido explicar de manera exclusiva el mecanismo o los mecanismos subyacentes de la enfermedad.

El tratamiento incluye el uso de antihistamínicos, aunque el éxito es variable. Otra intervención consiste en evitar la inmersión en piscinas, ríos y lagos, pues esto incrementa el riesgo de presentar reacciones sistémicas como la anafilaxia. Otros medicamentos utilizados son el propranolol en dosis de 10 a 40 mg por día, los andrógenos atenuados, como el estanozolol, la fototerapia ultravioleta B (UVB), y la fotoquimioterapia (28,29).

#### Caso clínico 4

Se trata de una mujer de 32 años que desde hacía cuatro presentaba un cuadro de habones localizados o migratorios que podían aparecer en cualquier parte del cuerpo. Durante la primera consulta en Alergología la paciente refirió que los habones aparecían repetidamente en las manos cuando sacaba productos de la nevera, y que en dos ocasiones había presentado brote en las extremidades y el tórax al entrar a habitaciones con aire acondicionado. Aunque no ocurría siempre, generalmente cuando visitaba regiones frías notaba un empeoramiento de su condición, por lo que evitaba viajar y consumir productos fríos, con lo cual había conseguido la remisión de los síntomas en los tres meses previos sin necesidad de antihistamínicos, a pesar de las recomendaciones médicas de continuar el tratamiento para evitar cuadros graves en caso de exposiciones inesperadas.

Se decidió hacer la prueba cutánea de provocación para urticaria inducible y se observó la formación de un habón con la exposición a un cubo de hielo después de 4 a 5 minutos. La paciente toleró la exposición al agua a temperatura ambiente y a los otros estímulos físicos probados (calor, dermografismo, presión, ejercicio).

#### Urticaria por contacto con el frío

En esta condición, aparecen edemas o habones después del contacto de la piel con un estímulo frío. Los síntomas ocurren pocos minutos después de dicho contacto (con aire frío, líquidos fríos, etc.) y, generalmente, se restringen al área de piel expuesta, aunque en ocasiones incluso el contacto limitado durante poco tiempo puede llevar a reacciones sistémicas, incluida la anafilaxia, como se ha descrito en algunas series de casos (4,30-32).

La enfermedad puede presentarse en cualquier edad, pero predomina en adultos jóvenes y mujeres, y su duración promedio es de 4 a 7 años. Hasta 30 % de estas urticarias inducibles se debe al frío, y sus mecanismos subyacentes son los que mejor se conocen (33).

Otros síndromes descritos son las condiciones hereditarias (autosómicas dominantes), entre las que se encuentran la urticaria tardía familiar por contacto con el frío, el síndrome autoinflamatorio familiar por frío y la urticaria atípica por contacto con el frío (34). Estas condiciones se deben a una activación del NLRP3 del complejo del inflamosoma debido a una mutación de CIAS1/NLRP3 y a la liberación de IL-1 $\beta$  (35). El papel central de la IL-1 $\beta$  se demostró por la mejoría notable de estos pacientes con el uso de antagonistas de la IL- $\beta$ , como el canakinumab (36).

En la urticaria adquirida se han encontrado niveles elevados de histamina, del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), de leucotrienos, de prostaglandina D2 y del factor activador de plaquetas (PAF) (37). En un estudio de nueve pacientes se encontraron autoanticuerpos contra la inmunoglobulina E (IgE) o contra el receptor de alta afinidad de la IgE (Fc $\epsilon$ RI), y se postuló que podrían estar involucrados mecanismos autoinmunitarios debido a que, al transferir suero de pacientes a individuos sanos por inyección subcutánea, los sujetos sanos desarrollaron habones (34).

La prueba de provocación con este estímulo se utiliza colocando objetos fríos en la superficie anterior del antebrazo. El método tradicional

consiste en la prueba del cubo de hielo, en la cual debe protegerse la piel de posibles daños por el frío y el cubo de hielo debe estar dentro de una bolsa plástica. El protocolo más utilizado implica un estímulo a una temperatura entre 0 y 4 °C durante cinco minutos. La aparición de habones y eritema, así como de prurito después del recalentamiento de la piel, se considera un resultado positivo. Si la prueba es positiva a los cinco minutos, se puede repetir periódicamente en intervalos de un minuto para identificar el tiempo mínimo requerido para que se presente la reacción. Por el contrario, si la prueba es negativa a los cinco minutos, se puede repetir añadiendo cada vez un minuto hasta un máximo de diez minutos (34). La duración máxima u óptima para excluir la urticaria por contacto con el frío no se ha determinado, pero generalmente la exposición es de 10 minutos como máximo.

Al igual que para todos los tipos de urticaria, el tratamiento de elección son los antihistamínicos de segunda generación (38). No obstante, en algunos casos ha sido necesario aumentar hasta cuatro veces la dosis usual. Otros tratamientos con omalizumab, anakinra o etanercept, así como la desensibilización al frío (baños diarios con agua fría para mantener el efecto protector), se han utilizado con éxito en algunos pacientes (39-42).

Es importante aclarar que, aunque existe cierta controversia al respecto, en varios artículos se recomienda hacer el mayor número de pruebas posibles en los pacientes con urticarias inducidas para identificar los detonantes físicos (el que se sospecha y otros no determinados). Esto, sin embargo, depende de la disponibilidad de los recursos necesarios para las pruebas.

### Caso clínico 5

Esta mujer de 43 años de edad residente en Quibdó laboraba en una finca bananera. Desde hacía tres años presentaba habones en todo el cuerpo, cuya aparición se exacerbaba en el sitio de trabajo y durante las actividades físicas. En el ambiente laboral la paciente estaba expuesta a altas temperaturas y debía usar ropa y botas protectoras.

Se le hizo la prueba de provocación para urticarias físicas y resultó positiva en la prueba de ejercicio, durante la cual la paciente presentó un brote generalizado, así como una caída de 20 % registrada con el medidor de flujo pico. La paciente refirió sentir ahogo y dificultad respiratoria, por lo que fue necesario aplicarle 0,5 mg de adrenalina

por vía intramuscular y controlar la anafilaxia hasta que los síntomas cesaron completamente 40 minutos después.

Se le prescribió un tratamiento con la dosis máxima de cetirizina (20 mg cada 12 horas), con el cual pudo tolerar las actividades físicas, incluso asistir al gimnasio, y se la envió a valoración por medicina ocupacional, después de lo cual fue reubicada en otro trabajo con la consecuente mejoría de los síntomas (figura 5).

### Urticaria colinérgica

Se caracteriza por la aparición de habones y prurito frente al aumento de la temperatura corporal, ya sea de forma activa (ejercicio) o pasiva (baño con agua caliente) (43). Dado que está asociada al aumento de la temperatura, no está claro si es una condición diferente a la urticaria por calor o por ejercicio. El angioedema es raro y suelen presentarse lesiones micropapulares entre 15 a 60 minutos después del aumento de la temperatura, generalmente en la fase de reposo. La atopia y la hiperreactividad bronquial se han asociado a la condición, y algunos pacientes pueden presentar hipohidrosis (44,45).

En algunas series de casos, se ha estimado que representa el 30 % de las urticarias inducibles y que afecta a 5 % de los pacientes con urticaria crónica. La enfermedad aparece comúnmente en la segunda o tercera década de la vida, es más frecuente en hombres y se han reportado casos de afectación familiar (45).



**Figura 5.** Urticaria colinérgica. El aumento de la temperatura corporal resulta en un brote micropapular pruriginoso. Fotografía tomada en la IPS Universitaria, Universidad de Antioquia. Reproducida con permiso de la paciente



El estrés emocional, y las bebidas y los alimentos calientes o picantes, también se han determinado como desencadenantes de los habones en estos pacientes.

La manifestación clásica es la aparición de habones puntiformes con una zona grande de eritema alrededor, y sensación de hormigueo, picazón o ardor antes de que estos aparezcan, normalmente en el tronco y el cuello, para luego extenderse distalmente a la cara y las extremidades. En los casos graves, la urticaria se puede acompañar de hipotensión, angioedema y broncoespasmo.

Varias hipótesis se han propuesto sobre el mecanismo fisiopatológico de la condición y todas apuntan al sistema nervioso colinérgico. En los pacientes con urticaria colinérgica, la inyección de metacolina intradérmica produce urticaria, la cual se revierte con la administración de atropina, y se ha observado un número elevado de receptores muscarínicos en los mastocitos (46). Otra hipótesis sugiere que podría existir un componente inmunológico contra el sudor con la producción de anticuerpos IgE, lo cual se ha podido comprobar por la reacción cutánea que ocurre en estos pacientes con la inyección de su propio sudor diluido (47). En algunos estudios japoneses se ha clasificado la urticaria colinérgica en cuatro grupos: urticaria colinérgica con oclusión de poros, urticaria colinérgica con hipohidrosis, urticaria colinérgica con alergia contra el sudor y urticaria colinérgica idiopática (48).

Debido al gran número de falsos positivos que resultan al hacer la prueba del sudor, el método más utilizado hoy para hacer el diagnóstico es una prueba de ejercicio, que puede hacerse en bicicleta estática o en una banda sinfín. La prueba se prolonga hasta desencadenar la sudoración en el paciente o aumentar en un 1 °C su temperatura, y se continúa por 15 minutos más. Se considera que el resultado es positivo si aparecen habones pruriginosos después de diez minutos de haber suspendido el estímulo, o durante la prueba. Si una prueba de provocación es positiva, se debe hacer una prueba pasiva, que consiste en un baño con agua caliente a 42 °C durante 15 minutos hasta registrar un aumento de la temperatura corporal en por lo menos 1 °C, esto para diferenciarla de la urticaria inducida por el ejercicio (3).

En la prueba de provocación se debe tener precaución con los pacientes que tienen condiciones cardíacas de base, y debe recalcarse que no es

necesario llevar al paciente a un esfuerzo máximo, ya que con un estímulo leve o moderado se logra el aumento de la temperatura y la sudoración de manera segura. Antes de las pruebas, deben marcarse las lesiones preexistentes en la piel (pápulas de acné, entre otras).

La determinación y la evitación de los detonantes conocidos constituyen el primer paso para controlar la urticaria colinérgica. Los antihistamínicos son los agentes de elección, preferiblemente los de segunda generación debido a su mayor seguridad. En algunos estudios se ha demostrado la efectividad clínica de la cetirizina. Otros autores sugieren que, cuando los antihistamínicos H<sub>1</sub> de segunda generación no surten efecto, debe emplearse la hidroxicina, cuya eficacia es reconocida, aunque con efectos adversos frecuentes, especialmente la sedación (2,49). Otros tratamientos probados con relativo éxito en algunos casos incluyen el uso de escopolamina, omalizumab y danazol, que por sus efectos adversos solo deben considerarse en casos resistentes, y siempre y cuando la legislación vigente permita su uso, pues la escopolamina, por ejemplo, es ilegal en varios países (50-52).

### Caso clínico 6

Un obrero de la construcción de 23 años de edad consultó por un cuadro clínico de ocho años de evolución consistente en la formación de habones en todo el cuerpo, pero, especialmente, en las extremidades superiores. El paciente relató que las lesiones desaparecían durante varios meses, incluso años, y volvían a aparecer por temporadas.

Señaló que en el momento de la consulta llevaba cuatro meses con el compromiso cutáneo. Al interrogarlo sobre sus actividades en la construcción, dijo ocuparse del manejo de una perforadora que, en ocasiones, no podía seguir accionando por la aparición de habones y edema en sus manos minutos después de iniciar la actividad.

Se le hizo la prueba de provocación de urticarias físicas por vibración, utilizando un mezclador de vórtice durante diez minutos; se le pidió que apoyara la mano sobre este y se observó una reacción positiva a los pocos minutos. A los 30 minutos se observó que los habones y el brote micropapular se extendían por toda la mano, el antebrazo y el brazo. El paciente requirió reubicación laboral y reportó una mejoría casi completa, sin necesidad de usar antihistamínicos de forma continua.

**Cuadro 2.** Pruebas para el diagnóstico de urticarias inducibles

Trastorno	Estímulo desencadenante	Prueba diagnóstica	Tratamiento
Dermografismo sintomático	Rascado, presión, frote	Fricción moderada en la piel con un objeto romo o con un dermatógrafo	Evitar la fricción, antihistamínicos de segunda generación (hasta cuatro veces la dosis habitual)
Urticaria por presión	Aplicación de presión entre 15 minutos y 12 horas antes del inicio de los síntomas	Colocar objetos sobre el brazo o el hombro durante 15 minutos (peso de 7,5 kg o 10 % del peso del paciente)	Evitar la presión en zonas de contacto (pretina del pantalón, ropa ajustada, etc.) Uso de antihistamínicos de segunda generación hasta cuatro veces la dosis usual y 10 mg/día de montelukast. ¿Omalizumab?
Urticaria colinérgica	Aumento de la temperatura corporal (ejercicio, agua caliente, estrés emocional, alimentos calientes o picantes) Puede cursar con síntomas sistémicos (urticaria generalizada, disnea o broncoespasmo, pérdida de conciencia o anafilaxia).	Ejercicio en bicicleta estática o banda sinfín hasta el punto de sudoración y continuar por 15 minutos. Si la prueba es positiva, dar baño con agua caliente a 42 °C para elevar la temperatura corporal en al menos 1 °C	Antihistamínicos de segunda generación (hasta cuatro veces la dosis usual) Uso de hidroxicina en casos resistentes Desensibilización (inducción de tolerancia parcial) ¿Omalizumab?
Urticaria por contacto con el frío	Exposición de la piel al aire frío, líquidos fríos y objetos fríos. Puede cursar con síntomas sistémicos (urticaria generalizada, disnea o broncoespasmo, pérdida de conciencia o anafilaxia).	Prueba del cubo de hielo: cubrir un cubo de hielo con una bolsa plástica y aplicarlo sobre la piel por 5 minutos. Si es negativa, aumentar el tiempo de exposición hasta 10 minutos con intervalos de un minuto	Evitar inmersión en piscinas y lagos, y consumo de bebidas y alimentos fríos. Uso de antihistamínicos de segunda generación (hasta cuatro veces la dosis usual) Descartar síndromes autoinflamatorios y crioglobulinemias secundarias
Urticaria acuagénica	Exposición de la piel al agua a cualquier temperatura. El grado de salinidad del agua puede ser importante. Puede cursar con síntomas sistémicos (urticaria generalizada, disnea o broncoespasmo, pérdida de conciencia o anafilaxia).	Aplicación de compresas de agua a 35 °C en la parte superior del cuerpo durante 30 minutos	Evitar la exposición prolongada (más de 10 minutos) Baño por segmentos corporales y de corta duración (brazos, tórax, miembros inferiores) Evitar piscinas, lagos, etc. Uso de antihistamínicos de segunda generación (hasta cuatro veces la dosis usual)
Angioedema por vibración	Cortar el césped, montar en motocicleta, paseos a caballo, bicicleta de montaña, exposición a la vibración de maquinaria	Sostener un mezclador de vórtice contra la piel durante 10 minutos	Evitar el estímulo o actividad desencadenante (manejo de máquinas, conducción de motocicleta, etc.) Uso de antihistamínicos de segunda generación (hasta cuatro veces la dosis usual)

### Angioedema por vibración

El angioedema por vibración (urticaria vibratoria) consiste en la aparición de prurito y edema después de la aplicación de un estímulo vibratorio en la piel. Esta condición fue descrita por Patterson, *et al.*, por primera vez en 1972 (53), pero los reportes de casos son escasos y, generalmente, se relacionan con la ocupación del paciente (54).

Comúnmente, el angioedema vibratorio se desencadena al cortar el césped, viajar en motocicleta, y montar a caballo o en bicicleta de montaña.

Las profesiones de mayor riesgo incluyen la de operador de martillo neumático, la de mecánico y la de carpintero, así como las labores con moledoras de metal.

Los pacientes se quejan de prurito, generalmente local, eritema e hinchazón a los pocos minutos de la exposición a la vibración, pero también, hay pacientes con cuadros sistémicos. Los síntomas tienen mayor intensidad a las 4 o 6 horas de exposición y desaparece en menos de 24 horas.

Todavía no se tiene claro cuál es la patogenia de esta urticaria. Se ha demostrado que se produce una elevación de la histamina y degranulación de mastocitos, pero los ensayos de transferencia pasiva han sido negativos. La mayoría de los autores están a favor de un mecanismo de hipersensibilidad no inmunológica. La estimulación directa por la vibración podría llevar a la degranulación y liberación local de histamina (54).

El diagnóstico se establece aplicando un estímulo vibratorio intenso (normalmente con un mezclador de vórtice o una silla de masajes) sobre el antebrazo durante diez minutos y manteniendo el área evaluada bajo observación durante 4 a 6 horas. La prueba se considera positiva si el área se torna eritematosa, pruriginosa y edematosa alrededor de la circunferencia del antebrazo (4,5). Sin embargo, a diferencia de las otras pruebas para urticaria inducida, que son muy confiables, en un estudio se evaluó este estímulo en sujetos sanos y se encontró una reacción similar en siete de los 20 evaluados (55).

El tratamiento de elección es la evitación de estos estímulos, aunque para algunas personas esto no es factible debido a su profesión. El tratamiento de los síntomas se hace con antihistamínicos, aunque los resultados no siempre son satisfactorios (56,57).

En el cuadro 2 se resumen los estímulos desencadenantes y las pruebas que se sugieren para el diagnóstico de las urticarias inducibles.

### Conclusión

Las urticarias inducibles tienen un gran impacto en la población afectada. En esta revisión se ofrece una actualización práctica para su diagnóstico. La mayoría de estas urticarias pueden ser detectadas por el médico de atención primaria y, en algunos casos, las pruebas confirmatorias pueden hacerse durante la consulta (por ejemplo, para la urticaria dermatográfica). Sin embargo, en los casos graves con antecedentes de reacción sistémica, como la anafilaxia (especialmente en la urticaria por contacto con el frío y en la urticaria colinérgica), es recomendable remitir al paciente a un médico especializado en el tema que cuente con las herramientas necesarias para el manejo de las reacciones adversas durante las pruebas de provocación. Es importante indicar a los pacientes que estas urticarias se presentan usualmente en los sitios de contacto, pero que puede darse el caso de una reacción generalizada.

### Conflicto de intereses

Declaramos no tener conflicto de intereses.

### Financiación

No recibimos financiación para la elaboración de este manuscrito.

### Referencias

1. Zuberbier T, Aberer W, Asero R, Bindslev-Jensen C, Brzoza Z, Canonica GW, *et al.* The EAACI/GA(2)LEN/EDF/WAO Guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria: The 2013 revision and update. *Allergy*. 2014;69:868-87. <http://dx.doi.org/10.1111/all.12313>
2. Bernstein JA, Lang DM, Khan DA, Craig T, Dreyfus D, Hsieh F, *et al.* The diagnosis and management of acute and chronic urticaria: 2014 update. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133:1270-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2014>
3. Abajian M, Schoepke N, Altrichter S, Zuberbier T, Zuberbier HC, Maurer M. Physical urticarias and cholinergic urticaria. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014;34:73-88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.iac.2013.09.010>
4. Magerl M, Borzova E, Giménez-Arnau A, Grattan CE, Lawlor F, Mathelier-Fusade P, *et al.* The definition and diagnostic testing of physical and cholinergic urticarias--EAACI/GA2LEN/EDF/UNEV consensus panel recommendations. *Allergy*. 2009;64:1715-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2009.02177.x>
5. Mlynek A, Vieira dos Santos R, Ardelean E, Weller K, Magerl M, Church MK, *et al.* A novel, simple, validated and reproducible instrument for assessing provocation threshold levels in patients with symptomatic dermatographism. *Clin Exp Dermatol*. 2013;38:360-6. <http://dx.doi.org/10.1111/ced.12107>
6. Heinzerling L, Mari A, Bergmann KC, Bresciani M, Burbach G, Darsow U, *et al.* The skin prick test - European standards. *Clin Transl Allergy*. 2013;3:3. <http://dx.doi.org/10.1186/2045-7022-3-3>
7. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG, *et al.* Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012;67:18-24. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x>
8. Herman-Kideckel SM, Cadesky K, Sussman D, Maclachlan S, Sussman G. Association of dermatographic urticaria with the use of progesterone in cottonseed oil. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2011;106:439-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2011.01.009>
9. Murphy GM, Greaves MW, Zollman PE, Winkelmann RK. Cholinergic urticaria, passive transfer experiments from human to monkey. *Dermatologica*. 1988;177:338-40.
10. Garafalo J, Kaplan AP. Histamine release and therapy of severe dermatographism. *J Allergy Clin Immunol*. 1981;68:103-5. [http://dx.doi.org/10.1016/0091-6749\(81\)90166-4](http://dx.doi.org/10.1016/0091-6749(81)90166-4)
11. Metz M, Altrichter S, Ardelean E, Kessler B, Krause K, Magerl M, *et al.* Anti-immunoglobulin E treatment of patients with recalcitrant physical urticaria. *Int Arch Allergy Immunol*. 2011;154:177-80. <http://dx.doi.org/10.1159/000320233>

12. **Poon E, Seed PT, Greaves MW, Kobza-Black A.** The extent and nature of disability in different urticarial conditions. *Br J Dermatol.* 1999;140: 667-71. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2133.1999.02767.x>
13. **Barlow RJ, Warburton F, Watson K, Black AK, Greaves MW.** Diagnosis and incidence of delayed pressure urticaria in patients with chronic urticaria. *J Am Acad Dermatol.* 1993;29:954-8.
14. **Dover JS, Black AK, Ward AM, Greaves MW.** Delayed pressure urticaria. Clinical features, laboratory investigations, and response to therapy of 44 patients. *J Am Acad Dermatol.* 1988;18:1289-98.
15. **Cassano N, Mastrandrea V, Vestita M, Vena GA.** An overview of delayed pressure urticaria with special emphasis on pathogenesis and treatment. *Dermatol Ther.* 2009;22(Suppl.1):S22-6. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8019.2009.01268.x>
16. **Plager DA, Davis MD, Andrews AG, Coenen MJ, George TJ, Gleich GJ, et al.** Eosinophil ribonucleases and their cutaneous lesion-forming activity. *J Immunol.* 2009;183:4013-20. <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.0900055>
17. **Plager DA, Weiss EA, Kephart GM, Mocharla RM, Matsumoto R, Checkel JL, et al.** Identification of basophils by a mAb directed against pro-major basic protein 1. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:626-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2005.10.023>
18. **Nettis E, Colanardi MC, Soccio AL, Ferrannini A, Vacca A.** Desloratadine in combination with montelukast suppresses the dermographometer challenge test papule, and is effective in the treatment of delayed pressure urticaria: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Dermatol.* 2006;155:1279-82. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2006.07533.x>
19. **Dawn G, Urcelay M, Ah-Weng A, O'Neill SM, Douglas WS.** Effect of high-dose intravenous immunoglobulin in delayed pressure urticaria. *Br J Dermatol.* 2003;149:836-40. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2133.2003.05486.x>
20. **Magerl M, Philipp S, Manasterski M, Friedrich M, Maurer M.** Successful treatment of delayed pressure urticaria with anti-TNF-alpha. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:752-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2006.12.658>
21. **Rodríguez-Rodríguez M, Antolin-Amerigo D, Barbarroja-Escudero J, Sánchez-González MJ, Álvarez-Mon M.** Successful treatment of severe delayed pressure angioedema with omalizumab. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2014;42:78-80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2012.11.001>
22. **Shelley WB, Rawnsley HM.** Aquagenic urticaria. Contact sensitivity to water. *JAMA.* 1964;189:895-8. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.1964.03070120017003>
23. **Treudler R, Tebbe B, Steinhoff M, Orfanos CE.** Familial aquagenic urticaria associated with familial lactose intolerance. *J Am Acad Dermatol.* 2002;47:611-3.
24. **Tkach JR.** Aquagenic urticaria. *Cutis.* 1981;28:454-63.
25. **Chalamidas SL, Charles CR.** Aquagenic urticaria. *Arch Dermatol.* 1971;104:541-6. <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.1971.04000230083015>.
26. **Czarnetzki BM, Bretholt KH, Traupe H.** Evidence that water acts as a carrier for an epidermal antigen in aquagenic urticaria. *J Am Acad Dermatol.* 1986;15 623-7.
27. **Park H, Kim HS, Yoo DS, Kim JW, Kim CW, Kim SS, et al.** Aquagenic urticaria: A report of two cases. *Ann Dermatol.* 2011;23:S371-4. <http://dx.doi.org/10.5021/ad.2011.23.S3.S371>.
28. **Nosbaum A, Pecquet C, Bayrou O, Amsler E, Nicolas JF, Bérand F, et al.** Treatment with propranolol of 6 patients with idiopathic aquagenic pruritus. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128:1113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2011.05.001>
29. **Martínez-Escribano JA, Quecedo E, De la Cuadra J, Frías J, Sánchez-Pedreño P, Aliaga A.** Treatment of aquagenic urticaria with PUVA and astemizole. *J Am Acad Dermatol.* 1997;36:118-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622\(97\)70344-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0190-9622(97)70344-X)
30. **Mathelier-Fusade P, Leynadier F.** Cold urticaria. *Ann Dermatol Venereol.* 1994;121:429-33.
31. **Wanderer AA.** Cold urticaria syndromes: Historical background, diagnostic classification, clinical and laboratory characteristics, pathogenesis, and management. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;85:65-81. [http://dx.doi.org/10.1016/0091-6749\(90\)90037-5](http://dx.doi.org/10.1016/0091-6749(90)90037-5)
32. **Alangari AA, Twarog FJ, Shih MC, Schneider LC.** Clinical features and anaphylaxis in children with cold urticaria. *Pediatrics.* 2004;113:e313-7.
33. **Siebenhaar F, Weller K, Mlynek A, Magerl M, Altrichter S, Vieira Dos Santos R, et al.** Acquired cold urticaria: Clinical picture and update on diagnosis and treatment. *Clin Exp Dermatol.* 2007;32:241-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2230.2007.02376.x>
34. **Sánchez JM, Ramírez RH, Tamayo LM, Chinchilla CF, Cardona R.** Urticaria por frío: serie de casos y revisión del tema. *Biomédica.* 2011;31:168-77. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v31i2.298>
35. **Nakamura Y, Kambe N, Saito M, Nishikomori R, Nishikomori R, Kim YG, et al.** Mast cells mediate neutrophil recruitment and vascular leakage through the NLRP3 inflammasome in histamine-independent urticaria. *J Exp Med.* 2009;206:1037-46. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20082179>
36. **Lachmann HJ, Kone-Paut I, Kuemmerle-Deschner JB, Leslie KS, Hachulla E, Quartier P, et al.** Use of canakinumab in the cryopyrin-associated periodic syndrome. *N Engl J Med.* 2009;360:2416-25. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0810787>
37. **Hermes B, Prochazka AK, Haas N, Jurgovsky K, Sticherling M, Henz BM.** Upregulation of TNF-alpha and IL-3 expression in lesional and uninvolved skin in different types of urticaria. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:307-14.
38. **Weinstein ME, Wolff AH, Bielory L.** Efficacy and tolerability of second- and third-generation antihistamines in the treatment of acquired cold urticaria: A meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2010;104:518-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2010.04.002>
39. **Boyce JA.** Successful treatment of cold-induced urticaria/anaphylaxis with anti-IgE. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;117:1415-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2006.04.003>
40. **Brodská P, Schmid-Grendelmeier P.** Treatment of severe cold contact urticaria with omalizumab: Case reports. *Case Rep Dermatol.* 2012;4:275-80. <http://dx.doi.org/10.1159/000346284>



41. **Bodar EJ, Simon A, de Visser M, van der Meer JW.** Complete remission of severe idiopathic cold urticaria on interleukin-1 receptor antagonist (anakinra). *Neth J Med.* 2009;67:302-5.
42. **Gualdi G, Monari P, Rossi MT, Crotti S, Calzavara-Pinton PG.** Successful treatment of systemic cold contact urticaria with etanercept in a patient with psoriasis. *Br J Dermatol.* 2012;166:1373-4. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10797.x>
43. **Lang DM, Hsieh FH, Bernstein JA.** Contemporary approaches to the diagnosis and management of physical urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2013;111:235-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anai.2013.07.031>
44. **Zuberbier T, Althaus C, Chantraine-Hess S, Czarnetzki BM.** Prevalence of cholinergic urticaria in young adults. *J Am Acad Dermatol.* 1994;31:978-81.
45. **Godse K, Farooqui S, Nadkarni N, Patil S.** Prevalence of cholinergic urticaria in Indian adults. *Indian Dermatol Online J.* 2013;4:62-3. <http://dx.doi.org/10.4103/2229-5178.105493>
46. **Bito T, Sawada Y, Tokura Y.** Pathogenesis of cholinergic urticaria in relation to sweating. *Allergol Int.* 2012;61:539-44. <http://dx.doi.org/10.2332/allergolint.12-RAI-0485>
47. **Takahagi S, Tanaka T, Ishii K, Suzuki H, Kameyoshi Y, Shindo H, et al.** Sweat antigen induces histamine release from basophils of patients with cholinergic urticaria associated with atopic diathesis. *Br J Dermatol.* 2009;160:426-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2008.08862.x>
48. **Kobayashi H, Aiba S, Yamagishi T, Tanita M, Hara M, Saito H, et al.** Cholinergic urticaria, a new pathogenic concept: Hypohidrosis due to interference with the delivery of sweat to the skin surface. *Dermatology.* 2002;204:173-8. <http://dx.doi.org/10.1159/000057877>
49. **Sánchez-Borges M, Caballero-Fonseca F, Capriles-Hulett A.** Treatment of recalcitrant chronic urticaria with non-sedating antihistamines: Is there evidence for up-dosing? *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2013;23:141-4.
50. **La Shell MS, England RW.** Severe refractory cholinergic urticaria treated with danazol. *J Drugs Dermatol.* 2006; 5:664-7.
51. **Sabroe RA.** Failure of omalizumab in cholinergic urticaria. *Clin Exp Dermatol.* 2010;35:e127-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2230.2009.03748.x>
52. **Metz M, Ohanyan T, Church MK, Maurer M.** Retreatment with omalizumab results in rapid remission in chronic spontaneous and inducible urticaria. *JAMA Dermatol.* 2014;150:288-90. <http://dx.doi.org/10.1001/jamadermatol.2013.8705>
53. **Patterson R, Mellies CJ, Blankenship ML, Pruzansky JJ.** Vibratory angioedema: A hereditary type of physical hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 1972;50:174-82. [http://dx.doi.org/10.1016/0091-6749\(72\)90048-6](http://dx.doi.org/10.1016/0091-6749(72)90048-6)
54. **Keahey TM, Indrisano J, Lavker RM, Kaliner MA.** Delayed vibratory angioedema: Insights into pathophysiologic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol.* 1987;80:831-8.
55. **Mathelier-Fusade P, Vermeulen C, Leynadier F.** Vibratory angioedema. *Ann Dermatol Venerol.* 2001;128:750-2.
56. **Pressler A, Grosber M, Halle M, Ring J, Brockow K.** Failure of omalizumab and successful control with ketotifen in a patient with vibratory angio-oedema. *Clin Exp Dermatol.* 2013;38:151-3. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2230.2012.04430.x>
57. **Lawlor F, Black AK, Breathnach AS, Greaves MW.** Vibratory angioedema: Lesion induction, clinical features, laboratory and ultrastructural findings and response to therapy. *Br J Dermatol.* 1989;120:93-9.



## PRESENTACIÓN DE CASO

# Microcalcificaciones cerebrales en un recién nacido con tuberculosis congénita

Yolanda Cifuentes<sup>1</sup>, Martha I. Murcia<sup>2</sup>, Jorge Piar<sup>3</sup>, Patricia Pardo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> División de Neonatología, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Micobacterias, Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Servicio de Pediatría, Instituto Materno Infantil-Hospital La Victoria, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Servicio de Radiología, Instituto Materno Infantil-Hospital La Victoria, Bogotá, D.C., Colombia

La tuberculosis es un problema grave de salud pública a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud estimaba que en el 2012 se habían presentado 8,6 millones de casos nuevos y 1,3 millones de muertes a causa de la enfermedad. En Colombia, la incidencia en 2011 fue de 24 casos por 100.000 habitantes. No hay información sobre la tuberculosis en las mujeres gestantes y la infección congénita se considera una enfermedad rara, de difícil diagnóstico, que genera alta mortalidad y puede confundirse con la adquirida después del nacimiento. La tuberculosis se ha relacionado con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en madres y neonatos.

Por otra parte, los casos de sífilis congénita han aumentado en el mundo y, en Colombia, la prevalencia es de 2,5 casos por 1.000 nacimientos, en tanto que, en el Instituto Materno Infantil-Hospital La Victoria, la frecuencia es de un caso por 57 nacimientos.

Se presenta el caso de un recién nacido en tratamiento para sífilis congénita que presentó microcalcificaciones detectadas en una ecografía transfontanelar, lo que alertó sobre la existencia de otro agente infeccioso. La prueba de PCR fue negativa para citomegalovirus, así como los títulos de IgM para toxoplasma, rubéola y herpes I y II. Dado el antecedente de un tratamiento incompleto para tuberculosis en la mujer gestante, se sospechó la presencia de infección por el bacilo de la tuberculosis. No se encontraron bacilos ácido-alcohol resistentes en tres muestras de jugo gástrico, y la prueba de PCR-*IS6110* fue positiva en líquido cefalorraquídeo y en orina, pero no en sangre. El recién nacido recibió tratamiento con penicilina cristalina durante 10 días, así como con isoniazida, rifampicina, pirazinamida y estreptomina. Actualmente se le hace seguimiento clínico.

**Palabras clave:** recién nacido, tuberculosis, sífilis congénita, ultrasonografía, reacción en cadena de la polimerasa, coinfección.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2509>

### Cerebral microcalcifications in a newborn with congenital tuberculosis

Tuberculosis is a serious public health problem worldwide. In 2012, the World Health Organization estimated 8.6 million new cases and 1.3 million deaths due to the disease. In 2011, the incidence in Colombia was 24 cases per 100,000 inhabitants. There is little information about tuberculosis in pregnant women, and congenital infection is considered a rare disease that is difficult to diagnose, leads to high mortality, and may be confused with tuberculosis acquired after birth. In addition, it has been associated with HIV infection in mothers and infants.

Moreover, there is increasing incidence of congenital syphilis in the world. In Colombia, the prevalence is 2.5 cases per 1,000 births and its frequency in the *Instituto Materno Infantil-Hospital La Victoria* is one case per 57 births.

We report the case of a newborn under treatment for congenital syphilis and in whom microcalcifications were found in a transfontanelar ultrasound. This finding warned about the existence of another infectious agent. PCR was negative for cytomegalovirus, and IgM titers for toxoplasma, rubella and herpes I and II were also negative.

#### Contribución de los autores:

Yolanda Cifuentes: descripción del caso, redacción de resúmenes, introducción y discusión

Jorge Piar: descripción del caso

Martha I. Murcia: procesamiento de la imagen de la PCR y redacción de la sustentación de su utilidad diagnóstica

Patricia Pardo: elaboración de las imágenes de la ecografía e ilustración sobre su uso

After learning about a history of incomplete treatment for tuberculosis in the mother, we suspected the presence of an infection by the tubercle bacillus in the newborn. No acid-fast bacilli were demonstrated in three gastric juice samples. The IS6110 PCR assay was found positive in cerebrospinal fluid and urine, but not in blood. The newborn was treated with crystalline penicillin for 10 days along with isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and streptomycin. The patient is currently under clinical monitoring.

**Key words:** Infant, newborn; tuberculosis, syphilis, congenital; ultrasonography, polymerase chain reaction, coinfection.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2509>

La tuberculosis continúa siendo un grave problema de salud pública en el mundo. La Organización Mundial de la Salud estimaba que en el 2012 se habían presentado 8,6 millones de casos nuevos y 1,3 millones de muertes a causa de la enfermedad (1). Según el Ministerio de Salud, en el 2011, la incidencia en Colombia fue de 24 casos por 100.000 habitantes y, en la población indígena, de 61 casos por 100.000 habitantes; alrededor de 3 % de los casos se reportaron en menores de cinco años (2).

No existe información sobre la infección por el bacilo de la tuberculosis en las mujeres gestantes, y la infección congénita se ha considerado una enfermedad rara, difícil de diagnosticar, que genera mortalidad elevada y puede confundirse con la adquirida después del nacimiento; la enfermedad se ha asociado con la infección por el HIV en madres y neonatos (3).

No hay evidencia de que la gestación tenga un efecto adverso sobre la tuberculosis ni que constituya un factor de riesgo para su desarrollo; sin embargo, el parto es un momento crítico para investigar a las mujeres gestantes en situación de riesgo de contraer la enfermedad (4), pues, al menos, tres cuartas partes de las madres de neonatos con tuberculosis congénita adquieren la infección tuberculosa primaria durante su gestación y su diagnóstico se hace después del parto, cuando se diagnostica la tuberculosis congénita en los recién nacidos (5).

Los recién nacidos hijos de madres con tuberculosis, tienen más riesgo de ser prematuros, de presentar limitaciones en su crecimiento y de morir;

estos efectos adversos pueden modificarse con el diagnóstico y el tratamiento tempranos en la mujer gestante (6).

La infección congénita y la posnatal temprana tienen manifestaciones y pronóstico similares y, en ocasiones, es difícil distinguir una de otra, por lo que se ha sugerido utilizar el término perinatal que abarca a las dos (7).

Según Cantwell, se considera que un caso se trata de tuberculosis congénita cuando se cumple, al menos, una de las siguientes condiciones: a) lesiones tuberculosas detectadas en la primera semana de vida; b) demostración del complejo primario hepático o de granulomas hepáticos caseosos; c) confirmación de tuberculosis en la placenta o en el aparato genital femenino materno, y d) exclusión de transmisión posnatal (8).

En la mujer gestante, la bacilemia tuberculosa puede ocasionar infección de la placenta o del aparato genital materno, por lo tanto, la infección fetal puede darse por vía hematogena, por aspiración o ingestión del líquido amniótico contaminado, o por contacto directo cuando el feto atraviesa el canal del parto (8).

En el recién nacido las manifestaciones clínicas pueden presentarse alrededor del vigésimo día de vida; las más frecuentes son la hepatomegalia, la esplenomegalia, o ambas, presentes en 65,6 %, la fiebre en 64,4 %, la dificultad respiratoria en 63,8 %, la letargia o la irritabilidad en 39,7 % y la tos en 35,5 % de los casos. Los hallazgos de laboratorio se confunden con los ocasionados por una sepsis de origen bacteriano común, hay leucocitosis con predominio de neutrófilos y salida de formas jóvenes, trombocitopenia y aumento de la proteína C reactiva.

La radiografía de tórax es anormal en la mayoría de los casos (93 %), y los hallazgos más frecuentes incluyen tuberculosis miliar, presencia de nódulos, neumonía lobar, intersticial o bronconeumonía (5). El lavado bronquial es útil para recolectar muestras

Correspondencia:

Yolanda Cifuentes, División de Neonatología, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 10 N° 1-66 sur, piso 4, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (310) 697 5064  
mycifuentesd@unal.edu.co

Recibido: 21/08/14; aceptado: 08/09/15

para el diagnóstico cuando hay compromiso pulmonar. La prueba de la tuberculosis en el neonato suele ser negativa.

El diagnóstico definitivo de la tuberculosis implica demostrar la presencia de *Mycobacterium tuberculosis*; la PCR permite el diagnóstico directo a partir de muestras clínicas y es un método de laboratorio rápido y sensible (9,10) que, con el cultivo, es el método diagnóstico de referencia y constituye una forma segura de detectar el bacilo. En la mayoría de los estudios se ha utilizado como blanco de la PCR la secuencia de inserción IS6110, presente en múltiples copias en el genoma de la mayoría de las cepas de *M. tuberculosis* (9).

Para el tratamiento de los recién nacidos con tuberculosis se utilizan 10 a 15 mg/kg por día de isoniacida, 10 a 20 mg/kg por día de rifampicina, 15 a 30 mg/kg por día de pirazinamida y 20 a 30 mg/kg por día de estreptomina o 15 a 25 mg/kg por día de etambutol durante dos meses, seguidos de isoniacida y rifampicina durante 4 a 10 meses, dependiendo de la gravedad del cuadro clínico. Por el riesgo de neuritis óptica, se prefiere la estreptomina al etambutol (8,11).

### Informe del caso

Se trata de un recién nacido de sexo masculino, fruto de la segunda gestación de una madre de 44 años, de raza negra, farmacodependiente, cuyos exámenes de laboratorio en el momento del parto arrojaron los siguientes resultados: prueba rápida para HIV, negativa; de IgG para toxoplasma, positiva, y de IgM, negativa; antígeno de superficie para hepatitis B, negativo; prueba de VDRL en sangre, reactiva en dos diluciones, y prueba treponémica rápida, positiva.

El nacimiento fue atendido en el hospital. La prueba de Apgar en el neonato fue de 7 en el primer minuto, de 8 a los 5 y de 9 a los 10 minutos. Su peso fue de 2.530 g (por encima del percentil 10), la talla, de 49 cm (por encima del percentil 50), y el perímetro cefálico, de 33 cm (por encima del percentil 25). Con el test de Capurro se estableció una edad de gestación de 38 semanas y el peso era adecuado según la curva de Lubchenco. No se encontraron alteraciones en el examen físico.

Con un diagnóstico de posible caso de sífilis congénita, se hospitalizó al paciente y se inició su tratamiento con penicilina cristalina. Se hicieron exámenes de laboratorio, con los siguientes resultados: la prueba de VDRL en sangre fue

reactiva en 8 diluciones, en el cuadro hemático el nivel de hemoglobina fue de 20 g/dl, el de hematocrito de 55 %, el volumen de leucocitos fue de 29.400 por mm<sup>3</sup>, el porcentaje de segmentados, 83 %, el de linfocitos, 14 %, el de monocitos, 3 %, y el recuento de plaquetas, de 238.000 por mm<sup>3</sup>. Se registraron 66 U/ml de aspartato aminotransferasa (AST), 3,94 mg/dl de bilirrubina total, 3,53 mg/dl de indirecta, y la glucemia fue de 102 mg/dl. El resultado del examen parcial de orina fue normal, así como la radiografía de huesos largos.

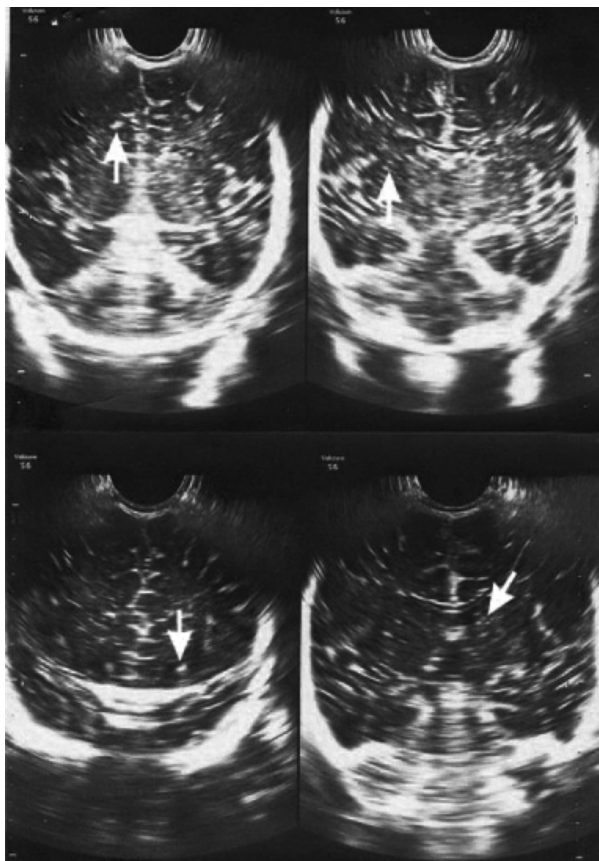
Al tercer día de vida se le practicó al paciente una punción lumbar, y se encontraron 77,7 mg/dl de proteínas, 13 leucocitos por mm<sup>3</sup> y 98 % de linfocitos; la prueba de VDRL en líquido cefalorraquídeo no fue reactiva.

En la ecografía transfontanelar que se practicó al quinto día de vida, se informó: "sistema ventricular de características normales sin signos de hidrocefalia ni hemorragia; estructuras de la línea media sin modificaciones; plexos coroideos y surcos caudo-talámicos con características ecográficas usuales. No hay colecciones líquidas en la cisura interhemisférica. Se observan lesiones puntiformes hiperecogénicas nucleobasales y periventriculares bilaterales que no dejan sombra acústica posterior, en escasa cantidad. Estos hallazgos sugieren microcalcificaciones secundarias a compromiso infeccioso" (figura 1).

Con base en estos hallazgos, fue necesario descartar una infección debida a otro agente. Los resultados de los estudios serológicos fueron de IgG positiva e IgM negativa para toxoplasma, citomegalovirus, rubéola y herpes I; para herpes II, IgG e IgM negativas; la PCR para citomegalovirus tomada a los siete días de vida, fue negativa. Los resultados de la valoración oftalmológica fueron normales.

Al conocerse que la madre había recibido tratamiento antituberculoso incompleto (42 días) durante la gestación, se hicieron estudios para descartar la presencia de tuberculosis en el recién nacido: las tres muestras de jugo gástrico tomadas para verificar la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes fueron negativas; la ecografía abdominal y la radiografía de tórax fueron normales, y no se hicieron tomografías ni se aplicó la prueba de tuberculosis.

Se enviaron muestras de sangre, de orina y de líquido cefalorraquídeo destinadas a la PCR para *M. tuberculosis*, la cual fue positiva en orina y en líquido

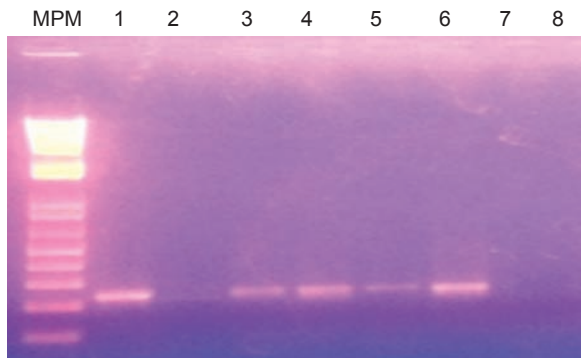


**Figura 1.** Ecografía transfontanelar: las flechas muestran lesiones puntiformes e hiperecóticas, indicativas de calcificaciones, de localización bilateral periventricular y en núcleos basales.

cefalorraquídeo, mas no en sangre (figura 2). Las tres muestras se cultivaron en medio Ogawa-Kudoh y los cultivos fueron negativos.

Se inició el tratamiento con isoniacida, rifampicina, pirazinamida y estreptomina. A los 36 días de vida se le dio de alta al paciente, con tratamiento ambulatorio supervisado.

En la consulta de seguimiento al cuarto mes de vida, se encontró un lactante con peso de 7.430 g (por encima del percentil 50), talla de 64 cm (por encima del percentil 50) y perímetro craneal de 41 cm (por encima del percentil 15); tenía las manos empuñadas, mal control cefálico, el reflejo de Landau era negativo y no tenía sostén lateral. En los exámenes de laboratorio de control, la prueba de VDRL en sangre no fue reactiva, las aminotransferasas, las bilirrubinas, los nitrogenados y el cuadro hemático fueron normales; se verificó que el esquema de vacunación era el estipulado para la edad, y que el tratamiento con isoniacida y rifampicina se había aplicado. La valoración



**Figura 2.** Electroforesis de los productos de la PCR-IS6110 en un gel de agarosa al 2 % coloreado con bromuro de etidio. MPM: marcador de peso molecular (1 kb); carril 1: control positivo, ADN de la cepa de *M. tuberculosis* H37Rv; carril 2: control negativo; carril 3: control de inhibidores en líquido cefalorraquídeo; carril 4: líquido cefalorraquídeo; carril 5: control de inhibidores en orina; carril 6: orina; carril 7: control de inhibidores en sangre; carril 8: sangre.

por fisiatría evidenció que el desarrollo neurológico correspondía al de un niño de dos meses y medio, por lo que se solicitó una resonancia magnética de cerebro y se remitió al paciente a terapias y a neuropediatría.

En el control a los seis meses, el peso del paciente fue de 8.940 g (por encima del percentil 85), la talla de 68 cm (por encima del percentil 50) y el perímetro craneal de 44 cm (por encima del percentil 50); la disminución del tono persistía, tenía sostén cefálico y sonreía, pero todavía no tenía defensas laterales ni reflejo de Landau. El paciente continuaba recibiendo isoniacida y rifampicina. La resonancia magnética cerebral no mostró alteraciones.

Los siguientes fueron los datos de la historia clínica materna: una ecografía obstétrica hecha a las 10 semanas de edad de gestación fue normal. A las 26 semanas de gestación fue hospitalizada con diagnóstico de neumonía adquirida en la comunidad y la baciloscopia fue positiva, con más de 10 bacilos ácido-alcohol resistentes. La serología para HIV y el antígeno de superficie para hepatitis B, fueron negativos; la determinación de albúmina fue de 2,3 g/dl y la ecografía obstétrica fue normal. La paciente se sometió a tratamiento antituberculoso durante 42 días.

A las 33 semanas de gestación, se practicó una ecografía obstétrica que fue normal, la prueba de VDRL fue reactiva en 8 diluciones, y la baciloscopia de control fue negativa. Se le dio tratamiento con penicilina benzatínica y no se documentó el tratamiento para sífilis del compañero de la



paciente. En el momento del parto, la prueba de VDRL fue reactiva en dos diluciones y se reinició el tratamiento para tuberculosis.

En un control a los tres meses del parto, la paciente refirió mala tolerancia al tratamiento anti-tuberculoso. La prueba de VDRL de control fue reactiva en ocho diluciones, el resultado de la prueba de VSG fue de 28 mm/hora y la radiografía de tórax reveló fibroatelectasia apical bilateral con cavitaciones. Dada la condición de habitante de la calle de la madre, de su drogadicción y desnutrición, y del diagnóstico de tuberculosis y de nueva infección por *Treponema pallidum*, se formuló penicilina benzatínica y se continuó el tratamiento para la tuberculosis.

### Discusión

La historia clínica que se presenta corresponde, según los criterios de Cantwell, a un caso de tuberculosis congénita, diagnosticado por PCR en muestras de líquido cefalorraquídeo y orina tomadas al tercer y al octavo día de vida, respectivamente, en un recién nacido hijo de una madre de raza negra, habitante de la calle con antecedentes de farmacodependencia y desnutrición, que fue hospitalizado por cumplir con los criterios del diagnóstico de sífilis congénita: la prueba de VDRL evidenció cuatro veces la cantidad de los títulos maternos y un aumento en los niveles de la aspartato aminotransferasa, lo que era indicativo de la coexistencia de dos infecciones consideradas como problemas de salud pública.

La coexistencia de estas dos infecciones se ha descrito en otras ocasiones. En un estudio en Baltimore en pacientes que asistían a la clínica de tuberculosis, se encontró que 9 % de ellos tenía antecedentes de sífilis y que 13,6 % había hecho, por lo menos, una visita a la clínica de enfermedades de transmisión sexual, frecuencias que aumentaban en la población negra a 13,6 y 16,5 %, respectivamente; por ello, la detección cruzada de sífilis y tuberculosis sería un mecanismo para la identificación de nuevos casos e incrementaría la eficiencia del sistema de salud (12).

En los recién nacidos, la valoración inicial de las estructuras intracraneales mediante ultrasonografía transfontanelar es el método diagnóstico más usado desde la década de los ochenta (13), aunque su sensibilidad y su especificidad son bajas para el diagnóstico del compromiso neurológico de enfermedades infecciosas (14).

En este caso, el hallazgo de calcificaciones puntiformes periventriculares y en núcleos basales, escasas, en la ecografía transfontanelar, advirtió al equipo médico sobre la existencia de otro agente infeccioso diferente a *T. pallidum*, pues se sabe que este no ocasiona calcificaciones cerebrales, lo que obligó a descartar una infección por toxoplasma, citomegalovirus, rubéola o herpes I y II, las cuales originan calcificaciones cerebrales en el período perinatal (15-18). Tampoco se documentó ningún episodio de hipoxia isquémica, pues se sabe que, cuando estos se presentan en neonatos a término y prematuros, aparecen calcificaciones en los ganglios basales, la corteza cerebral y el hipocampo (19).

El compromiso del sistema nervioso en la tuberculosis se describió en 1825 (20). Esta forma, la más grave de la enfermedad, se presenta en cerca de 1 % de los casos, con una gran morbilidad y mortalidad (21). En los casos de tuberculosis congénita, la mortalidad se ha asociado con el hallazgo de lesiones intracraneales (5).

El compromiso del sistema nervioso se clasifica en formas meningoencefálicas, formas espinales y lesiones expansivas intracraneales (22). En este paciente, dicho compromiso podría corresponder al primero de los dos pasos de un modelo descrito en el cual habría una siembra en el sistema nervioso central por vía hematogena y se formaría el foco que posteriormente crecería y maduraría en un tubérculo caseoso que, al romperse, ocasionaría tuberculosis meníngea (21).

A pesar de que las condiciones del paciente hacían pensar en un resultado adverso (6), se presume que el curso clínico se vio favorecido por tratarse de un neonato a término, sin restricción de crecimiento y sin manifestaciones sistémicas, en quien se instauró el tratamiento temprano y cuya madre tuvo resultados negativos para HIV y recibió tratamiento antituberculoso durante 42 días antes del parto ante el resultado positivo de la baciloscopia hacia la semana 24 de gestación (23).

El diagnóstico de la tuberculosis congénita de localización cerebral es difícil, pues no es frecuente encontrar el bacilo en el extendido de líquido cefalorraquídeo y se necesitan varias semanas para cultivarlo; pero, incluso si ambas pruebas son negativas, el diagnóstico no se puede excluir. La PCR es de utilidad para el diagnóstico de la tuberculosis extrapulmonar (24), a pesar de que se han informado resultados contradictorios en cuanto a su sensibilidad y especificidad (25).

En el presente caso, los cultivos fueron negativos. La falta de concordancia entre el resultado de la PCR en sangre y el de la prueba en orina y líquido cefalorraquídeo, puede explicarse por la variación de la sensibilidad y la especificidad de la secuencia IS6110, pues se ha informado que en algunas muestras extrapulmonares la sensibilidad puede ser nula, sobre todo cuando el extendido es negativo (25).

Al revisar la historia clínica de la madre durante la gestación, no se registró ningún hallazgo que pudiera hacer sospechar el compromiso en el feto. En la literatura científica se encuentran múltiples publicaciones sobre casos de tuberculosis en mujeres gestantes, especialmente extrapulmonar, en muy pocos de los cuales se describen los hallazgos en el feto. Se ha descrito retardo del crecimiento intrauterino y prematuridad, hepatomegalia y síndrome de dificultad respiratoria neonatal atribuibles a la tuberculosis, sin que se hubiera sospechado su presencia (26). Se encontró un informe sobre derrame pleural sin otros hallazgos de eritroblastosis fetal, en el caso de una mujer gestante en quien se descartó infección por toxoplasma, por citomegalovirus, rubéola y herpes simple, y en el que el neonato falleció y el diagnóstico se hizo *post mortem* mediante PCR (27).

En este caso, la descripción y el seguimiento del curso clínico en la madre fue dificultoso, no solamente por la coexistencia de infecciones (sífilis y tuberculosis), sino por la presencia de factores económicos, sociales y nutricionales desfavorables (consumo de sustancias psicoactivas, condición de habitante de la calle y desnutrición), cuya importancia como factores sociales determinantes en el curso de la tuberculosis es bien conocida (28).

Son pocos los casos de tuberculosis congénita que se han reportado en nuestro país, y el que aquí se presenta constituye una llamada de atención para fomentar su búsqueda en la población de gestantes con infección por *T. pallidum*, consumidora de sustancias psicoactivas y habitante de la calle, la cual crece constantemente y está en alto riesgo de contraer otra de las llamadas infecciones emergentes.

#### Conflicto de intereses

No existen conflictos de interés.

#### Financiación

La PCR para *Mycobacterium tuberculosis* se hizo en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

#### Referencias

1. **World Health Organization.** Global Tuberculosis Report 2013. Fecha de consulta: 27 de enero de 2014. Disponible en: [http://www.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656\\_eng.pdf](http://www.who.int/iris/bitstream/10665/91355/1/9789241564656_eng.pdf).
2. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Colombia avanza en el control de la tuberculosis. Boletín de Prensa No 421 de 2013. Fecha de consulta: 27 de enero de 2014. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Paginas/control-de-la-tuberculosis.aspx>.
3. **Adhikari M, Pillay T, Pillay DG.** Tuberculosis in the newborn: An emerging disease. *Pediatr Infect Dis J.* 1997; 16:1108-12.
4. **Snider D.** Pregnancy and tuberculosis. *Chest.* 1984;86 (Suppl.3):10S-3. [http://dx.doi.org/10.1378/chest.86.3\\_Supplement.10S](http://dx.doi.org/10.1378/chest.86.3_Supplement.10S)
5. **Peng W, Yang J, Liu E.** Analysis of 170 cases of congenital TB reported in the literature between 1946 and 2009. *Pediatr Pulmonol.* 2011;46:1215-24. <http://dx.doi.org/10.1002/ppul.21490>
6. **Figueroa-Damián R, Arredondo-García JL.** Neonatal outcome of children born to women with tuberculosis. *Arch Med Res.* 2001;32:66-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0188-4409\(00\)00266-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0188-4409(00)00266-6)
7. **Hageman J, Shulman S, Shreiber M, Lucks S, Yogev R.** Congenital tuberculosis. Critical reappraisal of clinical findings and diagnostic procedures. *Pediatrics.* 1980;66:980-4.
8. **Cantwell MF, Shehab ZM, Costello AM, Sands L, Green WF, Ewing EP Jr, et al.** Brief report: Congenital tuberculosis. *N Engl J Med.* 1994;330:1051-4. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM199404143301505>
9. **Barani R, Sarangan G, Antony T, Periyasamy S, Kindo AJ, Srikanth P.** Improved detection of *Mycobacterium tuberculosis* using two independent PCR targets in a tertiary care centre in South India. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6:46-52. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.1302>
10. **Del Portillo P, Murillo LA, Patarroyo ME.** Amplification of a species-specific DNA fragment of *Mycobacterium tuberculosis* and its possible use in diagnosis. *J Clin Microbiol.* 1991;29:2163-8.
11. **Dalamón RS, Cantell SN, Jaroslavsky D, Bruno M, Dehuh MA, Falk J.** Tuberculosis congénita. Presentación infrecuente de una enfermedad habitual. *Arch Argent Pediatr.* 2008;106:143-54. <http://dx.doi.org/10.1590/S0325-00752008000200010>
12. **Peek M, Zenilman JM.** Sexually transmitted diseases in patients attending a Baltimore tuberculosis clinic. Assessment of use of multiple categoric services. *Sex Transm Dis.* 1997;24:8-10.
13. **Ball WS Jr.** Pediatric neuroradiology. *Am J Neuroradiol.* 2000;21:29-36.
14. **Crino JP.** Ultrasound and fetal diagnosis of perinatal infection. *Clin Obstet Gynecol.* 1999;42:71-80.
15. **Herman TE, Cleveland RH, Kushner DC, Taveras JM.** CT of neonatal herpes encephalitis. *Am J Neuroradiol.* 1985;6:773-5.

16. **Numazaki K, Fujikawa T.** Intracranial calcification with congenital rubella syndrome in a mother with serologic immunity. *J Child Neurol.* 2003;18:296-7. <http://dx.doi.org/10.1177/08830738030180040601>
17. **Malinger G, Lev D, Zahalka N, Ben Aroia Z, Watemberg N, Kidron D, et al.** Fetal cytomegalovirus infection of the brain: The spectrum of sonographic findings. *Am J Neuroradiol.* 2003;24:28-32.
18. **Surendrababu NR, Kuruvilla KA, Jana AK, Cherian R.** Globe calcification in congenital toxoplasmosis. *Indian J Pediatr.* 2006;73:527-8.
19. **Rodríguez MJ, Ursu G, Bernal F, Cuí V, Mahy N.** Perinatal human hypoxia–ischemia vulnerability correlates with brain calcification. *Neurobiol Dis.* 2001;8:59-68. <http://dx.doi.org/10.1006/nbdi.2000.0332>
20. **Vergara I, Saravia J, Toro G, Calderón A.** La infección tuberculosa del sistema nervioso central: estudio de 165 casos. *Act Med Colomb.* 1976;1:33-52.
21. **De Lance AR, Safae M, Oh MC, Clark AJ, Kaur G, Sun MZ, et al.** Tuberculoma of the central nervous system. *J Clin Neurosci.* 2013;20:1333-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2013.01.008>
22. **Palma R, Lizarazo J, Vergara I, Toro G, Saravia J.** La infección tuberculosa del sistema nervioso central. *Acta Med Colomb.* 1988;13:106-24.
23. **Bogges KA, Myers ER, Hamilton CD.** Antepartum or postpartum isoniazid treatment of latent tuberculosis infection. *Obstet Gynecol.* 2000;96:757-62.
24. **Mehta PK, Rai A, Singh N, Khuller GK.** Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis by PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2012;66:20-36. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00987.x>
25. **Miller MB, Popowitch EB, Backlund MG, Ager EP.** Performance of Xpert MTB/RIF RUO assay and IS6110 real-time PCR for *Mycobacterium tuberculosis* detection in clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2011;49:3458-62. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.05212-11>
26. **Diar H, Velaphi S.** Congenital tuberculosis as a proxy to maternal tuberculosis: A case report. *J Perinatol.* 2009;29:709-11. <http://dx.doi.org/10.1038/jp.2009.49>
27. **Chen S.** Maternal and fetal infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1997;77:F77-8.
28. **Bhargava A, Pai M, Bhargava M, Marais BJ, Menzies D.** Can social interventions prevent tuberculosis? The Papworth Experiment (1918–1943) Revisited. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012;186:442-9. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201201-0023OC>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Validación inicial de la escala de medición de esfuerzo percibido infantil (EPInfant) en niños chilenos

Iván Rodríguez-Núñez<sup>1,2,3,4</sup>, Carlos Manterola<sup>3,4,5</sup>

<sup>1</sup> Centro de Medicina Molecular, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Sebastián, Concepción, Chile

<sup>2</sup> Escuela de Kinesiología, Facultad de Salud, Universidad Santo Tomás, Concepción, Chile

<sup>3</sup> Programa de Doctorado en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Frontera, Temuco, Chile

<sup>4</sup> Departamento de Cirugía, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

<sup>5</sup> Centro de Investigación en Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile, Temuco, Chile

**Introducción.** Las escalas de esfuerzo percibido cuantifican la sensación causada por los cambios metabólicos durante el ejercicio. Debido a su inmadurez cognitiva, los niños necesitan instrumentos adaptados, motivo por el cual se desarrolló la escala de medición de esfuerzo percibido infantil, EPInfant.

**Objetivo.** Determinar la validez y confiabilidad de la escala EPInfant durante una prueba de ejercicio de intensidad gradualmente creciente.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio de corte transversal. Se seleccionaron niños de dos grupos de edad por categoría de desarrollo cognitivo: de 8 a 12 años (operaciones concretas) y de 13 a 15 años (inteligencia formal). Todos respondieron el test de Chester y se registraron su frecuencia cardíaca, la carga de trabajo y el esfuerzo percibido durante la prueba. Los coeficientes *r* de Pearson y de correlación intraclase se emplearon para determinar la validez y la confiabilidad.

**Resultados.** De 75 niños participantes, 35 (18 hombres) se clasificaron en el grupo de operaciones concretas y 40 (20 hombres) en el de inteligencia formal. En los cuatro grupos la frecuencia cardíaca y el esfuerzo percibido se incrementaron durante la prueba ( $p < 0,0001$ ). El esfuerzo percibido se correlacionó con la frecuencia cardíaca en los grupos de operaciones concretas e inteligencia formal en hombres y mujeres:  $r = 0,73$ ,  $r = 0,58$ ,  $r = 0,43$  y  $r = 0,62$ , respectivamente ( $p < 0,0001$ ). Los modelos de regresión fueron significativos en los cuatro grupos. En el subgrupo perteneciente a la etapa de operaciones concretas, el coeficiente de correlación intraclase fue de 0,88 (0,82-0,92) en hombres y de 0,94 (0,91-0,96) en mujeres.

**Conclusión.** La escala EPInfant resultó válida para medir el esfuerzo percibido durante el ejercicio en niños y niñas con distintos niveles de madurez cognitiva, y fue confiable en los niños del grupo de operaciones concretas.

**Palabras clave:** reproducibilidad de resultados, validez de las pruebas, estudios de validación como asunto, tolerancia al ejercicio, esfuerzo físico, cognición, niño, adolescente.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2720>

### Initial validation of the scale of perceived exertion (EPInfant) in Chilean children

**Introduction:** Perceived exertion scales quantify the sensation caused by metabolic changes during exercise. Children need tailored tools due to their cognitive immaturity such as the EPInfant scale recently developed in Chile.

**Objective:** To determine the validity and reliability of the EPInfant scale in children during a graded exercise test.

**Materials and methods:** We conducted a cross-sectional study for which we selected healthy children younger than 18 years and grouped them according to Piaget's stages of cognitive maturity: Concrete operations (8-12 years) and formal intelligence (13-15 years). The Chester step test was used and heart rate, workload and perceived exertion were recorded during the test. Pearson *r* and intraclass correlation coefficients were used to assess validity and reliability, respectively.

**Results:** 75 children were admitted, 35 (18 male) from the concrete operations group and 40 (20 male) from the formal intelligence group. In the four groups, heart rate and perceived exertion increased significantly with exercise intensity ( $p < 0.0001$ ). Perceived exertion was correlated with heart rate in both the concrete operation and the formal intelligence groups and in males and females ( $r = 0.73$ ,  $r = 0.58$ ,

#### Contribución de los autores:

Iván Rodríguez-Núñez: medición de variables

Ambos autores participaron en el análisis estadístico y la redacción del manuscrito.



$r=0.43$ ,  $r=0.62$ , respectively;  $p<0.0001$ ). Regression models were significant in all groups ( $p<0.0001$ ). In the concrete operations group the intraclass correlation coefficient was 0.88 (0.82-0.92) in men and 0.94 (0.91-0.96) in women.

**Conclusion:** EPInfant scale was a reliable and valid instrument to measure perceived exertion during exercise in children with different levels of cognitive maturity, and it was reliable in the concrete operations group of children.

**Key words:** Reproducibility of results, validity of tests, validation studies as topic, exercise tolerance, physical exertion, cognition, child, adolescent.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2720>

Las escalas de medición del esfuerzo percibido se utilizan comúnmente para cuantificar la sensación causada por los cambios metabólicos que ocurren durante el ejercicio. Las escalas existentes se desarrollaron y validaron inicialmente para la población adulta (1-3). La escala numérica de Borg tiene una orientación vertical ascendente de 6 a 20 puntos y fue diseñada para proveer datos perceptuales lineales con el ritmo cardíaco y la carga de trabajo. El propósito de esta distribución numérica es asociar el grado de esfuerzo percibido (multiplicado por diez) con la frecuencia cardíaca durante el ejercicio (1).

La escala de Borg se ha utilizado en diversos contextos como herramienta para cuantificar el esfuerzo percibido y para reproducir la intensidad del ejercicio (4-7). En este modelo se observa que, a medida que la intensidad del ejercicio crece de forma constante, también aumenta la percepción del esfuerzo asociado al estrés fisiológico en respuesta a la intensidad progresiva del trabajo, lo que evidencia la correlación positiva entre ambas variables (1,8).

Sin embargo, los niños no tienen la madurez cognitiva suficiente para entender los descriptores numéricos de estrés fisiológico diseñados para adultos, ya que su desarrollo cognitivo no constituye un proceso lineal sino que se caracteriza por cuatro períodos distintos, de los cuales el de operaciones concretas (8-12 años) y el de inteligencia formal (13 hasta la adultez), corresponden al grupo de sujetos que utiliza más frecuentemente el esfuerzo percibido como variable de medición durante el ejercicio (8).

En virtud de lo anterior, se han desarrollado instrumentos adaptados a los niños, los cuales han demostrado un rendimiento aceptable en cuanto a sus propiedades psicométricas (9-15). Son escasas las escalas adecuadas en idioma español. En Chile, se han elaborado algunas para cuantificar el esfuerzo percibido en niños (16,17), las cuales son adaptaciones arbitrarias de la escala de Borg, pero hasta ahora no se han hecho estudios para determinar sus propiedades psicométricas y hay discrepancias sobre la utilidad clínica de los resultados (18), por lo que se desarrolló un nuevo instrumento para evaluar la percepción del esfuerzo en población infantil, denominado escala de medición de esfuerzo percibido infantil (EPInfant). Este instrumento se diseñó mediante una metodología orientada a disminuir potenciales fuentes de error sistemático, y sus descriptores verbales e ilustraciones visuales se adaptaron para niños con diversos niveles de desarrollo cognitivo. Sin embargo, su rendimiento no se había valorado durante una prueba de ejercicio de intensidad gradualmente creciente.

En este marco, el objetivo del presente estudio fue determinar la validez y la confiabilidad de la escala EPInfant en niños chilenos durante una prueba de ejercicio de intensidad creciente en escalón.

## Materiales y métodos

### Diseño

Se hizo un estudio de corte transversal en el cual la valoración del esfuerzo percibido se basó en el paradigma de estimación perceptual durante un protocolo de ejercicio de intensidad gradualmente creciente. Para la evaluación de la validez se consideró un paradigma de criterio concurrente mediante la correlación entre el criterio de referencia (frecuencia cardíaca) y la variable concurrente dada por la percepción del esfuerzo. Además, en un subgrupo de la muestra se empleó un diseño de prueba-reprueba, con el fin de valorar la confiabilidad entre observadores del instrumento. En este subgrupo se hicieron dos

### Correspondencia:

Iván Rodríguez, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad San Sebastián, Lientur 1457, Concepción, Chile  
Teléfono: (56-41) 248 7293  
[ivan.rodriguez@uss.cl](mailto:ivan.rodriguez@uss.cl)

Recibido: 19/02/15; aceptado: 14/07/15

pruebas de ejercicio con una semana de intervalo entre ellas, en las cuales el esfuerzo percibido fue medido por un segundo evaluador capacitado.

### **Población**

Mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, se seleccionaron sujetos sanos, menores de 18 años y de ambos sexos, matriculados en dos colegios públicos de la ciudad de Concepción, Chile. Antes del inicio del protocolo de estudio, se les practicó un examen físico torácico a cada uno de los sujetos y se les pidió completar una lista de chequeo destinada a descartar la presencia de alguna enfermedad cardiorrespiratoria concomitante. Se excluyeron los sujetos con déficit cognitivo, los obesos y aquellos con enfermedades neuromotoras que les impidieran hacer ejercicio. Los sujetos se clasificaron en dos grupos de edad de acuerdo con las etapas del desarrollo cognitivo descritas por Piaget (8): operaciones concretas (8-12 años) e inteligencia formal (13-15 años).

### **Tamaño de la muestra**

Se consideró un coeficiente de correlación  $r$  de Pearson de 0,43, registrado como el más bajo en este estudio en el subgrupo de hombres con inteligencia formal, por lo cual, considerando un contraste de hipótesis con planteamiento bilateral, un riesgo de error de tipo I de 5 % y una potencia estadística de 80 %, la muestra mínima estimada fue de 40 sujetos.

### **Escala de medición de esfuerzo percibido (EPIInfant)**

La escala EPIInfant es un instrumento desarrollado para cuantificar el esfuerzo percibido general en la población infantil con base en un protocolo de elaboración y validación de contenido. El proceso metodológico de su diseño se dividió en tres etapas. En la primera, se conformó un panel de cinco profesionales expertos con más de cuatro años de experiencia y con al menos un curso de posgrado en áreas disciplinares dedicadas a la salud y la educación del niño (dos kinesiólogos, dos psicólogos y un médico pediatra broncopulmonar), que hicieron recomendaciones para el diseño de la escala. En la segunda etapa, se revisaron artículos científicos relacionados, con el fin de identificar los instrumentos con más altos coeficientes de validez de criterios que aportaran elementos metodológicos a la elaboración de la nueva escala. En la tercera etapa, se evaluó la validez de contenido, cuyo índice general fue mayor de 0,95.

La escala EPIInfant posee descriptores numéricos, verbales e ilustraciones que muestran a un niño que hace ejercicio continuo con intensidad creciente y cuya expresión facial cambia de acuerdo con la intensidad del esfuerzo percibido. Además, cuenta con barras verticales de color rojo cuya tonalidad aumenta a medida que su longitud crece exponencialmente (de izquierda a derecha) (figura 1).

### **Protocolo de inducción**

Una semana antes de la prueba de ejercicio, se hizo una sesión de inducción en la que se registraron la edad, el sexo y las variables antropométricas. El peso y la estatura se determinaron usando una balanza análoga. Cada participante se familiarizó con la prueba de ejercicio y recibió instrucciones sobre la escala. El panel de instrucciones de uso de la escala se detalla en el cuadro 1.

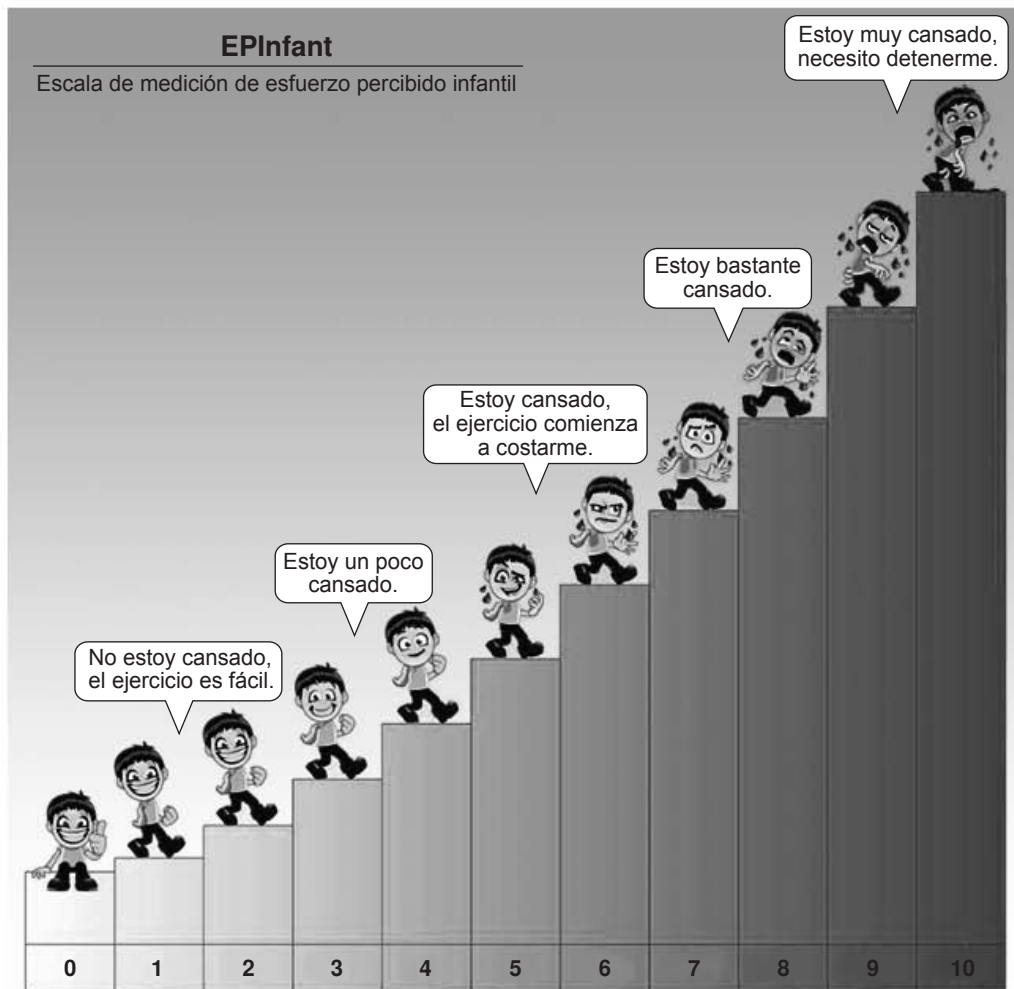
### **Prueba de ejercicio**

Se llevó a cabo la prueba de escalón de Chester, que es una prueba de intensidad creciente y continua validada en sujetos sanos y que se aplica en distintos contextos (19-22). La prueba consiste en subir y bajar un escalón de 20 cm de altura a una velocidad creciente indicada por una señal sonora. Tiene cinco niveles según la cantidad de ciclos (cada uno equivalente a un ascenso y un descenso con ambos pies), que la persona debe realizar en un minuto: nivel 1, 15 ciclos; nivel 2, 20 ciclos; nivel 3, 25 ciclos; nivel 4, 30 ciclos, y nivel 5, 35 ciclos. Cada nivel tiene una duración de dos minutos, es decir que la duración total de la prueba es de 10 minutos. La carga de trabajo (Watts) se calcula mediante la siguiente fórmula: altura del escalón (m)  $\times$  número total de ciclos  $\times$  peso (kg)  $\times$  0,16357 (22).

La prueba puede ser suspendida por el sujeto en presencia de síntomas (disnea o máxima fatiga de piernas), o por el evaluador, cuando el sujeto no puede mantener el ritmo durante un lapso de 15 segundos.

Antes de iniciar la prueba, el sujeto debe permanecer en reposo durante 10 minutos, tiempo en el cual se registra la saturación de oxígeno, el esfuerzo percibido utilizando la escala EPIInfant, la frecuencia cardíaca con un monitor cardiorrespiratorio de marca Polar®, y la frecuencia cardíaca máxima calculada mediante la fórmula de Tanaka:  $[208 - (0,7 \times \text{edad})]$  (23).

Durante la prueba se registraron el esfuerzo percibido, la frecuencia cardíaca y la saturación de oxígeno en los últimos 20 segundos de cada



**Figura 1.** Escala de medición de esfuerzo percibido infantil (EPInfant)

**Cuadro 1.** Recomendaciones para la aplicación de la escala de medición de esfuerzo percibido infantil, EPInfant

La escala EPInfant es un instrumento diseñado para cuantificar el nivel de esfuerzo corporal global percibido en niños y adolescentes (menores de 18 años) durante el ejercicio físico.

Debe hacerse una inducción antes del inicio del ejercicio físico, explicándola en términos sencillos apropiados para la edad cognitiva del sujeto.

Si el niño o niña no sabe leer, se sugiere dar instrucciones para la interpretación del esfuerzo percibido mediante las ilustraciones de niños haciendo ejercicio.

Para una adecuada medición de la percepción de esfuerzo, el sujeto debe contestar a la siguiente pregunta: ¿Cuán cansado te encuentras durante el ejercicio? La pregunta debe ir dirigida a valorar la percepción de esfuerzo corporal global, incluidas la fatiga de piernas y la disnea.

A continuación se da un ejemplo de instrucción apropiada:

- Antes, durante y después del ejercicio, te preguntaré cuán cansado te encuentras.
- Debes utilizar los números, las palabras o los niños para indicarme tu nivel de cansancio durante la actividad.
- Observa al niño que se encuentra al inicio de la escala, si te sientes como él, significa que no te encuentras cansado.
- Observa a los niños que se encuentran en el centro de la escala (niveles 5 y 6), si te sientes como ellos, significa que te encuentras cansado pero puedes seguir haciendo ejercicio.
- Observa al niño que se encuentra al final de la escala, si te sientes como él, significa que te encuentras muy cansado y no puedes seguir haciendo ejercicio.
- Puedes utilizar cualquiera de los números, frases o imágenes de niños de la escala, para decirme cuán cansado te sientes. No existe una respuesta correcta o incorrecta.

minuto. Para determinar la frecuencia cardiaca media, en cada nivel se calculó el valor medio entre el primer y el segundo minuto de cada etapa de la prueba.

Una semana más tarde, un subgrupo de sujetos del grupo de operaciones concretas (17 hombres y 14 mujeres) hizo una segunda prueba en la que el esfuerzo percibido fue medido por un segundo evaluador para determinar la confiabilidad entre observadores.

### **Consideraciones éticas**

El estudio fue autorizado por ambos establecimientos educativos y aprobado por el Comité Científico de la Universidad San Sebastián de Chile. Los padres de los niños firmaron un consentimiento informado, así como los niños mayores de 12 años antes de participar en el estudio.

### **Plan de análisis**

Se hizo un análisis exploratorio de los datos utilizando el paquete estadístico MedCalc 14,8, y, posteriormente, se aplicó la estadística descriptiva calculando el promedio y la desviación estándar para las variables cuantitativas. Se utilizó un ANOVA y un análisis *post hoc* mediante el método de Scheffé para evaluar la diferencia entre los grupos, así como un ANOVA para medidas repetidas, con el fin de valorar las diferencias de las medias de la frecuencia cardiaca, la carga de trabajo y el esfuerzo percibido entre los distintos niveles de intensidad de la prueba.

Se utilizó el coeficiente de correlación *r* de Pearson para evaluar la asociación entre el esfuerzo percibido y la frecuencia cardiaca, y un análisis de regresión lineal para la construcción del modelo de estimación de la frecuencia cardiaca a partir del

esfuerzo percibido. Los coeficientes de correlación se sometieron a la transformación *z* de Fisher, con el fin de valorar la diferencia entre los niveles de correlación según sexo y grupo de edad.

La confiabilidad entre observadores se evaluó mediante el coeficiente de correlación intraclase y el método de Bland-Altman, de los cuales el primero corresponde a la proporción de la variabilidad total que no es producida por error de medición y el segundo muestra la diferencia media entre las mediciones a lo largo de las categorías de la escala. Los resultados se expresaron en valores absolutos y con un intervalo de confianza (IC) de 95 %. Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ .

## **Resultados**

### **Caracterización de la muestra**

En el estudio participaron 75 niños y adolescentes sanos, de los cuales 35 tenían entre 8 y 12 años de edad (etapa de operaciones concretas) y 40, entre 13 y 15 años (etapa de operaciones formales). En el cuadro 2 se precisan las características generales de la muestra.

### **Respuesta fisiológica durante el test de Chester**

Todos los participantes hicieron la prueba; no obstante, tres de las mujeres (una del grupo de operaciones concretas y dos del grupo de inteligencia formal) completaron solo cuatro de los cinco niveles. Se observaron diferencias significativas entre los grupos en cuanto a la magnitud de la intensidad de trabajo en cada nivel (cuadro 3). Los hombres y las mujeres de 13 a 15 años desarrollaron una mayor carga de trabajo que los de 8 a 12 años ( $p=0,0001$ ). En ambos grupos de edad los varones desarrollaron una mayor carga de trabajo que las mujeres ( $p=0,0001$ ).

**Cuadro 2.** Características generales de la muestra y resultados al final del test de Chester

	Grupo de 8 a 12 años		Grupo de 13 a 15 años	
	Hombre (n=18)	Mujer (n=17)	Hombre (n=20)	Mujer (n=20)
Edad (años)	10,0±0,7	8,8±1,0	14,2±0,8	14,1±0,8
Peso (kg)	41,0±8,4	31,2±5,6	62,2±8,9	55,7±8,9
Estatura (cm)	144,8±10,7	133,8±6,9	173,5±11	167,3±17
Frecuencia cardiaca máxima teórica (latidos por minuto)	200,9±0,92	201,5±0,79	197,9±0,57	198,0±0,56
Frecuencia cardiaca máxima (latidos por minuto)	160,2±15,1	165,2±14,0	150,3±17,1	171,2±11,4
Esfuerzo percibido máximo	6,7±1,8	7,3±2,2	2,8±1,4	3,8±2,3

Los resultados se expresan en promedios y desviación estándar.



**Cuadro 3.** Carga de trabajo durante el test de Chester

Niveles	Grupo de 8 a 12 años		Grupo de 13 a 15 años		p*
	Hombre	Mujer	Hombre	Mujer	
I (W)	20,4 (18,3-22,5) <sup>a</sup>	15,3 (13,8-16,8) <sup>b</sup>	30,9 (29,0-32,9) <sup>a</sup>	27,3 (25,2-29,3) <sup>b</sup>	<0,0001
II (W)	27,3 (24,5-30,1) <sup>a</sup>	20,4 (18,5-25,3) <sup>b</sup>	41,2 (38,6-43,8) <sup>a</sup>	36,4 (33,7-39,2) <sup>b</sup>	<0,0001
III (W)	34,2 (30,6-37,7) <sup>a</sup>	25,9 (23,2-28,6) <sup>b</sup>	51,6 (48,3-54,8) <sup>a</sup>	45,5 (42,1-48,9) <sup>b</sup>	<0,0001
IV (W)	41,1 (36,8-45,3) <sup>a</sup>	30,5 (27,7-33,4) <sup>b</sup>	61,9 (58,0-65,8) <sup>a</sup>	54,6 (50,5-58,7) <sup>b</sup>	<0,0001
V (W)	47,9 (42,9-52,9) <sup>a</sup>	35,5 (32,3-38,6) <sup>b</sup>	72,2 (67,6-76,7) <sup>a</sup>	61,0 (58,0-64,0) <sup>b</sup>	<0,0001

Los resultados se expresan en promedios y el intervalo de confianza fue de 95 %

Hubo una diferencia estadísticamente significativa entre la carga de trabajo de los grupos ( $p < 0,0001$ ). Se hizo un ANOVA de medidas repetidas.

\* Se hizo un ANOVA.

<sup>a</sup> y <sup>b</sup>: hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las parejas (prueba de Scheffé).

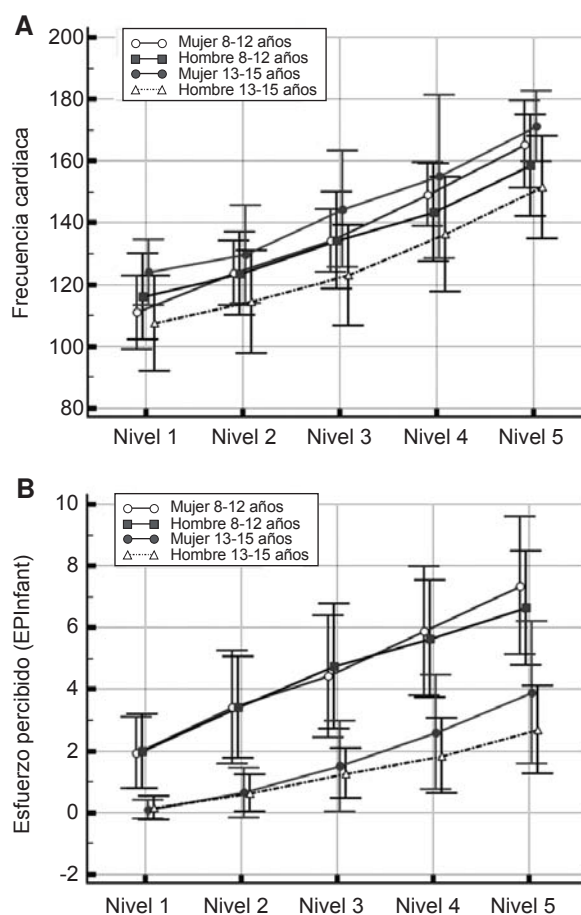
Se evidenciaron diferencias significativas entre los grupos con respecto al esfuerzo percibido y la frecuencia cardíaca alcanzada al final de la prueba ( $p=0,001$ ). En este contexto, en el análisis *post hoc* se constató que las mujeres del grupo de inteligencia formal alcanzaron una mayor frecuencia cardíaca máxima que los hombres del mismo grupo de edad; los hombres y las mujeres del grupo de operaciones concretas alcanzaron un mayor nivel de esfuerzo percibido al final de la prueba, comparados con aquellos pertenecientes al grupo de inteligencia formal ( $p=0,0001$ ) (cuadro 2). Además, en hombres y mujeres de ambos grupos de edad se observó que tanto la frecuencia cardíaca como el esfuerzo percibido se incrementaron de forma significativa de acuerdo con los niveles de intensidad desarrollados durante la prueba ( $p < 0,0001$ ). En la figura 2 (A y B) se aprecian las medias de la frecuencia cardíaca y el esfuerzo percibido, y sus respectivas desviaciones estándar en cada nivel del test de Chester.

#### Validez de la escala EPIInfant

El esfuerzo percibido se correlacionó positivamente con la frecuencia cardíaca en los cuatro grupos estudiados ( $p=0,0001$ ). Sin embargo, en los hombres de 13 a 15 años se observó un menor nivel de correlación entre la frecuencia cardíaca y el esfuerzo percibido que en los del grupo de 8 a 12 años del mismo sexo ( $p=0,003$ ). En el cuadro 4 se detalla la matriz de correlación entre el esfuerzo percibido y la frecuencia cardíaca durante el test de Chester en cada subgrupo de la muestra estudiada.

Por otra parte, todos los modelos de regresión fueron estadísticamente significativos. En el cuadro 5 se muestran las ecuaciones utilizadas para estimar la frecuencia cardíaca a partir del esfuerzo percibido en cada subgrupo de la muestra estudiada

y, en las figuras 3 y 4 (A y B), se observan los modelos de regresión del esfuerzo percibido y la frecuencia cardíaca.



**Figura 2.** Respuesta fisiológica durante el test de Chester en la muestra total. **A.** Respuesta de la frecuencia cardíaca. **B.** Respuesta del esfuerzo percibido (EPIInfant). Los resultados se expresan en promedios y desviación estándar.

Hubo una diferencia estadísticamente significativa entre las medidas repetidas de las variables a lo largo del test en todos los subgrupos estudiados ( $p < 0,05$ ). Se empleó un ANOVA de medidas repetidas.

**Cuadro 4.** Matriz de correlaciones entre el esfuerzo percibido (EPIInfant) y la frecuencia cardiaca durante el test de Chester

Muestra	r de Pearson	IC <sub>95%</sub> *	p
Hombre (8-12 años)	0,73	0,65-0,79*	0,0001
Mujer (8-12 años)	0,58	0,46-0,68	0,0001
Hombre (13-15 años)	0,43	0,30-0,53*	0,0001
Mujer (13-15 años)	0,62	0,52-0,70	0,0001

IC: intervalo de confianza  
 Hubo diferencia estadística entre los niveles de correlación.

**Cuadro 5.** Ecuaciones de regresión para la estimación de la frecuencia cardiaca a partir del esfuerzo percibido (EPIInfant)

Muestra	Ecuación	p
Hombre (8-12 años)	FC = -7,28 + 0,085EP	0,0001
Mujer (8-12 años)	FC = -4,61 + 0,067EP	0,0001
Hombre (13-15 años)	FC = -1,87 + 0,023EP	0,0001
Mujer (13-15 años)	FC = -4,81 + 0,045EP	0,0001

FC: frecuencia cardiaca  
 EP: esfuerzo percibido medido mediante la escala EPIInfant

En cuanto a la confiabilidad entre observadores, el coeficiente de correlación intraclase global calculado fue de 0,88 (0,82-0,92) en hombres y de 0,94 (0,91-0,96) en mujeres. En la figura 5 se muestra el análisis de las diferencias individuales del esfuerzo percibido hecho mediante el método de Bland y Altman, en el cual se observa que el promedio de la diferencia del esfuerzo percibido fue de 0,9 (-1,8 a 3,6) en ambos sexos.

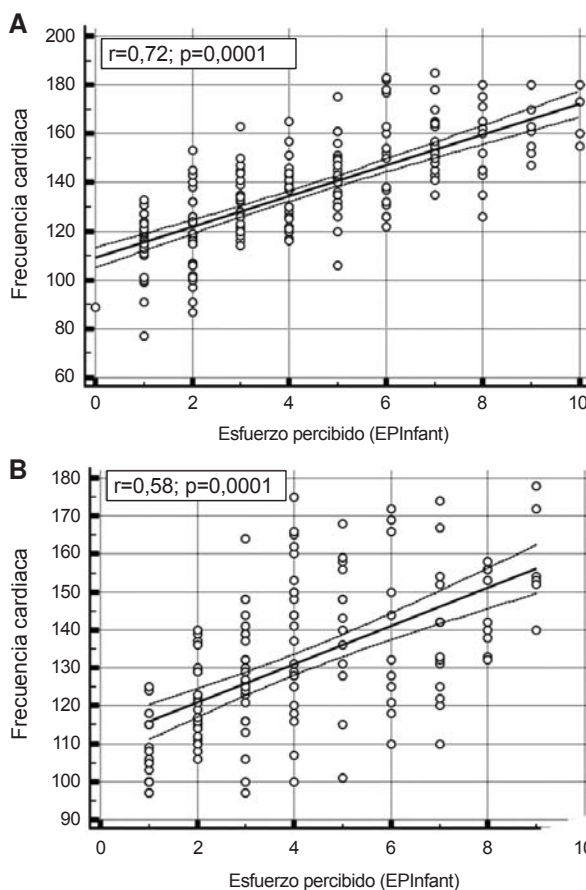
**Discusión**

Los principales hallazgos del estudio fueron los siguientes: la escala EPIInfant mostró una correlación positiva con la frecuencia cardiaca y un gran nivel de confiabilidad durante una prueba de ejercicio de intensidad creciente en escalón.

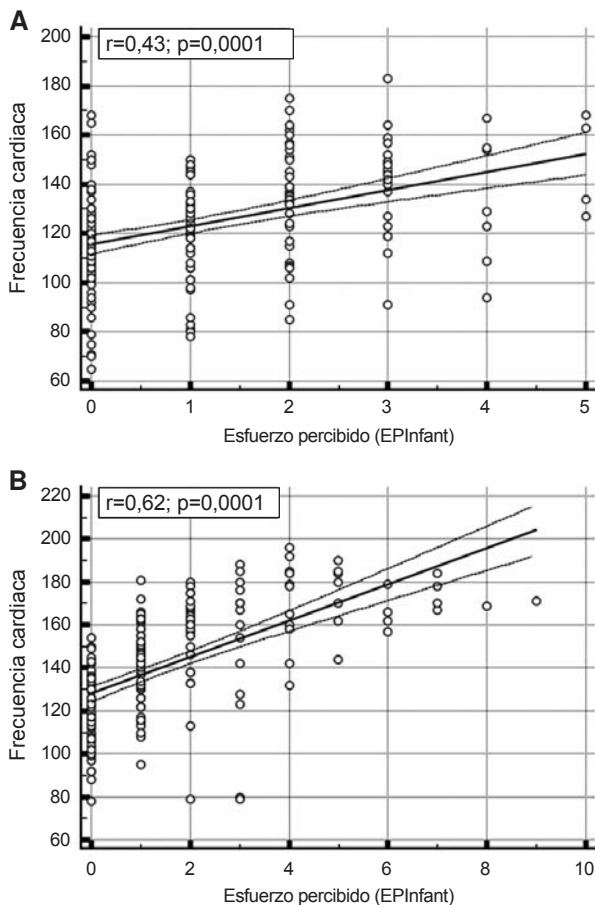
La escala es un instrumento que incluye descriptores gráficos apropiados para las distintas etapas de madurez cognitiva de sujetos menores de 18 años, razón por la cual se estudiaron dos grupos de edad establecidos según la clasificación de Piaget (8).

Por otra parte, las cargas de trabajo desarrolladas durante la prueba fueron significativamente distintas entre sujetos del mismo sexo y distinta edad (cuadro 2), lo cual responde a que el cálculo de la carga (Watts) durante la prueba se hizo en función de la estatura y el peso (21). En la muestra estudiada, los sujetos del grupo de 13 a 15 años tenían mayor estatura y peso que los del grupo de 8 a 12 años.

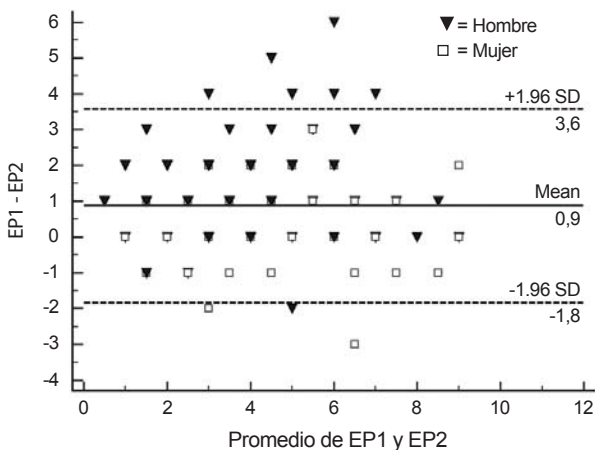
Con respecto a la respuesta fisiológica durante el test de Chester, solo las mujeres del grupo de inteligencia formal alcanzaron una frecuencia cardiaca significativamente superior al resto de los sujetos. Ninguno de los subgrupos superó el umbral de 90 % de frecuencia cardiaca máxima teórica (grupo de 8 a 12 años: 79,7 % y 81,9 %; grupo de 13 a 15 años: 75,9 % y 86,4 %, en hombres y mujeres, respectivamente). Esto sugiere que la prueba de ejercicio se comportó como una prueba de intensidad gradualmente creciente ‘submáxima’, como ya se ha descrito en la literatura científica. En una muestra de adultos jóvenes sanos (con edad promedio de 22,4 años), Buckley, *et al.*, observaron que la frecuencia cardiaca al final de la prueba de ejercicio alcanzó el 81,1 % de la frecuencia cardiaca máxima; además, la percepción del esfuerzo llegó a 14,2 puntos en la escala de Borg (6 a 20), lo cual equivale a un 71 % del valor máximo teórico (19).



**Figura 3.** Análisis de regresión lineal de la frecuencia cardiaca en función del esfuerzo percibido (EPIInfant) durante el test de Chester en los sujetos pertenecientes a la etapa de operaciones concretas (8-12 años). **A.** Hombres. **B.** Mujeres. La raya continua representa la línea de regresión y la segmentada representa el intervalo de confianza de 95 %.



**Figura 4.** Análisis de regresión lineal de la frecuencia cardiaca en función del esfuerzo percibido (EPInfant) durante el test de Chester, en los sujetos pertenecientes a la etapa de inteligencia formal (13-15 años). **A.** Hombres. **B.** Mujeres. La raya continua representa la línea de regresión y la segmentada representa el intervalo de confianza de 95 %.



**Figura 5.** Confiabilidad prueba-reprueba de la escala EPInfant. El gráfico de Bland-Altman muestra las mediciones repetidas del esfuerzo percibido por dos evaluadores. Los resultados se muestran en promedios y desviación estándar.

En este estudio ningún grupo superó los 8 puntos de esfuerzo percibido. Se debe considerar que durante la etapa de inducción se enfatizó en que la escala EPInfant pretende medir el esfuerzo percibido general y no local (por ejemplo, fatiga de piernas); por este motivo, es de esperarse que una prueba de escalón, cuyo estímulo fatigante va dirigido principalmente a la musculatura de las piernas, produzca una percepción de esfuerzo general inferior a la percepción de esfuerzo en las extremidades inferiores. En 40 niños de ambos sexos entre los 10 y los 11 años de edad, Robertson, *et al.*, constataron que el esfuerzo percibido general fue inferior a la percepción de fatiga en las piernas durante una prueba de escalón de intensidad creciente (24). En su estudio, el nivel general de esfuerzo percibido y el de fatiga en las piernas al final de la prueba, fueron cercanos a 8 y 9, respectivamente, lo que es similar a lo observado en este estudio en el grupo de 8 a 12 años.

Vale la pena destacar que en ambos grupos de edad se utilizó una altura única del escalón (20 cm), lo cual puede explicar el hecho de que los participantes del grupo de 8 a 12 años experimentaran un mayor esfuerzo percibido que los sujetos del otro grupo, puesto que al tener una menor estatura respecto a la altura del escalón se produjo un mayor estrés fisiológico durante el ejercicio. Esto concuerda con lo descrito por Yelling, *et al.*, quienes observaron mayores niveles de esfuerzo percibido en escalón con altura única (25).

El esfuerzo percibido se correlacionó positivamente con la frecuencia cardiaca durante el test de Chester. Cabe señalar que en el paradigma de validación concurrente, la frecuencia cardiaca se ha utilizado ampliamente como criterio de referencia en estudios de validez de escalas de medición de esfuerzo percibido en poblaciones diversas y con distintas modalidades de ejercicio, principalmente en trotadora y bicicleta (11-14,23,25). No obstante, son escasos los estudios en que se han evaluado las propiedades psicométricas de la medición de esta variable en una prueba de escalón (24,25). En el estudio de Robertson, *et al.*, se observó la existencia de una fuerte correlación positiva entre la percepción de esfuerzo y la frecuencia cardiaca durante una prueba de escalón de intensidad gradualmente creciente en hombres y mujeres de 10 y 11 años ( $r=0,88$  y  $r=0,83$ , respectivamente) utilizando la escala OMNI para evaluar el esfuerzo percibido (24).

Por su parte, Yeilling, *et al.*, observaron una correlación débil en niños entre los 11 y 12 años de edad, y entre moderada y fuerte en niñas de 14 y 15 años (25). En este estudio, pese a que los niveles de correlación observados fueron distintos en cada grupo de edad y sexo (entre 0,43 y 0,73), fue posible generar un modelo de regresión muy significativo ( $p < 0,0001$ ) para la estimación del estrés fisiológico (frecuencia cardíaca) a partir del esfuerzo percibido en los cuatro grupos estudiados, lo que sugiere la existencia de un importante grado de dependencia entre la percepción del esfuerzo, medido mediante la escala EPIInfant, y el estrés fisiológico durante el ejercicio de intensidad creciente.

Por otra parte, se registró un alto nivel de confiabilidad entre observadores, tanto en hombres como mujeres del grupo de 8 a 12 años. Estos resultados concuerdan con los reportados por Leung, *et al.*, quienes constataron un alto nivel de confiabilidad (coeficiente de correlación intraclassa mayor de 0,80) en la medición del esfuerzo percibido en niños entre los 10 y 11 años, durante una prueba de ejercicio de intensidad creciente en cicloergómetro (26).

Estos resultados representan el primer estudio de validez de la escala EPIInfant desde su diseño. En este contexto, aún es necesario verificar su validez en función de otras variables fisiológicas consideradas como patrones de referencia: volumen de oxígeno, trabajo respiratorio, ventilación por minuto y nivel de lactato, entre otras. Además, queda por verificar su rendimiento en otras modalidades de ejercicio, como la bicicleta, la trotadora y la prueba de campo. El conocimiento de sus propiedades psicométricas en distintos contextos permitirá su recomendación tanto en el ámbito clínico como en el deportivo.

Por último, se puede concluir que la escala EPIInfant es un instrumento válido para medir el esfuerzo percibido durante el ejercicio en niños y niñas con distintos grados de madurez cognitiva. Además, se registró un alto nivel de confiabilidad entre observadores en el grupo de 8 a 12 años. Estos resultados instan a continuar evaluando su rendimiento en distintos contextos.

### Agradecimientos

A los estudiantes y profesores de los colegios en donde se llevó a cabo este estudio, así como a los alumnos de Kinesiología Karen Troncoso, Paula Troncoso, Rodrigo Briceño, Yerko Guíñez, Diego Moreira, María Ignacia Quezada y Mario Soto, por su valiosa colaboración en la ejecución de este estudio.

Los autores certifican que las personas mencionadas en los agradecimientos estuvieron de acuerdo con su aparición en ellos.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Este estudio fue financiado por la Escuela de Kinesiología de la Universidad San Sebastián y el Programa de Doctorado en Ciencias Médicas de la Universidad de la Frontera, Temuco, Chile.

### Referencias

1. **Borg G.** Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med.* 1970;2:92-8.
2. **Smirmaul B de P.** Sense of effort and other unpleasant sensations during exercise: Clarifying concepts and mechanisms. *Br J Sports Med.* 2012;46:308-11. <http://dx.doi.org/10.1136/bjism.2010.071407>
3. **Marcora S.** Perception of effort during exercise is independent of afferent feedback from skeletal muscles, heart, and lungs. *J Appl Physiol* (1985). 2009;106:2060-2. <http://dx.doi.org/10.1152/jappphysiol.90378.2008>
4. **Dunbar CC, Robertson RJ, Baun R, Blandin MF, Metz K, Burdett R, et al.** The validity of regulating exercise intensity by ratings of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 1992;24:94-9.
5. **Buckley JP, Eston RG, Sim J.** Ratings of perceived exertion in braille: Validity and reliability in production mode. *Br J Sports Med.* 2000;34:297-302. <http://dx.doi.org/10.1136/bjism.34.4.297>
6. **Hartshorn JE, Lamb KL.** The reproducibility of perceptually regulated exercise responses during short-term cycle ergometry. *Int J Sports Med.* 2004;25:362-7. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2004-815840>
7. **Kang J, Chaloupka EC, Biren GB, Mastrangelo MA, Hoffman JR.** Regulating intensity using perceived exertion: Effect of exercise duration. *Eur J Appl Physiol.* 2009;105:445-51. <http://dx.doi.org/10.1007/s00421-008-0922-4>
8. **Gros Lambert A, Mahon AD.** Perceived exertion: Influence of age and cognitive development. *Sports Med.* 2006;36:911-28.
9. **Williams JG, Eston R, Furlong B.** CERT: A perceived exertion scale for young children. *Percept Mot Skills.* 1994;79:1451-8.
10. **Eston RG, Lamb KL, Bain A, Williams AM, Williams JG.** Validity of a perceived exertion scale for children: A pilot study. *Percept Mot Skills.* 1994;78:691-7. <http://dx.doi.org/10.2466/pms.1994.78.2.691>
11. **Robertson RJ, Goss FL, Boer NF, Peoples JA, Foreman AJ, Dabayebeh IM, et al.** Children's OMNI scale of perceived exertion: Mixed gender and race validation. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32:452-8.
12. **Utter AC, Robertson RJ, Nieman DC, Kang J.** Children's OMNI scale of perceived exertion: Walking/running evaluation. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34:139-44.



13. **Roemmich JN, Barkley JE, Epstein LH, Lobarinas CL, White TM, Foster JH.** Validity of PCERT and OMNI walk/run ratings of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 2006;38:1014-9. <http://dx.doi.org/10.1249/01.mss.0000218123.81079.49>
14. **Barkley JE, Roemmich JN.** Validity of the CALER and OMNI-bike ratings of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40:760-6. <http://dx.doi.org/10.1249/MSS.0b013e318161729b>.
15. **Pfeiffer KA, Pivarnik JM, Womack CJ, Reeves MJ, Malina RM.** Reliability and validity of the Borg and OMNI rating of perceived exertion scales in adolescent girls. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34:2057-61.
16. **Zenteno D, Puppo H, González R, Kogan R.** Test de marcha de 6 minutos en pediatría. *Neumol Pediatr.* 2007;2:109-14.
17. **Zenteno D, Puppo H, Vera R, Torres R, Kuo C-Y, Salinas P, et al.** Guías de rehabilitación para niños con enfermedades respiratorias crónicas. *Neumol Pediatr.* 2007;3:25-33.
18. **Rodríguez I, Henríquez S, Vásquez P, Zenteno D.** Test de caminata de seis minutos y función pulmonar en pacientes con bronquiolitis obliterante post infecciosa. *Rev Chil Enferm Respir.* 2014;30:68-74. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-73482014000200002>
19. **Buckley JP, Sim J, Eston RG, Hession R, Fox R.** Reliability and validity of measures taken during the Chester step test to predict aerobic power and to prescribe aerobic exercise. *Br J Sports Med.* 2004;38:197-205. <http://dx.doi.org/10.1136/bjism.2003.005389>
20. **Karloh M, Correa KS, Martins LQ, Araújo CL, Matte DL, Mayer AF.** Chester step test: Assessment of functional capacity and magnitude of cardiorespiratory response in patients with COPD and healthy subjects. *Braz J Phys Ther.* 2013;17:227-35. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-35552012005000087>
21. **de Camargo AA, Justino T, de Andrade CH, Malaguti C, Dal Corso S.** Chester step test in patients with COPD: Reliability and correlation with pulmonary function test results. *Respir Care.* 2011;56:995-1001. <http://dx.doi.org/10.4187/respcare.01047>
22. **de Andrade CH, de Camargo AA, de Castro BP, Malaguti C, Dal Corso S.** Comparison of cardiopulmonary responses during 2 incremental step tests in subjects with COPD. *Respir Care.* 2012;57:1920-6. <http://dx.doi.org/10.4187/respcare.01742>
23. **Andrade FA, Denadai BS.** Validade das equações preditivas da frequência cardíaca máxima para crianças e adolescentes. *Arq Bras Cardiol.* 2011;97:136-40.
24. **Robertson RJ, Goss FL, Andreacci JL, Dube JJ, Rutkowski JJ, Snee BM, et al.** Validation of the children's OMNI RPE scale for stepping exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2005;37:290-8.
25. **Yelling M, Lamb KL, Swaine I.** Validity of a pictorial perceived exertion scale for effort estimation and effort production during stepping exercise in adolescent children. *Eur Phys Educ Rev.* 2002;8:157-75. <http://dx.doi.org/10.1177/1356336X020082007>
26. **Leung ML, Chung PK, Leung RW.** An assessment of the validity and reliability of two perceived exertion rating scales among Hong Kong children. *Percept Mot Skills.* 2002;95:1047-62. <http://dx.doi.org/10.2466/pms.2002.95.3f.1047>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Producción y evaluación del antígeno recombinante TES-30 de *Toxocara canis* para el inmunodiagnóstico de toxocariasis

Ana M. Olave<sup>1</sup>, Jairo A. Mesa<sup>1</sup>, Jorge H. Botero<sup>1</sup>, Edwin B. Patiño<sup>2</sup>, Gisela M. García<sup>1</sup>, Juan F. Alzate<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Instituto de Química, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** *Toxocara canis* es un nematodo patógeno de cánidos que accidentalmente puede ser transmitido a los humanos. A pesar de la importancia de la serología para el diagnóstico de esta zoonosis, los kits diagnósticos usan antígenos crudos de excreción-secreción, en su mayoría glucoproteínas que no son específicas de especie, por lo cual pueden presentarse reacciones cruzadas con anticuerpos generados contra otros parásitos.

**Objetivos.** Producir el antígeno recombinante TES-30 de *T. canis* y evaluarlo para el inmunodiagnóstico de la toxocariasis.

**Materiales y métodos.** Se clonó el gen que codifica TES-30 en el vector de expresión pET28a (+), usando oligonucleótidos de cadena sencilla unidos mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La proteína rTES-30 se purificó por cromatografía de afinidad (Ni<sup>2+</sup>). La reacción serológica de rTES-30 se evaluó mediante *immunoblot*. Teniendo en cuenta que no existe una prueba de referencia, se observó el comportamiento del antígeno en comparación con la prueba de rutina para el inmunodiagnóstico de la toxocariasis, es decir, la técnica ELISA convencional con antígenos de excreción-secreción.

**Resultados.** El rTES-30 se produjo a partir de un cultivo de *Escherichia coli* LB, con un rendimiento de 2,25 mg/l y 95 % de pureza. La concordancia de la reacción entre el *immunoblot* rTES-30 y la ELISA convencional, fue de 73 % (46/63) y de 100 % con los 21 sueros no reactivos. De los 21 sueros con diagnóstico de otras parasitosis, 19 fueron reactivos con ELISA, mientras que tan solo siete fueron positivos con el *immunoblot* rTES-30. La concordancia entre la ELISA y el *immunoblot* fue moderada (índice kappa de 0,575; IC<sub>95%</sub> 0,41-0,74).

**Conclusiones.** Los datos presentados respaldan la utilidad del *immunoblot* rTES-30 para la confirmación de los posibles positivos por ELISA, no solo en los estudios epidemiológicos, sino también, como candidato para el desarrollo de pruebas diagnósticas de la toxocariasis ocular en Colombia.

**Palabras clave:** *Toxocara canis*, toxocariasis/diagnóstico, antígeno, pruebas inmunológicas.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2617>

### Production and evaluation of the recombinant antigen TES-30 of *Toxocara canis* for the immunodiagnosis of toxocariasis

**Introduction:** *Toxocara canis* is a pathogenic nematode of canines which can be accidentally transmitted to humans. Although serology is the most important diagnostic tool for this zoonosis, diagnostic kits use crude excretion/secretion antigens, most of them being glycoproteins which are not species-specific and may cross-react with antibodies generated against other parasites.

**Objectives:** To produce the rTES-30 recombinant antigen of *Toxocara canis* and evaluate it in the immunodiagnosis of toxocariasis.

**Materials and methods:** The gene that codes for TES-30 was cloned in the expression vector pET28a (+) using single-stranded oligonucleotides united by PCR. The protein rTES-30 was purified by Ni<sup>2+</sup> affinity chromatography. Seroreactivity of rTES-30 was evaluated by immunoblot. Given that there is no gold standard test, the behaviour of the antigen was compared with the method that is routinely used to immunodiagnose toxocariasis, i.e., the conventional ELISA technique using excretion/secretion antigens.

#### Contribución de los autores:

Ana M. Olave, Jairo A. Mesa, Gisela M. García: desarrollo de experimentos

Jorge H. Botero: asesoría en el análisis estadístico

Edwin B. Patiño: asesoría en la purificación de proteínas

Juan F. Alzate: coordinación general del proyecto

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

**Results:** The rTES-30 was produced from an *Escherichia coli* LB culture which yielded 2.25 mg/L of the antigen with a purity of 95%. The results obtained showed 73% (46/63) concordance of reactivity between the rTES-30 immunoblot and the conventional ELISA, and 100% concordance with the non-reactive sera (21). Nineteen of the 21 sera positive for other parasitoses reacted with ELISA, while only seven of these were positive with the rTES-30 immunoblot. Concordance between the ELISA and the immunoblot was moderate (kappa coefficient: 0.575; 95% CI: 0.41- 0.74).

**Conclusions:** The data presented show the potential of the rTES-30 immunoblot for confirmation of possible ELISA positives, not only in epidemiological studies, but also as a candidate for the development of diagnostic tests for ocular toxocariasis in Colombia.

**Key words:** *Toxocara canis*, toxocariasis/diagnosis, antigen, immunologic tests.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2617>

La toxocariasis es una infección parasitaria cuyo agente etiológico es un nematodo perteneciente al género *Toxocara*, el cual incluye más de 30 especies descritas. Como especies con potencial patógeno para el humano, se han descrito *Toxocara canis* (Werner 1782) y *T. cati* (Schrank 1788), las cuales parasitan perros y gatos, respectivamente. La especie de mayor importancia epidemiológica es *T. canis* por varias razones: i) la mayoría de las larvas encontradas en casos humanos se han identificado como *T. canis*; ii) los huevos de *T. canis* se recuperan con mayor frecuencia en las muestras de tierra que los huevos de *T. cati*, y iii) los estudios epidemiológicos indican que el contacto con los perros es un importante factor de riesgo, lo que no sucede con el contacto con los gatos (1).

El ser humano es un huésped accidental (paraténico) del parásito si ingiere los huevos larvados de *Toxocara* spp. Los niños están especialmente en riesgo, ya que están más expuestos a los huevos larvados del parásito al jugar en cajas de arena o parques públicos potencialmente contaminados debido al manejo inadecuado en estos sitios de las heces de perros y gatos infectados (2). Otro mecanismo de dispersión de los huevos es por aguas contaminadas que luego son consumidas directamente o al ingerir vegetales contaminados (3-5).

Una vez ingeridos, las enzimas digestivas ayudan a disolver la cubierta de los huevos larvados de *Toxocara* spp., lo que permite la eclosión de las larvas en el intestino. Estas larvas penetran la

mucosa intestinal y migran por vía sanguínea a diferentes órganos, generalmente, el hígado, el pulmón, el cerebro o el ojo, en cuyos tejidos las larvas permanecen latentes y quedan encapsuladas, dando origen a la formación de granulomas. La reacción inflamatoria asociada genera eosinofilia e inflamación, hemorragia y necrosis localizada alrededor del granuloma. Aunque algunas de las larvas pueden ser eliminadas por el sistema inmunitario, la mayoría solo detiene su crecimiento, pero permanece metabólicamente activa. Cabe resaltar que, a diferencia de lo que ocurre en el perro, los humanos no desarrollan los parásitos adultos, ya que el parásito no es capaz de continuar con las siguientes fases de desarrollo (6-8).

Existen dos síndromes que han sido bien documentados en la literatura científica internacional desde el primer reporte en los años 50: el síndrome de larva migrans visceral, que se manifiesta en forma generalizada, y el síndrome de larva migrans ocular (actualmente denominado toxocariasis ocular), que se manifiesta en forma localizada, es el más frecuente y puede derivar en ceguera en 64 % de los casos (3,9,10). Sin embargo, el espectro de la patogenia de la toxocariasis humana ha dado lugar a la descripción de otras formas clínicas que, aunque menos conocidas, han cobrado importancia clínica en los últimos años (3,9-12).

En Colombia, al igual que a nivel internacional, la prevalencia y la incidencia de la toxocariasis son difíciles de estimar debido a que sus manifestaciones clínicas son inespecíficas, a la inexistencia de una prueba diagnóstica definitiva que, además, pueda utilizarse en estudios epidemiológicos a gran escala, así como a la escasa formación del personal de atención en salud humana y veterinaria en el manejo de esta parasitosis, y la ausencia de un sistema nacional de registro y control. Esta situación pone en evidencia el riesgo actual que ofrece el nematodo patógeno *T. canis* para la salud pública colombiana. La infección por

Correspondencia:

Juan Fernando Alzate, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Calle 51D N° 62-29, Medellín, Colombia  
Teléfono: (574) 219 6055; fax: (574) 219 6050  
[jfernando.alzate@udea.edu.co](mailto:jfernando.alzate@udea.edu.co)

Recibido: 20/11/14; aceptado: 21/07/15

*T. canis* en perros es de distribución mundial y su prevalencia varía entre 0 y 99,4 %, dependiendo de la ubicación geográfica (11,13,14). Las tasas de seroprevalencia en humanos en América Latina oscilan entre 2,5 y 63,2 % (15-20).

En Colombia se han realizado estudios puntuales de toxocariasis; el primer caso confirmado de larva migrans visceral fue descrito por Correa, *et al.*, en 1966 (21). Uno de los pocos estudios seroepidemiológicos hechos en el país fue el de Agudelo, *et al.*, de la Universidad Nacional, sede Bogotá, en 1990, en una población de bajos recursos económicos de la capital colombiana. En este estudio se utilizó la prueba ELISA con antígenos de excreción-secreción y se encontró que 47,5 % de las personas presentaban títulos de anticuerpos positivos para *Toxocara* spp. (22). En otro estudio llevado a cabo en el 2000 en la localidad de Ciudad Bolívar de Bogotá, se demostró 7,3 % de seropositivos en un grupo de 193 niños entre 4 y 14 años de edad, procedentes de establecimientos educativos (23).

En otro estudio en la ciudad de Medellín, se reportó una seroprevalencia de 63,3 % en un grupo de 30 individuos entre los 0 y 17 años de edad con manifestaciones oculares relacionadas con larva migrans ocular, remitidos de los centros oftalmológicos de Medellín. Sin embargo, de acuerdo con los criterios clínicos, epidemiológicos y serológicos, la frecuencia de toxocariasis ocular fue de 20 %. En este estudio se utilizó la técnica ELISA con antígenos de excreción-secreción (2). Entre los años 1996 y 2002, se reportó una seroprevalencia de IgG anti-*T. canis* de 16,2 % en suero y de 10 % en humor vítreo, en pacientes remitidos al Instituto Nacional de Salud con sospecha de larva migrans ocular y visceral, de toxocariasis o toxoplasmosis. Del total de muestras positivas en suero, 15,9 % correspondió a pacientes con impresión diagnóstica de toxocariasis ocular; 50 %, de toxocariasis visceral; 25 %, de toxoplasmosis; 11,6 %, de toxocariasis o toxoplasmosis, y 11,6 % correspondió a pacientes que ingresaron sin datos (24). Estas pruebas ELISA se hicieron también con antígeno de excreción-secreción de larvas L<sub>2</sub> de *T. canis*.

El diagnóstico de la toxocariasis se basa en la sospecha clínica, teniendo en cuenta los antecedentes de geofagia y de contacto con perros, y un cuadro clínico de leucocitosis y eosinofilia, y, principalmente, reacción serológica a antígenos de *T. canis*. La técnica serológica más

utilizada actualmente es la ELISA con antígenos de excreción-secreción (25-27), los cuales se originan en los órganos secretorios del parásito (la glándula esofágica y el poro secretor); dado que generalmente corresponden a glucoproteínas que no son específicas de especie, pueden presentarse reacciones cruzadas con anticuerpos generados por otras enfermedades o contra otros parásitos (28).

En los estudios moleculares de los antígenos de excreción-secreción, se han podido caracterizar e identificar los genes que codifican varias de sus proteínas más importantes. Es así como los antígenos TES-26, TES-30 y TES-120 se han convertido en la alternativa recombinante para este antígeno. El TES-30 se ha evaluado exitosamente en varios países (29-31), incluido Brasil. Sin embargo, en Colombia aún no se ha evaluado ninguno de estos antígenos en su función de proteínas recombinantes alternativas a los antígenos de excreción-secreción. En este trabajo se produjo y se purificó el antígeno recombinante rTES-30 de *T. canis* y se evaluó su reacción con sueros de individuos sanos (parasitológicamente negativos), pacientes con otras parasitosis y pacientes con sospecha clínica de toxocariasis ocular. Asimismo, se compararon estos resultados con los obtenidos mediante la prueba convencional ELISA con antígeno de excreción-secreción.

## Materiales y métodos

### **Diseño del gen sintético que codifica la proteína rTES-30**

El diseño del gen sintético que codifica para la proteína rTES-30 de *T. canis*, se hizo a partir de la secuencia del gen *tes30* reportada en el *GenBank* (número de acceso AB009305). Inicialmente, se identificó un péptido de señalización putativo de 21 aminoácidos en la región N-terminal de *tes30* (signal P 4.1). Esta secuencia se conservó inicialmente en el gen sintético y, posteriormente, se optimizó la región codificante para la expresión recombinante en *Escherichia coli*. Utilizando el algoritmo del *Graphical Codon Usage Analyser* (GCUA), se identificaron los codones de baja frecuencia (según la tabla de uso de codones de *E. coli*). En la secuencia original de *tes30*, los codones AGG, CAA, TGT, AGG, AGA, poco frecuentes en *E. coli*, se reemplazaron por los codones CGC, CAG, TGC, CGT, CGC, respectivamente (codones sinónimos y de mayor frecuencia).



Una vez optimizada la región de codificación, se diseñó la estrategia para la síntesis y el ensamblaje del gen sintético que codifica para *tes30*. Para ello, se diseñaron seis oligonucleótidos de ADN de cadena sencilla, a partir de los cuales se ensamblaría el gen sintético completo. Inicialmente, la secuencia optimizada se dividió mediante simulación computacional en los fragmentos principales N y C, para facilitar el diseño de los oligonucleótidos. Para la síntesis de cada fragmento, N o C, se sintetizaron dos oligonucleótidos correspondientes a las cadenas complementarias (Tc30Nfw-Tc30Nrv para el fragmento N y Tc30Cfw-Tc30Crv para el fragmento C), los cuales contenían una región de solapamiento y una complementaria de 18 y 19 pares de bases, respectivamente (región de alineamiento), que permitiría el alineamiento y síntesis por elongación con la *Taq* ADN polimerasa. Ambos fragmentos serían posteriormente fusionados mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con los oligonucleótidos externos TcfusNfw-*Bam*HI y TcfusCrv-*Hind*III.

La construcción del gen sintético se llevó a cabo de la siguiente forma: el fragmento N se sintetizó por elongación con *Taq* ADN polimerasa a partir de los oligonucleótidos alineados Tc30Nfw en sentido 5'-ACCCCAACAACCACACGGCGCATGATCGCCGCAATCGTCGTTTTGTTATGTCTCCACCTCTCCGCCACCAATGCTTGCGCCACCAACAATGACTGTGGTATTTTCCAAGTGTGCGTTAACAACGTCTGCGTTGCCAATAACCAAGGATGCAATCCGCCTTGTGTGCCTCCGCAGGTTTGC GTTGCACCA-3' y Tc30Nrv en antisentido 5'-GTGCACCAGTCGC TAGCCTGGTTGAAAAGGAAGCGTCCAGGTAGA GAGGCGATATAGCAATTGTTGTTGAACGGCGTCCAATTGGGTGGGCAGGCACGTGGTCTTGTA GTTGTAACGCCTGGAGCTGCAGTTGTAGTGGC TGCCGGTGGAGGGGCGACACACATTGGT GCAACGCAAACCTG-3' de 189 y 182 bases, respectivamente. Ambos oligonucleótidos se mezclaron con una concentración final de 0,08  $\mu$ M en la reacción de elongación con las siguientes condiciones: 1 minuto a 95 °C, 20 segundos a 55 °C y 2 minutos a 72 °C (0,05 mM de dNTP, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 2,5 U/100  $\mu$ l de *Taq* pol). De la misma forma, la síntesis del fragmento C se hizo usando los oligonucleótidos Tc30Cfw en sentido 5'-CAGGCTAGCGACTGGTGCACACAGACTGGCTCAAGAGTTGTGTGGTTTCGACCAGTCGACTGTAGGAACTTCGGCAGCGAACTGAACTTCGTCAACAGTTTCGCTCTCGGTCTGGAGTAACCGTTACTGGATAGGAGTGAACAGACAGTTCCGCCAGTGGGTGTTTACG-3', de 171 bases,

y Tc30Crv en antisentido 5'-GA GAGGGCGCTTGCATACGAAGCCTTGTGGAGTCGTAAACAAAC TTCCGCATGGGGCATCATCCCATTGGC CGAGGAAGTTCGCGTAATTAACGAACGCACACGTGACGTTGGAACCACAGCATCCGTCCGGTTGACTAGGACGCCAGTTTCGAAAATATCACTGGA CTTCCATTTCGTAAACACCCACTGGCCG-3', de 193 bases, mediante un ciclo de elongación con *Taq* ADN polimerasa y bajo las mismas condiciones en las que se hizo la elongación del fragmento N.

Por último, se hizo una de fusión con *Pfu* ADN polimerasa usando como molde 1  $\mu$ l de la mezcla de los fragmentos N y C elongados en la reacción anterior con las siguientes condiciones: 1 ciclo durante 1 minuto a 95 °C, 25 ciclos durante 40 segundos a 94 °C, 40 segundos a 55 °C, 1 minuto a 72 °C y un ciclo de 5 minutos a 72 °C (0,2 mM de dNTP, solución tampón *Pfu* 1X, 0,2  $\mu$ M de TcfusNfw-*Bam*HI, 0,2  $\mu$ M de TcfusCrv-*Hind*III, 2U/50  $\mu$ l de *Pfu* ADN polimerasa, 1  $\mu$ l de ADN). En la PCR de fusión se utilizaron los oligonucleótidos TcfusNfw-*Bam*HI 5'-CCGGATCCACCCCAACAACCACACG GC-3', de 27 bases y TcfusCrv-*Hind*III 5'-CCC AAGCTTGAGAGGGCGCTTGCATACGA-3', de 29 bases, los cuales contenían las dianas de restricción *Bam*HI y *Hind*III para facilitar la clonación en el vector de expresión pET28a (+).

Todos los oligonucleótidos de cadena sencilla de ADN fueron sintetizados por la empresa IDT (Skokie, Illinois, USA). Tras la clonación inicial en el vector de expresión pET28a, se generó una segunda versión del gen sintético rTES-30 que excluía la región del péptido de señalización previamente identificado. Esto se logró al 'subclonar' en el mismo vector de expresión el fragmento amplificado mediante PCR con el oligonucleótido interno TcfusN-NSP-fw-*Bam*HI 5'-CCCGGATCCGCCACCAATG CTTGCGCCA-3' y el previamente descrito TcfusCrv-*Hind*III. El constructo definitivo del rTES-30 sin péptido de señalización se denominó pET28a-rTES-30-NSP. Los constructos sintetizados se verificaron mediante secuenciación capilar según el método de Sanger (Macrogen).

### **Expresión y evaluación de la solubilidad de la proteína rTES-30 en diferentes cepas de *Escherichia coli***

Para la expresión de la proteína recombinante se utilizó la cepa de *E. coli* BL21(DE3) de la empresa Novagen (Darmstadt, Alemania), transformada con protocolos estándar de choque térmico y cloruro de calcio (32). Los cultivos para la inducción se

hicieron en medio líquido Luria Bertani (LB) con suplemento de 50 µg/ml de kanamicina durante 15 horas a 37 °C, con agitación constante de 240 rpm. Pasadas las 15 horas, se cambió el medio, posteriormente, se diluyó el cultivo a 1:50 con medio fresco y las bacterias se cultivaron hasta alcanzar una densidad óptica de 0,5 a 0,7 medida a 600 nm, y garantizando que las bacterias se encontraran en fase logarítmica de crecimiento. Después, se añadió el inductor isopropil-β-D-1-tiogalacto-piranósido (IPTG) (Fermentas, Lituania), en una concentración final de 0,5 mM.

Para evaluar la inducción, se tomaron alícuotas de 500 µl en los tiempos indicados en cada experimento: bacterias de control sin inducir (0 horas), lisado de bacterias a las 2 horas de inducción y a las 5 horas de inducción, las cuales se centrifugaron a 4.000 RCF durante 5 minutos. Los sedimentos de bacterias se suspendieron de nuevo en 100 µl de solución tampón desnaturante proteínas (2,5 ml de tris 0,5M pH 6,8, 5 ml de glicerol a 36 %, 0,4 g de SDS, 0,4 ml de azul de bromofenol al 0,4 %, 0,1 ml de beta-mercaptoetanol y 0,2 ml de agua ultrapura). La muestra se sometió a ebullición a 100 °C durante 5 minutos y, finalmente, se separó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*, SDS-PAGE) al 12 %.

Para evaluar la solubilidad de la proteína recombinante, las bacterias inducidas se centrifugaron a 4.000 RCF durante 25 minutos; luego se descartó el sobrenadante, se pesó el sedimento resultante y se agregó solución tampón de lisis en una relación de 15 ml de solución tampón de sonicación (50 mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 300 mM de NaCl, 10 mM de imidazol, pH de 8,0 ajustado con NaOH) por gramo de bacterias. La sonicación se hizo con una amplitud de 70 % y pulsos de 59 segundos a intervalos de 10 segundos de descanso, para un tiempo final de 35 minutos. El lisado de bacterias se mantuvo en hielo durante el procedimiento efectuado en el sonicador VibraCell Sonics® (130 Watts). El lisado se centrifugó a 10.000 RCF y 4 °C durante 20 minutos. Posteriormente, se separó el sobrenadante del sedimento y estos productos se evaluaron mediante SDS-PAGE con gel separador al 12 %.

### **Solubilidad de los cuerpos de inclusión y purificación de la proteína rTES-30**

Los cuerpos de inclusión con la rTES-30 se sometieron a tres lavados, así: en el primero, con una solución de 100 mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM

de tris HCl, 10 mM de imidazol, un pH de 8,0 y centrifugación a 4.500 rpm y 4 °C durante 20 minutos; en el segundo, con 100 mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM de tris HCl, 10 mM de imidazol, 4 M de urea, 10 mM de 2-mercaptoetanol, tritón X100 al 1 %, pH de 8,0 y centrifugación a 4.500 rpm y 4 °C durante 20 minutos; y en el tercero, con 100 mM de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 mM de tris HCl, 10 mM de imidazol, pH de 8,0 y centrifugación a 4.500 rpm y 4 °C durante 20 minutos. Para hacer el seguimiento entre cada lavado, se tomó una alícuota que se analizó mediante SDS-PAGE con gel separador al 12 %. Al final, la solubilidad de los cuerpos de inclusión se hizo con una solución tampón desnaturante que contenía 10 mM de tris HCl, 10 mM de imidazol y 8 M de urea con un pH de 8,0.

La muestra se dejó así durante toda la noche a 25 °C y 90 rpm y, al cabo de este tiempo, se le sometió a centrifugación a 8.000 RCF e incubación durante 20 minutos a 4 °C. El sobrenadante y el sedimento se evaluaron mediante SDS-PAGE con gel separador al 12 %. La proteína solubilizada con la urea (sobrenadante) se cuantificó por absorción a 280 nm, usando un espectrofotómetro NanoDrop 2000c®. La purificación de la rTES-30 se hizo mediante cromatografía de afinidad por metales inmovilizados con Ni<sup>2+</sup> (*Immobilized Metal-Ion Affinity Chromatography*, IMAC), en un cromatógrafo Biologic Duoflow System® de BioRad, usando columnas Bio-Scale Mini Profinity (BioRad, CAT#732-4610) de 1 ml. Este experimento se desarrolló bajo condiciones desnaturantes con 8 M de urea y se eluyó con cambios de pH. Las fracciones obtenidas en la purificación se evaluaron mediante SDS-PAGE con gel separador al 12 % y mediante electroforesis capilar en un sistema Experion-BioRad®, para determinar la pureza de las fracciones proteicas obtenidas. Las fracciones seleccionadas se congelaron para su posterior uso en el *immunoblot*.

### **Immunoblot**

Para la evaluación de la proteína recombinante mediante *immunoblot* comparada con la prueba ELISA (TES), se utilizaron sueros que se encontraban almacenados a -80 °C desde el 2007, así:

Grupo 1: 63 sueros de pacientes remitidos al Grupo de Parasitología de la Universidad de Antioquia, con sospecha clínica de toxocariasis ocular, entre 2007 y 2013, y que habían resultado reactivos mediante la técnica ELISA (Ag TES nativos). Estos sueros se etiquetaron como sueros reactivos.

Grupo 2: 21 sueros de personas asintomáticas cuyo estudio coprológico y parasitológico seriado resultó negativo. Estos sueros se analizaron, además, mediante ELISA en el Grupo de Parasitología y se les etiquetó como sueros negativos.

Grupo 3: 21 sueros de pacientes con parasitosis intestinales como ascariasis, tricocefalosis, estrongiloidiasis y teniasis, y otras infecciones no intestinales como la toxoplasmosis ocular. Estos sueros se analizaron también mediante la prueba ELISA implementada en el Grupo de Parasitología.

La SDS-PAGE se hizo en minigeles según el método descrito por Laemmli en 1970 (33), usando 10 µg de proteína total. La transferencia de proteínas a la membrana de nitrocelulosa se ajustó al método convencional (Mini-Transblot de Bio-Rad). Finalizada la transferencia, la membrana de nitrocelulosa se tiñó con rojo de Ponceau para observar su eficiencia. El gel se tiñó con azul de Coomassie para verificar si la transferencia había sido completa.

La reacción inmunoenzimática se hizo con una primera incubación de una hora y media a 37 °C y con ligera agitación de 1,5 ml de suero diluido a 1:50 con tris salino más leche al 1 %. Luego, se hizo una segunda incubación con 1,5 ml de anti-IgG humana peroxidasa (Sigma) diluida a 1:500 en tris salino más leche al 1 % durante una hora y con ligera agitación. Para revelar la reacción, se añadió el sustrato diaminobencidina mejorada con metal (Pierce). La interpretación se basó en la observación de una banda en la membrana de nitrocelulosa de aproximadamente 28 kDa, correspondiente a rTES-30, y el resultado se expresó en términos de reacción: reactivo o no reactivo, según la presencia o ausencia de la banda, respectivamente.

### **Prueba ELISA con antígeno TES**

El antígeno TES se preparó en el Grupo de Parasitología diluyéndolo en solución tampón de carbonato-bicarbonato con pH de 9,6 hasta alcanzar una concentración de 1 µg/ml, y con este se sensibilizaron las placas de ELISA. Se incubó toda la noche a 37 °C en agitación. Al siguiente día, las placas se lavaron tres veces y luego se bloqueó con PBS-T más leche descremada (Colanta®) al 5 % (PBST-L) durante 90 minutos a 37 °C. Posteriormente, se añadieron en tres ocasiones los sueros diluidos a 1:20 en PBST y leche descremada (1 % p/v). El suero se incubó durante una hora a 37 °C en agitación. A continuación, se repitieron los

tres lavados con PBST y se agregó a cada pozo anti-IgG humana marcada con peroxidasa (Sigma) diluida a 1:8.000 en PBS-T-L al 2,5 % y se incubó durante una hora a 37 °C. Se lavó y se agregó a cada pozo sustrato de ortofenilendiamina (OPD) y se incubó durante 20 minutos más a 37 °C. La reacción se detuvo con la adición de 2,5 M de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Por último, se midió la absorbancia en un lector de placas de ELISA a una densidad óptica de 490 nm.

## **Resultados**

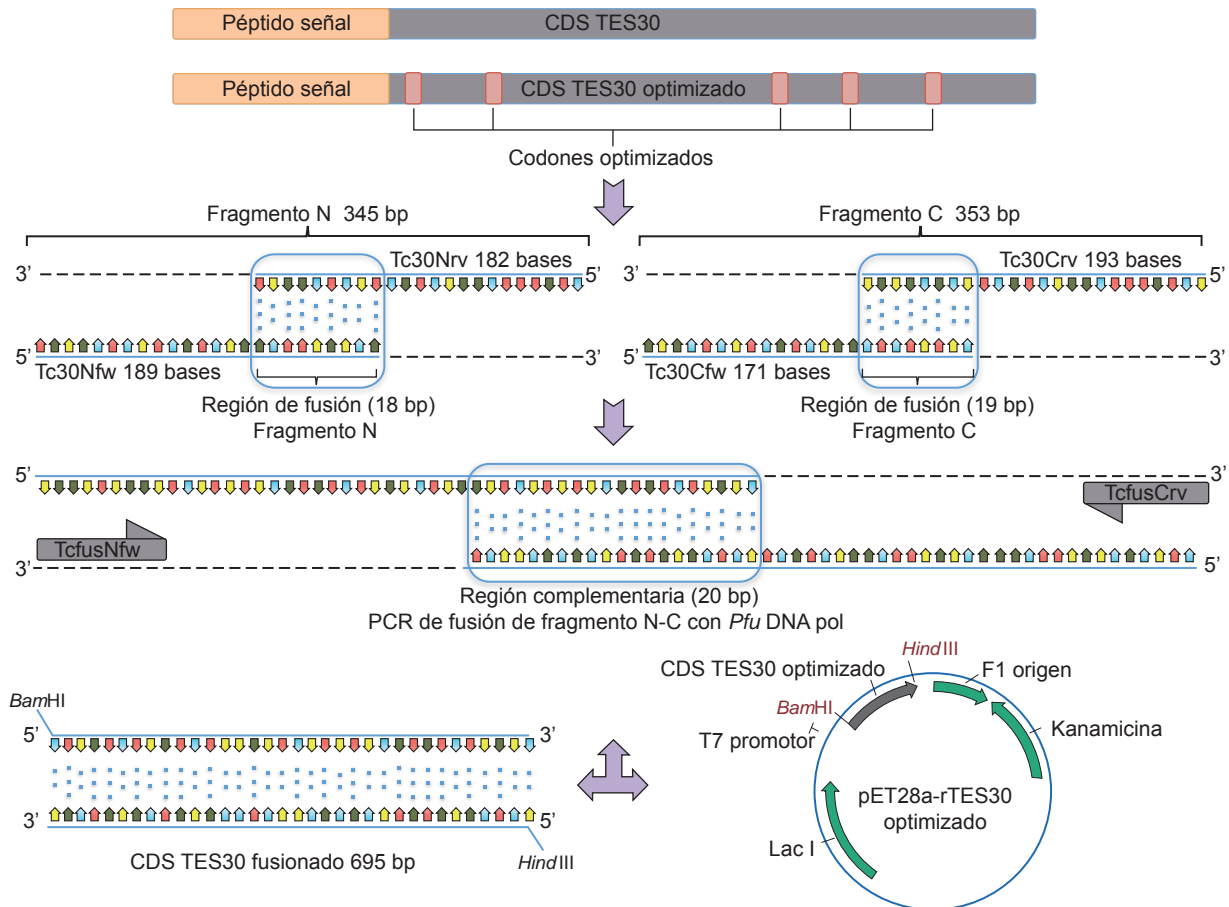
### **Síntesis y clonación del gen sintético que codifica la proteína rTES-30 de *Toxocara canis***

De acuerdo con la estrategia descrita en la metodología y resumida en la figura 1, se sintetizó la región codificante del gen de la proteína rTES-30. La figura 2 muestra el resultado de una electroforesis en gel de agarosa con los productos de la hibridación y elongación de los fragmentos N (353 bp) y C (345 bp), al igual que el producto final de la PCR de fusión en la que se observó claramente la secuencia codificadora de ADN sintética de 695 bp. Esta se clonó en el vector pET28a en los sitios de restricción *Bam*HI y *Hind*III.

En la versión inicial, el gen se sintetizó y se clonó completo, incluidos los codones que codifican el péptido de señalización. Los péptidos de señalización en eucariotas pueden afectar negativamente la expresión heteróloga en *E. coli*, razón por la cual se hizo una PCR con el oligonucleótido interno TcfusN-NSP-fw-*Bam*HI y el ya descrito TcfusCrv-*Hind*III, para amplificar la versión del gen *tes30*, excluyendo la secuencia correspondiente al péptido de señalización (figura 3). El fragmento amplificado, de 633 pb sin el péptido de señalización, se 'subclonó' en el pET28a (pET28-rTES-30-NSP), el cual se utilizó en todas las etapas de este trabajo.

### **Expresión y purificación del rTES-30**

Para la expresión de la rTES-30 se utilizó la cepa bacteriana BL21 (DE3) y el vector pET28a. Este sistema permitió agregar dos colas de histidina a la proteína blanco para su posterior purificación en columnas de Ni<sup>2+</sup> inmovilizado, y para hacerla inducible con el análogo de la lactosa IPTG. La inducción de la rTES-30 a una temperatura de 37 °C y una concentración de inductor de 0,5 mM, expresó, a partir de la primera hora, una banda de aproximadamente 29,5 kDa, correspondiente a la masa molecular relativa esperada para la rTES-30. La acumulación de la proteína recombinante continuó durante las siguientes horas del experimento



**Figura 1.** El gen optimizado se dividió en la simulación computarizada en los fragmentos N y C, los cuales se sintetizaron a partir de oligonucleótidos sintéticos (líneas de color azul) que contenían una región complementaria de 18 y 19 pares de bases, respectivamente (región de fusión de color azul claro). Los fragmentos N y C se unieron por PCR de fusión usando los oligonucleótidos externos (flechas de color gris) y la región complementaria en la zona de fusión de 20 pares de bases entre el extremo 3' del fragmento N y el extremo 5' del fragmento C (rectángulo central de color azul claro). El gen sintético obtenido, correspondiente al *rtes-30* optimizado de 695 pares de bases, presentaba las dianas de restricción *Bam*HI y *Hind*III en los extremos, lo que permitió su clonación dirigida en el vector de expresión pET28a (+).

y a las cinco horas se observó una acumulación aceptable para la recolección (figura 4). Los análisis posteriores de la solubilidad de la rTES-30 mostraron que la proteína se encontraba toda en el sedimento, lo que indicaba su acumulación insoluble en cuerpos de inclusión (figura 4).

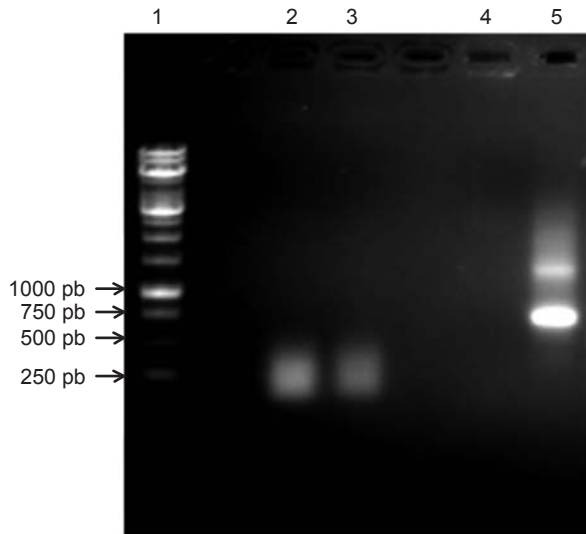
Dada la naturaleza insoluble de la rTES-30 en este sistema, se procedió a aplicar un protocolo de purificación por cromatografía en condiciones desnaturalizantes, utilizando urea y columnas de afinidad con Ni-NTA. La elución de la proteína se hizo mediante cambios en el pH en diferentes pasos. Los resultados obtenidos de la separación electroforética de las diferentes fracciones de la cromatografía en geles SPS-PAGE teñidos con azul de Coomassie, mostraron una unión eficiente de la rTES-30 a la columna. Además, se observó

una gran pureza de la proteína recombinante en estos mismos geles (figura 5). Los resultados de la cuantificación demostraron un rendimiento en la purificación de 2,25 mg de rTES-30 por litro de LB cosechado. Los análisis detallados de las fracciones purificadas de la rTES-30 mediante electroforesis capilar de proteínas, mostraron un grado de pureza de 95 % y una masa molecular relativa observada de 28,7 kDa (figura 6).

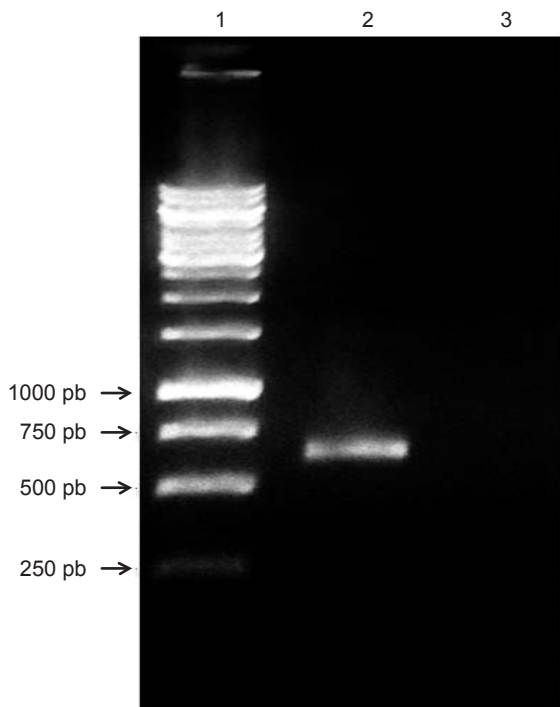
#### **Evaluación serológica: comparación del inmunoblot rTES-30 con ELISA (TES)**

Una vez obtenida la proteína recombinante rTES-30 de *T. canis*, se procedió a hacer los ensayos de *immunoblot*. La observación de una banda de alrededor de 25 kDa en las membranas de nitrocelulosa, confirmó la reacción de los sueros





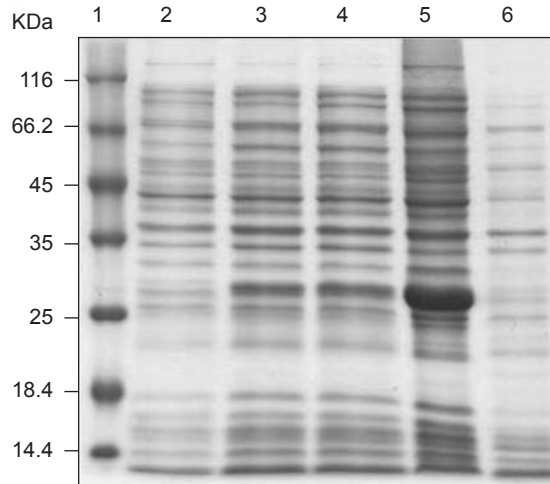
**Figura 2.** Síntesis y ensamblaje del gen *tes30* de *Toxocara canis*. En la electroforesis se observan los fragmentos N y C del *tes30* (carriles 2 y 3) y el producto de la amplificación del gen sintético *tes30*, obtenido mediante PCR de fusión con *Pfu* ADN polimerasa, usando los oligonucleótidos TcfusNfw-*Bam*HI y TcfusCrv-*Hind*III (carril 5). Los fragmentos N y C del tamaño esperado se obtuvieron a partir de reacciones de alineamiento y extensión con oligonucleótidos sintéticos de ADN de cadena sencilla. Los carriles 1 y 3 muestran el marcador de peso molecular de 1 kb y el control negativo de la PCR de fusión.



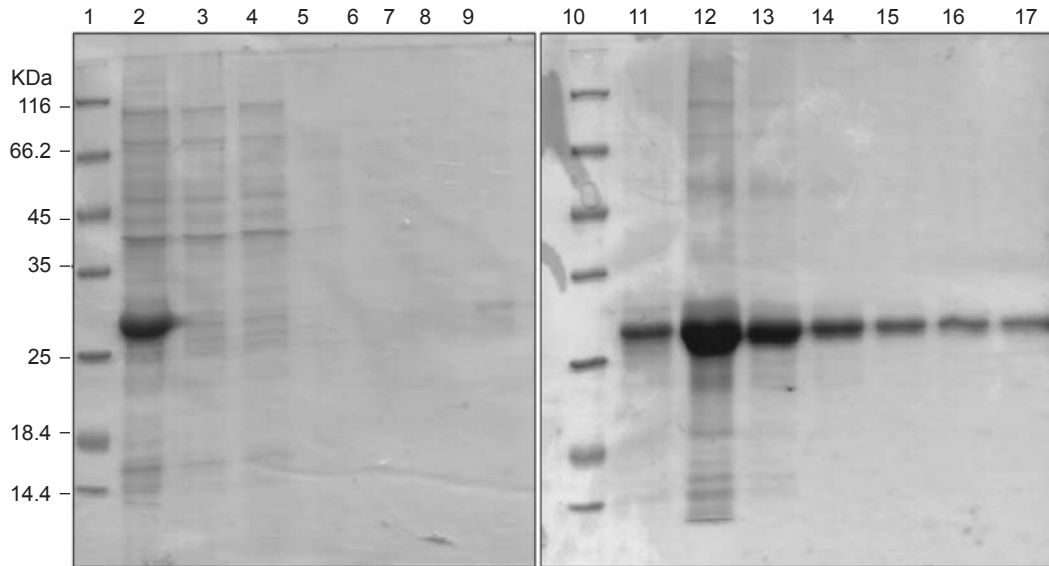
**Figura 3.** Amplificación del gen *tes30* con exclusión de la secuencia correspondiente al péptido de señalización (carril 2). Los carriles 1 y 3 muestran el marcador de peso molecular de 1 kb y el control negativo de la PCR.

ensayados frente al antígeno rTES-30 (figura 7). En esta figura se observaron en la membrana unas bandas adicionales que podrían corresponder a proteínas contaminantes de *E. coli* purificadas de manera simultánea en la cromatografía, o a fragmentos truncados de rTES-30. Alrededor de los 55 kDa se observó, igualmente, la reacción de los sueros, la cual podría corresponder a otra proteína contaminante o a dímeros de la rTES-30 no desnaturalizados apropiadamente. No se observó reacción en el suero del paciente que hacía parte del grupo de controles negativos. Se observaron diferentes patrones de reacción en cada uno de los sueros de los pacientes con sospecha clínica de toxocariasis ocular evaluados, así como en aquellos con diagnóstico parasitológico de ascariasis. En el caso de esta última parasitosis, no se pudo establecer con certeza que se tratara de una reacción cruzada, debido a que el estudio se llevó a cabo en una zona endémica de varios parasitismos.

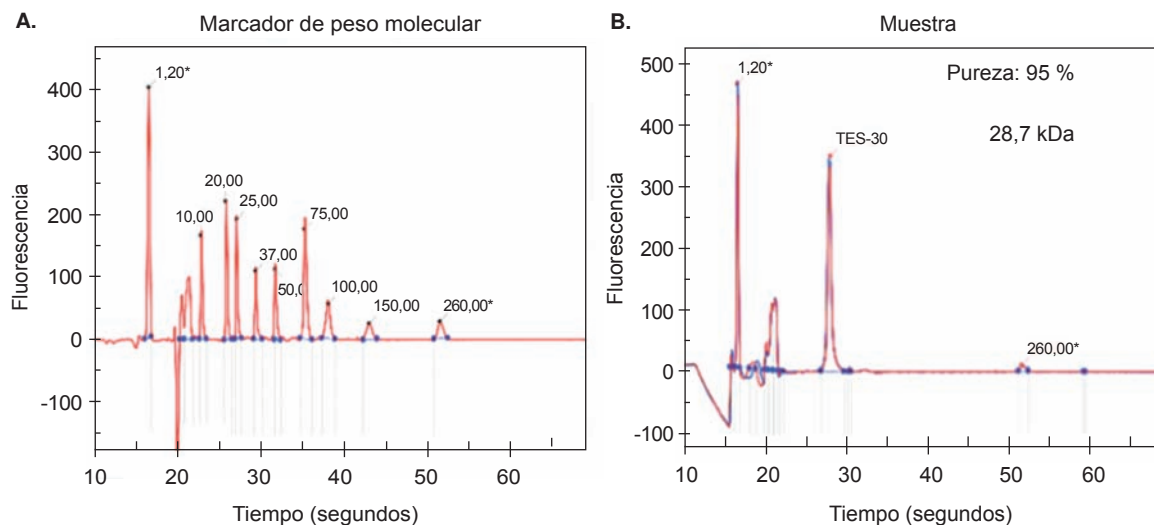
Actualmente, no existe una prueba de referencia para confirmar la toxocariasis; por lo tanto, se recurrió a una aproximación estadística comparando el *immunoblot* de la rTES-30 presentado en este estudio con el ELISA-TES, cuyos resultados se expresaron en términos de reacción: reactivo o no reactivo.



**Figura 4.** Inducción y prueba de solubilidad rTES-30NSP de *Toxocara canis*. Carril 1. Marcador de peso molecular. Carril 2. Células de *E. coli* BL21 (DE3) de control sin inducir (0 horas). Carril 3. Lisado de células de *E. coli* BL21 (DE3) dos horas después de la inducción. Carril 4. Lisado de células de *E. coli* BL21 (DE3) cinco horas después de la inducción. Evaluación de la solubilidad: carriles 5 y 6. Carril 5. Fracción insoluble. Carril 6. Fracción soluble. El gel representa patrones de bandas obtenidos a partir de tres experimentos independientes.



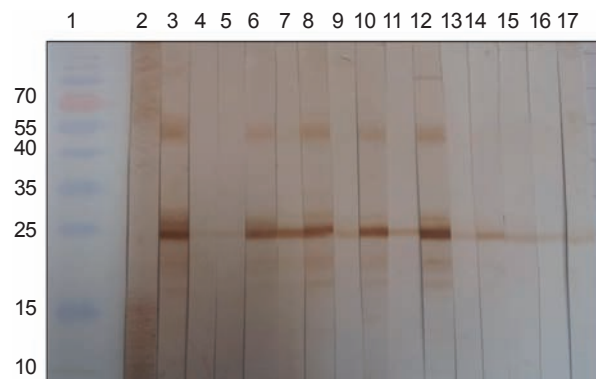
**Figura 5.** Purificación por cromatografía de rTES-30 NSP de *Toxocara canis*. Marcador de peso molecular (carriles 1 y 10). Carril 2. Lisado con rTES-30 en solución tampón de 8 M urea y pH de 8,0 (fracción soluble). Carril 3. Fracciones con las proteínas del lisado que no fueron retenidas en la columna de afinidad (*flow through*, FT). Carriles 4-9. Fracciones de la cromatografía correspondientes al lavado de la columna (pH: 6,5). Carriles 11-17. Fracciones de elución con rTES-30 purificada (pH: 5,9-4,5). Los gels representan patrones similares de bandas obtenidos en tres experimentos independientes.



**Figura 6.** Electroforesis capilar rTES-30 NSP de *Toxocara canis*. **A.** Marcador de peso molecular que reveló nueve proteínas recombinantes purificadas con pesos moleculares entre 10 y 260 kDa. **B.** Electroferograma con la proteína rTES-30 de *Toxocara canis* con un peso molecular experimental de 28,7 kDa. El pico 1,20\* por debajo de la rTES-30 corresponde al marcador interno del sistema.

Después de analizar los resultados obtenidos, se encontró que de los 63 pacientes con sospecha clínica y reactivos según la prueba ELISA-TES (criterio de inclusión en el estudio), 46 fueron reactivos por *immunoblot*. Además, todos los sueros de los pacientes de control negativos con resultado de ELISA no reactivo, también fueron no reactivos por *immunoblot*. De los 21 sueros de

pacientes con diagnóstico de otras parasitosis, 19 tuvieron resultado reactivo en ELISA, y solo siete de ellos en el *immunoblot*. En este último grupo, había cinco sueros de pacientes con diagnóstico de toxoplasmosis, y tres de ellos resultaron reactivos en la prueba ELISA, en tanto que el *immunoblot* en la rTES-30 no presentó reacción con ninguno de los cinco sueros.



**Figura 7.** Inmunoblot con las pruebas de reacción al antígeno rTES-30 de *Toxocara canis*. Carril 1. Marcador de peso molecular. Carril 2. Suero N° 1 del grupo de sueros negativos. Carriles 3-15. Reacción de los sueros de pacientes con sospecha clínica de toxocariosis ocular. En las tirillas se observan los diferentes patrones de reacción individuales frente al antígeno rTES-30. Carriles 16 y 17. Reacción de los sueros de pacientes con diagnóstico de ascariasis

Para el análisis estadístico comparativo, se tuvieron en cuenta los dos primeros grupos: 1) sueros de pacientes con sospecha clínica de toxocariosis ocular, y 2) sueros de pacientes de control negativos. Se analizaron 84 muestras, de las cuales 54,7 % (46/84) tuvo un resultado reactivo por *immunoblot*, mientras que 45,3 % (38/84) no fue reactivo. Con ELISA, 75 % (63/84) tuvo un resultado reactivo y 25 % (21/84) no fue reactivo (cuadro 1). Se halló una concordancia moderada entre el ELISA y el *immunoblot*, con un índice kappa de 0,575 (IC<sub>95%</sub> 0,41-0,74).

## Discusión

En este estudio se logró producir localmente y de forma recombinante en *E. coli* la proteína rTES-30 de *T. canis* a partir de un gen sintético. La implementación del método para producir genes sintéticos demostró ser una herramienta rápida y costo-efectiva para la síntesis de genes eucariotas de menos de 1 kb, dado que su síntesis requiere una infraestructura de poca complejidad.

Igualmente, se logró desarrollar un protocolo de purificación eficiente para dicha proteína recombinante. El protocolo de purificación por afinidad de tipo IMAC aplicado en este estudio, permitió la purificación eficiente de la proteína recombinante antigénica rTES-30. Para la elución de las proteínas retenidas en las columnas de afinidad, se puede utilizar un competidor de la interacción con el metal, el cual puede ser histidina o imidazol, o un cambio en el pH de la solución tampón de

**Cuadro 1.** Resultados de la reacción de la prueba ELISA-TES y el *immunoblot* (IB) rTES-30. Del total de muestras analizadas (84), 54,7 % (46/84) tuvo un resultado positivo de reacción por *immunoblot*, mientras que 45,3 % (38/84) no fue reactivo. En el ELISA con antígenos TES, 75 % (63/84) tuvo un resultado positivo de reacción y 25 % (21/84) no fue reactivo. Se halló una concordancia moderada entre ELISA y el *immunoblot* (índice kappa: 0,575).

	ELISA-TES		Total
	Sí	No	
IB rTES-30	Sí	46	46
	No	17	38
Total	63	21	84

cromatografía. En este caso, se lograron buenos resultados haciendo uso del cambio de pH en las soluciones tampón, ya que la proteína se eluye eficientemente al bajar el pH de la solución tampón a 4,5.

Con este trabajo se demostró que la rTES-30 de *T. canis* es un antígeno promisorio en los estudios de inmunodiagnóstico de la toxocariosis ocular humana en Colombia. Además, es un antígeno que puede presentar menos falsos positivos que la prueba ELISA-TES empleada actualmente para el diagnóstico y es una herramienta complementaria para el diagnóstico diferencial frente a la toxoplasmosis ocular.

Diversos autores han determinado, clonado y secuenciado los genes que codifican diferentes antígenos de las larvas de *T. canis* (29-31,34-36). En ese sentido, se han publicado trabajos acerca de la producción de proteínas recombinantes derivadas de los antígenos de excreción-secreción (rTES), con el fin de utilizarlos en nuevas pruebas diagnósticas. En estos estudios se han reportado altos valores de sensibilidad (>90 %) al hacer uso del antígeno recombinante. En el 2000, Yamasaki, et al., desarrollaron una prueba con 100 % (9/9) de sensibilidad (IgG-ELISA-rTES-30). En 2009, Mohamad, et al., encontraron una sensibilidad de 92,3 % (24/26) al detectar IgG4, y en 2009, estos mismos autores encontraron una sensibilidad de 93,3 % (28/30) con la prueba IgG4-ELISA-rTES-30USM. En este estudio se encontró que 73 % (46/63) de los pacientes reactivos en el ELISA-TES, lo fueron también en el *immunoblot* rTES-30 (29,30).

Es importante resaltar que nuestros datos no son comparables porque los sueros analizados como reactivos mediante ELISA para toxocariosis no eran casos confirmados de pacientes con la

enfermedad, lo que constituye una debilidad de las investigaciones sobre esta enfermedad a nivel mundial.

Wickramasinghe, *et al.*, desarrollaron una prueba ELISA IgG-rTES-30 y la compararon con la ELISA IgG (TES), y reportaron 13,4 % (19/142) de reacción cruzada con el antígeno recombinante, y 55,6 % (79/142), con el antígeno TES. Las reacciones cruzadas se presentaron por casos de gnatostomiasis, paragonimiasis y espirometriosis, en los que se detectaron niveles elevados de anticuerpos. Además, con el antígeno recombinante hubo reacciones negativas de muestras de suero de pacientes infectados con *Ascaris* spp. y *Ancylostoma* spp. (37).

A pesar de la reacción encontrada en los sueros de pacientes con estrongiloidiasis y ascariasis, no se puede afirmar categóricamente que sea una reacción cruzada, debido a que estos sueros eran de pacientes provenientes de zonas endémicas para la toxocariasis, por lo que no se puede descartar de forma categórica una reacción contra este parásito.

Otros autores han reportado un aumento en la especificidad al hacer uso de los antígenos recombinantes frente al antígeno TES. En el 2000, Yamasaki, *et al.*, reportaron 55,6 % (79/142) de reacción cruzada con el antígeno TES, reacción que disminuyó a 3,4 % (19/142) cuando se hizo uso del recombinante. Resultados similares fueron reportados por Norhaida, *et al.*, en 2008, quienes encontraron 44,3 % (51/115) de reacción cruzada con el antígeno TES y una reacción de 10,4 % (12/115) con el antígeno recombinante (29,38).

Uno de los hallazgos más importante de este estudio fue la ausencia de reacción cruzada con *Toxoplasma gondii*. De los cinco sueros de pacientes con diagnóstico de toxoplasmosis, ninguno presentó reacción con el *immunoblot*-rTES-30, mientras que con ELISA (TES) se presentó reacción con tres de los cinco sueros evaluados. Dado que la toxoplasmosis es uno de los diagnósticos diferenciales más importantes con respecto a la toxocariasis ocular, el *immunoblot*-rTES-30 ofrece la posibilidad de discriminar con más precisión entre ambas enfermedades en nuestro medio.

Los resultados obtenidos en los pacientes con helmintiasis, correspondieron a 17 sueros reactivos con la técnica ELISA-TES que no lo fueron con

el *immunoblot* rTES-30. Este fenómeno posiblemente se debió a reacciones cruzadas con los antígenos TES de *Toxocara* y debe estudiarse con mayor profundidad.

En 1999, Loukas, *et al.*, demostraron que la proteína TES-32 (sinónimo de la TES-30), que corresponde a la lectina de tipo C-1, fue reconocida en nueve sueros de pacientes con sospecha de toxocariasis (39). En una evaluación posterior, en 12 % (26/215) de los sueros de niños de Pernambuco, Brasil, se reconoció el antígeno Tc-CTL-1 (TES-32) (40). Cabe señalar que en ambos estudios el antígeno recombinante utilizado (Tc-CTL-1) se expresó en los cuerpos de inclusión de bacterias y requirió la solubilidad con 8 M de urea. Este mismo comportamiento de la proteína recombinante se observó en este estudio, ya que se logró su expresión por haberse acumulado exitosamente en los cuerpos de inclusión en *E. coli*.

### Agradecimientos

A la profesora Sonia del Pilar Agudelo, por las asesorías, y a la bacterióloga María Cenia Orozco, por el apoyo en el laboratorio.

### Conflicto de intereses

Declaramos no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Esta investigación fue financiada por el Comité para el Desarrollo de la Investigación - CODI, Vicerrectoría de Investigación, Universidad de Antioquia, proyecto CPT-1005, y por Colciencias (proyecto 111551928778).

### Referencias

1. **Schantz PM, Glickman LT.** Ascarids of cats and dogs: A public health and veterinary medicine problem. *Bol Of Sanit Panam.* 1983;94:571-86.
2. **Botero JHM, Cañas L, Bravo JD, Lopera MON.** Frecuencia de toxocarosis ocular en menores de edad remitidos al servicio de parasitología intestinal - Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; 2000-2001. Estudio piloto. *Acta Médica Colomb.* 2001;26:11-20.
3. **Despommier D.** Toxocariasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. *Clin Microbiol Rev.* 2003;16:265-72. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.16.2.265-272.2003>
4. **Doligalska M, Donskow K.** Environmental contamination with helminth infective stages implicated in water and foodborne diseases. *Acta Microbiol Pol.* 2003;52(Suppl.): 45-56.
5. **Schwartzbrod J, Banas S.** Parasite contamination of liquid sludge from urban wastewater treatment plants. *Water Sci Technol.* 2003;47:163-6.



6. **Sprent JF.** Observations on the development of *Toxocara canis* (Werner, 1782) in the dog. *Parasitology*. 1958;48: 184-209.
7. **Sprent JF.** On the migratory behavior of the larvae of various *Ascaris* species in white mice. I. Distribution of larvae in tissues. *J Infect Dis*. 1952;90:165-76.
8. **Nichols RL.** The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. *J Parasitol*. 1956;42:349-62.
9. **Magnaval JF, Glickman LT, Dorchies P, Morassin B.** Highlights of human toxocaríasis. *Korean J Parasitol*. 2001;39:1-11. <http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2001.39.1.1>
10. **Pawlowski Z.** Toxocaríasis in humans: Clinical expression and treatment dilemma. *J Helminthol*. 2001;75:299-305. <http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X01000464>
11. **Schantz PM, Glickman LT.** Toxocaral visceral larva migrans. *N Engl J Med*. 1978;298:436-9. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM197802232980806>
12. **Minvielle MC, Niedfeld G, Ciarmela ML, Basualdo JA.** Toxocaríasis caused by *Toxocara canis*: Clinico-epidemiological aspects. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1999;17:300-6.
13. **Barriga OO.** A critical look at the importance, prevalence and control of toxocaríasis and the possibilities of immunological control. *Vet Parasitol*. 1988;29:195-234. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017\(88\)90126-4](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017(88)90126-4)
14. **Macpherson CN.** The epidemiology and public health importance of toxocaríasis: A zoonosis of global importance. *Int J Parasitol*. 2013;43:999-1008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.004>
15. **Berrocal J.** Prevalence of *Toxocara canis* in babies and in adults as determined by the ELISA test. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1980;78:376-413.
16. **Cancrini G, Bartoloni A, Zaffaroni E, Guglielmetti P, Gamboa H, Nicoletti A, et al.** Seroprevalence of *Toxocara canis*-IgG antibodies in two rural Bolivian communities. *Parassitologia*. 1998;40:473-5.
17. **Alonso JM, Bojanich M V, Chamorro M, Gorodner JO.** *Toxocara* seroprevalence in children from a subtropical city in Argentina. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2000;42:235-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652000000400010>
18. **García-Pedrique ME, Díaz-Suárez O, Estévez J, Cheng NR, Araújo- Fernández M, Castellano J, et al.** Prevalencia de infección por *Toxocara* en pre-escolares de una comunidad educativa de El Moján, estado Zulia, Venezuela. Resultados preliminares. *Invest Clin*. 2004;45:347-54.
19. **Fillaux J, Santillán G, Magnaval JF, Jensen O, Larriou E, Sobrino-Becaría CD.** Epidemiology of toxocaríasis in a steppe environment: The Patagonia study. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;76:1144-7.
20. **Espinoza YA, Huapaya PE, Roldán WH, Jiménez S, Abanto EP, Rojas CA, et al.** Seroprevalence of human toxocaríasis in Andean communities from the Northeast of Lima, Perú. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2010;52:31-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652010000100005>
21. **Correa M, González M, D'Alessandro A.** Primer caso colombiano de toxocaríasis. Breve actualización del síndrome de la larva migrans visceral. *Antioquia Méd*. 1966;16:489-97.
22. **Agudelo C, Villareal E, Cáceres E, López C, Eljach J, Ramírez N, et al.** Human and dogs *Toxocara canis* infection in a poor neighborhood in Bogotá. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1990;85:75-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761990000100012>
23. **Acero M, Muñoz M, Flórez A, Nicholls R.** Seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxocara canis* y factores de riesgo en niños. Ciudad Bolívar, Bogotá, DC, 2001. *Biomédica*. 2001;21:256-63. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v21i3.1116>
24. **Flórez A, Correa M.** Situación de la toxocaríasis en Colombia, enero de 1996, enero de 2002. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2002;7:375-84. Fecha de consulta: 10 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/iqen/IQUEN/IQEN%20vol%2007%202002%20num%2020.pdf>.
25. **Fillaux J, Magnaval JF.** Laboratory diagnosis of human toxocaríasis. *Vet Parasitol*. 2013;193:327-36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.028>
26. **Roldán WH, Espinoza YA, Huapaya PE, Jiménez S.** Diagnóstico de la toxocarosis humana. *Rev Peru Med Exp Salud Pública*. 2010;27:613-20. <http://dx.doi.org/10.1590/S1726-46342010000400019>
27. **Moreira GMSG, Telmo P de L, Mendonça M, Moreira Ân, McBride AJA, Scaini CJ, et al.** Human toxocaríasis: Current advances in diagnostics, treatment, and interventions. *Trends Parasitol*. 2014;30:456-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2014.07.003>
28. **Lee S-U, Yu J-R, Huh S.** Ultrastructural localization of *Toxocara canis* larval antigen reacted with a seropositive human serum. *Korean J Parasitol*. 2009;47:65-8. <http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2009.47.1.65>
29. **Yamasaki H, Araki K, Lim PK, Zasmy N, Mak JW, Taib R, et al.** Development of a highly specific recombinant *Toxocara canis* second-stage larva excretory-secretory antigen for immunodiagnosis of human toxocaríasis. *J Clin Microbiol*. 2000;38:1409-13.
30. **Mohamad S, Azmi NC, Noordín R.** Development and evaluation of a sensitive and specific assay for diagnosis of human toxocaríasis by use of three recombinant antigens (TES-26, TES-30USM, and TES-120). *J Clin Microbiol*. 2009;47:1712-7. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.00001-09>
31. **Noordín R, Smith HV, Mohamad S, Maizels RM, Fong MY.** Comparison of IgG-ELISA and IgG4-ELISA for *Toxocara* serodiagnosis. *Acta Trop*. 2005;93:57-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.09.009>
32. **Sambrook J, W Russell D.** *Molecular cloning: A laboratory manual*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harb Lab Press; 2001. p. 999.
33. **Laemmli UK.** Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227:680-5. <http://dx.doi.org/10.1038/227680a0>
34. **Maizels RM, de Savigny D, Ogilvie BM.** Characterization of surface and excretory-secretory antigens of *Toxocara canis* infective larvae. *Parasite Immunol*. 1984;6:23-37.
35. **Badley JE, Grieve RB, Bowman DD, Glickman LT, Rockey JH.** Analysis of *Toxocara canis* larval excretory-secretory antigens: Physicochemical characterization and antibody recognition. *J Parasitol*. 1987;73:593-600. <http://dx.doi.org/10.2307/3282142>

36. **Tetteh KK, Loukas A, Tripp C, Maizels RM.** Identification of abundantly expressed novel and conserved genes from the infective larval stage of *Toxocara canis* by an expressed sequence tag strategy. *Infect Immun.* 1999;67:4771-9.
37. **Wickramasinghe S, Yatawara L, Nagataki M, Takamoto M, Watanabe Y, Rajapakse RP, et al.** Development of a highly sensitive IgG-ELISA based on recombinant arginine kinase of *Toxocara canis* for serodiagnosis of visceral larva migrans in the murine model. *Parasitol Res.* 2008;103:853-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-008-1067-4>
38. **Norhaida A, Suharni M, Liza AT, Tuda J, Rahmah N.** rTES-30USM: Cloning via assembly PCR, expression, and evaluation of usefulness in the detection of toxocariasis. *Ann Trop Med Parasitol.* 2008;102:151-60. <http://dx.doi.org/10.1179/136485908X252250>
39. **Maizels RM, Kennedy MW, Meghji M, Robertson BD, Smith HV.** Shared carbohydrate epitopes on distinct surface and secreted antigens of the parasitic nematode *Toxocara canis*. *J Immunol.* 1987;139:207-14.
40. **Meghji M, Maizels RM.** Biochemical properties of larval excretory-secretory glycoproteins of the parasitic nematode *Toxocara canis*. *Mol Biochem Parasitol.* 1986;18:155-70. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-6851\(86\)90035-6](http://dx.doi.org/10.1016/0166-6851(86)90035-6)

ARTÍCULO ORIGINAL

## Análisis del polimorfismo del gen *APOE* en la población de Barranquilla, Colombia

Martha Ruiz<sup>1</sup>, Isis Arias<sup>1</sup>, Gloria Rolón<sup>1</sup>, Enio Hernández<sup>2</sup>, Pilar Garavito<sup>1</sup>, Carlos Silvera-Redondo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Genética y Medicina Molecular, Departamento de Medicina, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Biomedicina Molecular, Departamento de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, Santa Marta, Colombia

**Lugar donde se realizó la investigación:** Laboratorio de Genética, Departamento de Medicina, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

**Introducción.** La variabilidad genética del polimorfismo del gen *APOE* se considera un importante factor asociado a la predisposición a las enfermedades que afectan el metabolismo lipídico, a las enfermedades coronarias y a la enfermedad de Alzheimer, entre otras. En este sentido, es útil conocer este factor de riesgo en diferentes poblaciones y grupos étnicos.

**Objetivos.** Analizar el polimorfismo del gen *APOE* y determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de una muestra representativa de la población de Barranquilla, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se hizo en Barranquilla un estudio descriptivo y comparativo de 227 individuos no relacionados.

**Resultados.** El alelo  $\epsilon 3$  se presentó con mayor frecuencia (85 %), seguido del alelo  $\epsilon 4$  (13 %) y, con menor frecuencia, el alelo  $\epsilon 2$  (1,8 %). Los genotipos observados fueron los siguientes:  $\epsilon 3/\epsilon 3$  en 71,8 %,  $\epsilon 3/\epsilon 4$  en 24,2 %,  $\epsilon 2/\epsilon 3$  en 2,2 %,  $\epsilon 2/\epsilon 4$  en 1,3 % y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  en 0,4 %. El genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$  no se encontró en este estudio. La muestra representativa de la población estaba en equilibrio de Hardy-Weinberg.

**Conclusiones.** Las frecuencias alélicas  $\epsilon 3$  y el genotipo  $\epsilon 3/\epsilon 3$  encontrados en la población estudiada, fueron similares a lo informado por la literatura científica en países como Brasil, México y Colombia, y en algunos grupos étnicos amerindios colombianos. No se encontró el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$ , resultado que coincide con otras poblaciones estudiadas a nivel mundial. La frecuencia del alelo  $\epsilon 4$  y sus genotipos asociados en esta población, podría estar relacionada con la presencia de enfermedades como la hipercolesterolemia, el infarto de miocardio y la enfermedad de Alzheimer.

**Palabras clave:** apolipoproteínas E, polimorfismo genético, población, alelos, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2612>

### *APOE* gene polymorphism analysis in Barranquilla, Colombia

**Introduction:** The genetic variability present in the *APOE* gene polymorphism is considered an important factor associated with predisposition to diseases affecting lipid metabolism, as well as heart diseases and Alzheimer's disease, among others. Understanding it as a risk factor in different populations and ethnic groups is a useful tool.

**Objective:** To analyze the *APOE* gene polymorphism and determine allelic and genotypic frequencies of a representative sample of population from Barranquilla, Colombia.

**Materials and methods:** We performed a descriptive and comparative study. The sample size was 227 unrelated individuals from Barranquilla, Colombia

**Results:** The most frequent allele was the  $\epsilon 3$ , with 85%, followed by the  $\epsilon 4$  allele (13%) and  $\epsilon 2$  (1.8%). The genotypes found were:  $\epsilon 3/\epsilon 3$ : 71.8%,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ : 24.2%,  $\epsilon 2/\epsilon 3$ : 2.2%,  $\epsilon 2/\epsilon 4$ : 1.3% and  $\epsilon 4/\epsilon 4$ : 0.4%. The  $\epsilon 2/\epsilon 2$  genotype was not found in this study. The sample exhibited the Hardy-Weinberg equilibrium.

**Conclusion:** The frequency of the  $\epsilon 3$  allele and the  $\epsilon 3/\epsilon 3$  genotype was similar to that reported in the literature in countries like Brazil, Mexico, Colombia, and in some Colombian Amerindian ethnic groups. The  $\epsilon 2/\epsilon 2$  genotype was absent. This result is consistent with those found in other population groups worldwide. The frequency of the  $\epsilon 4$  allele and the genotypes associated in this population could be related to the presence of diseases such as hypercholesterolemia, myocardial infarction and Alzheimer.

**Key words:** Apolipoproteins E; polymorphism, genetic; population; alleles; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2612>

#### Contribución de los autores:

Martha Ruiz, Carlos Silvera, Enio Hernández y Pilar Garavito: diseño del proyecto, consecución de la financiación, análisis de resultados y redacción del artículo

Martha Ruiz, Isis Arias y Gloria Rolón: toma de muestras y realización de los experimentos de laboratorio

La variabilidad genética se asocia con factores de riesgo para la aparición o la protección frente a enfermedades en los individuos y a nivel poblacional. Ciertas enfermedades como las cardiovasculares y las neurodegenerativas, entre otras, constituyen un problema de salud pública. Varios genes se relacionan con el desarrollo de dichas enfermedades, entre los cuales uno de los más estudiados es el *APOE*, reconocido por su importancia en el metabolismo de las lipoproteínas.

En los humanos, este gen se localiza en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13.2), contiene 4 exones, 3 intrones y se ubica junto al grupo de los genes *APOC1* y *APOCII* (1-3). Presenta tres alelos principales:  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 4$ , que se transmiten en forma codominante, codifican para tres diferentes isoformas de proteínas llamadas apolipoproteínas E2, E3 y E4, y se diferencian por un cambio de nucleótido C/T en el exón 4 en las posiciones 112 y 158 de la secuencia aminoacídica, donde hay un cambio de arginina o cisteína (4-6). La isoforma *APOE2* presenta residuos de cisteína (TGC) en la posición 112 y 158; la *APOE3* presenta cisteína (TGC) en la posición 112 y arginina (CGC) en la posición 158, en tanto que la *APOE4* presenta arginina (CGC) en las dos posiciones y origina, a su vez, seis genotipos:  $\epsilon 2/\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 3$ ,  $\epsilon 3/\epsilon 4$ ,  $\epsilon 2/\epsilon 4$  y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (7).

El gen *APOE* codifica la apolipoproteína E, la cual hace parte de una gran variedad de lipoproteínas como los quilomicrones, la lipoproteínas de muy baja densidad, las de baja densidad y las de alta densidad, de gran importancia en el transporte y regulación metabólica lipídica, puesto que actúan de ligando hacia los receptores hepáticos e intervienen en la homeostasis de la glucosa y el colesterol (8,9). Las diferentes isoformas de este gen modifican la estructura proteica y su afinidad por la unión al receptor hepático, lo que afecta el catabolismo lipídico (10) (Mata RM, García LE, Herrera PE. Determinación del genotipo de la apolipoproteína E (*APOE*) en población mexicana para su aplicación en Alzheimer tardío. Memorias, Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. México, D. F., marzo de 2007;32(Suplemento A). p. 79). La síntesis de la apolipoproteína E se

lleva a cabo principalmente en el hígado, aunque se ha encontrado también en otros tejidos como el riñón, el intestino, el cerebro, los macrófagos, las gónadas y el bazo. Se ha reportado que en el sistema nervioso, principalmente en el cerebro, esta apolipoproteína es sintetizada y secretada por los astrocitos, y que juega un papel principal en el transporte lipídico en el sistema nervioso central y las neuronas (9).

En estudios de diferentes poblaciones se ha demostrado la relación del polimorfismo del gen *APOE* y la variación en los niveles plasmáticos de lípidos y el riesgo de desarrollar ciertas enfermedades (11). La isoforma más común en la población es la apolipoproteína E3, la cual es funcional y, entre otras características, parece estar relacionada con la longevidad humana (6). La *APOE2* es la isoforma más rara y tiene un papel protector, ya que permite el metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad, pero se relaciona también con la aparición de hiperlipidemia de tipo III, puesto que no favorece el metabolismo de los quilomicrones; la isoforma *APOE4* es el principal factor determinante de las diferencias en el colesterol plasmático en una población y se la considera como factor de riesgo genético asociado también a la enfermedad de Alzheimer (12,13) (Botero LE, Suárez JC, Toro AE, Patiño AJ, Salazar G, Rodríguez JC, *et al.* Genotipo ApoE, diabetes y otras comorbilidades en pacientes con enfermedad de Alzheimer. *Iatreia*. 2010;23(4-S). Memorias del XI Congreso Colombiano de Genética Humana. Medellín, octubre 6-8, 2010).

El objetivo de este trabajo fue conocer las frecuencias alélicas y genotípicas de la población de estudio, analizar su distribución genotípica y comparar los resultados con otras poblaciones relacionadas. El conocimiento de este componente genético puede ser una herramienta de interés médico para identificar factores de predisposición genética a enfermedades, lo que permitiría implementar programas de prevención.

### Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo y comparativo de 227 individuos representativos de Barranquilla, todos ellos voluntarios no relacionados y similares en cuanto a la constitución fenotípica mestiza. El cálculo de la muestra se obtuvo por el promedio de la prevalencia del alelo más común a nivel mundial, el  $\epsilon 3$  (82 %), con un nivel de confianza de 95 % y 5 % de precisión. Los parámetros de inclusión fueron los siguientes: individuos entre

#### Correspondencia:

Carlos Silvera, Departamento de Medicina, Universidad del Norte, kilómetro 5 vía Puerto Colombia, Barranquilla, Colombia  
Teléfono: 350 9509, extensión 4285  
csilvera@uninorte.edu.co

Recibido: 21/11/14; aceptado: 22/07/15



los 18 y los 60 años de edad pertenecientes a la población de Barranquilla que firmaran el consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética en Investigación en el Área de la Salud de la Universidad del Norte. Como parámetros de exclusión se tuvieron en cuenta enfermedades como la hipertensión, la diabetes, la hipercolesterolemia, la enfermedad de Alzheimer, así como la falta de claridad sobre si había antecedente de dichas enfermedades.

### Genotipificación del gen APOE

De todos los pacientes se obtuvo una muestra de 5 ml de sangre periférica en tubo vacutainer con EDTA. El ADN genómico se obtuvo mediante el kit comercial UltraClean™ Blood DNA Isolation Kit® (Mo Bio Laboratories, Inc.).

Para la determinación de los diferentes alelos se amplificó una región del exón 4 del gen APOE que contiene los sitios polimórficos 112 y 158 y es donde ocurren las sustituciones de nucleótidos que dan origen a las diferentes isoformas del APOE, mediante los iniciadores específicos F4 5´-ACAGATTTCGCCCGGCCTGGTACAC-3´ hacia adelante y F6 5´-TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGGA-3´ hacia atrás (Invitrogen Life Technologies, USA), descritos por Hixson y Vernier (14).

La amplificación se hizo en el equipo ICycler® (BioRad), bajo las siguientes condiciones: una desnaturalización inicial a 95 °C durante 3 minutos, seguida de 30 ciclos con una desnaturalización a 95 °C durante 45 segundos, una hibridación a 62 °C durante 30 segundos, una extensión a 72 °C durante 30 segundos y una elongación final a 72 °C durante 7 minutos. Se procedió entonces a la digestión de las muestras con cinco unidades de la endonucleasa de restricción HhaI (Gibco-BRL, Rockville, MD, USA) durante 16 horas a 37 °C. Los fragmentos obtenidos se separaron por electroforesis en gel de poliacrilamida al 8 % durante 4 horas a 60 voltios, y se observaron los diferentes patrones de bandas característicos de cada genotipo de acuerdo con lo reportado por Hixson, et al. (14).

### Análisis estadístico

El análisis de las frecuencias alélicas y genotípicas se hizo mediante conteo directo. Posteriormente, se utilizó la prueba de ji al cuadrado para verificar si las frecuencias observadas de los genotipos guardaban concordancia con las esperadas bajo la hipótesis de Hardy-Weinberg y el test de desequilibrio de ligamiento con el programa estadístico Arlequín, versión 3,1.

## Resultados

Los resultados obtenidos demostraron la presencia del polimorfismo estudiado en el gen APOE de la población estudiada en Barranquilla, con base en las muestras de 227 individuos: 123 mujeres y 104 hombres.

Las frecuencias alélicas relativas de los alelos  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 4$  fueron 1,8, 85 y 13 %, respectivamente. Los genotipos encontrados fueron los siguientes:  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (71,8 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (24,2 %),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (2,2 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (1,3 %) y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (0,4 %), y no se reportó el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (cuadro 1).

Las frecuencias encontradas concordaron con las esperadas según la ley de Hardy-Weinberg:  $p=0,13893$  para la posición 112 y  $p=1,000$  para la posición 158 del gen APOE. Por otra parte, los resultados analizados mediante el desequilibrio de ligamiento mostraron una segregación independiente de  $\chi^2=0,53317$  ( $p=-0,46528$ ;  $p>0,05$ ).

## Discusión

### Frecuencias alélicas del gen APOE en Barranquilla y otras poblaciones

Los resultados obtenidos en esta investigación demostraron la presencia del polimorfismo estudiado en la población objeto en Barranquilla, en la que el alelo más frecuente fue el  $\epsilon 3$  (85 %), seguido del alelo  $\epsilon 4$  (13 %) y del  $\epsilon 2$  (1,8 %).

### Alelo $\epsilon 3$

Como se ha reportado, el alelo  $\epsilon 3$  es el más frecuente a nivel mundial. En el grupo Xavante de Brasil se encontró una frecuencia muy alta (98 %) e, igualmente, en la población mestiza de Perú (93,9 %); en Costa Rica y Corea la frecuencia fue de 91 %, en tanto que valores similares a los de la población estudiada (85 %) se han reportado en población de Bogotá (85,2 %), así como en México (89,4 %) y Hungría (83,8 %), entre otros (11,15) (Mata RM, García LE, Herrera PE. Determinación del genotipo de la apolipoproteína E (APOE) en población mexicana para su aplicación en

**Cuadro 1.** Distribución de frecuencias alélicas y genotípicas del gen APOE en la población estudiada de Barranquilla

Alelos	n (%)	Genotipos	n (%)
$\epsilon 2$	4 (1,8)	$\epsilon 3/\epsilon 4$	55 (24,2)
$\epsilon 3$	193 (85)	$\epsilon 3/\epsilon 3$	163 (71,8)
$\epsilon 4$	30 (13)	$\epsilon 2/\epsilon 3$	5 (2,2)
		$\epsilon 2/\epsilon 4$	3 (1,3)
		$\epsilon 4/\epsilon 4$	1 (0,4)

Alzheimer tardío. Memorias, Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica. México, D. F., marzo de 2007;32 (Suplemento A). p.79). El alelo  $\epsilon 3$  es considerado como el alelo salvaje en la mayoría de las poblaciones a nivel mundial y juega un papel fundamental en el metabolismo, puesto que interviene en la homeostasis lipídica. En este sentido, en la medida en que una población tenga una frecuencia elevada de este alelo, los riesgos de enfermedades que afecten el perfil lipídico serán menores.

### **Alelo $\epsilon 2$**

Diversos estudios poblacionales reportan una frecuencia baja de este alelo. En este estudio en Barranquilla, se reportó una frecuencia de 1,8 %, la cual es similar a la encontrada en Brasil (2 %) y algo menor que la de Perú (1,1 %); no se ha reportado en países como Ecuador, en los nativos de Australia ni en poblaciones indígenas de Venezuela (15-18). Por el contrario, se han encontrado frecuencias elevadas en Sudáfrica (Wentworth: 19 %), Uganda (15 %), Dinamarca (12,7 %), y en comunidades negras del Cauca y del Chocó en Colombia (20 %) (19), lo cual difiere totalmente de lo reportado en la literatura científica en general.

El alelo  $\epsilon 2$  juega un papel protector frente a la disminución de las lipoproteínas de baja densidad y se asocia con la aparición de la hiperlipidemia de tipo III, puesto que la apolipoproteína codificada por este alelo no se une con facilidad al receptor hepático, lo que afecta el metabolismo de los quilomicrones asociados con enfermedades metabólicas. En este estudio su frecuencia fue baja, lo que de alguna forma afecta a la población por su papel en la disminución de las lipoproteínas de baja densidad.

### **Alelo $\epsilon 4$**

El alelo  $\epsilon 4$  se ha reportado en mayor frecuencia en Brasil (waiwai, 47 %), Ecuador (28 %), Nigeria (25 %), Sudáfrica (27 %), Australia (26 %), y en las poblaciones de los nukak (37,5 %) y los coreguaje (41 %), en Colombia. Por otro lado, en Perú (5 %) y en poblaciones asiáticas de la India (0 %), Corea (5 %) e Irán (5 %), se ha registrado una baja frecuencia de este alelo en comparación con las poblaciones africana y europea.

En estudios en Groenlandia se ha reportado una frecuencia de 22,9 % para este alelo, porcentaje alto comparado con otras poblaciones como la de Finlandia, Japón y la de los amerindios, entre

otros (19). Se cree que la población de los waiwai en Brasil, de los pigmeos y los khoisan en África, y de los coreguaje y los nukak en Colombia, presentan las frecuencias más altas del alelo  $\epsilon 4$  observadas en el mundo (47, 40,7, 37, 41 y 37 %, respectivamente) (20-22).

La presencia del alelo  $\epsilon 4$  se considera un factor de riesgo genético para la aparición de enfermedades cardiovasculares, como el infarto de miocardio, y de la enfermedad de Alzheimer (23-25), por lo que su estudio puede servir de tamización inicial en los programas de prevención de las hiperlipidemias y de la enfermedad de Alzheimer cuando su frecuencia sea muy significativa en las poblaciones estudiadas.

### **Frecuencia genotípica del gen APOE en Barranquilla y otras poblaciones**

El genotipo más frecuentemente reportado en este estudio fue el  $\epsilon 3/\epsilon 3$ , presente en 163 individuos (71,8 %), seguido de los genotipos  $\epsilon 3/\epsilon 4$  en 24,2 %,  $\epsilon 2/\epsilon 3$  en 5 %,  $\epsilon 2/\epsilon 4$  en 1,3 % y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  en 0,4 %. El genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$  no se encontró en la población del estudio. En otros países como México, en donde los genotipos encontrados fueron el  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (80,5 %), el  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (12,5 %) (es decir, la mitad de la frecuencia obtenida en este estudio), el  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (5,0 %), el  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (1,4 %), y el  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (0,4 %), no se encontró el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$ , así como tampoco en Ecuador (cayapas), Australia, (nativos), Brasil (xavante), San Basilio, Bogotá, o en las poblaciones embera, tule, yuco, coreguaje, nuquí y nukak (17,18). En estudios llevados a cabo en Colombia, Arango, *et al.*, (26) reportaron en el área urbana de Medellín, Colombia, los genotipos  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (0,2 %),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (6,8 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (0,6 %),  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (85,0 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (7,2 %) y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (0,3 %). Asimismo, en escolares de Quindío, Colombia, se encontraron los genotipos  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (90,8 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (3,2 %) y  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (5,6 %) (13). Como se ha reportado en diversas poblaciones suramericanas, no se encontraron los genotipos homocigotos para  $\epsilon 4/\epsilon 4$  y  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (18,21). Por otra parte, en un estudio en Bogotá se reportaron los genotipos  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (0,7 %),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (8,2 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (1,4 %),  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (74,0 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (14,9 %) y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (0,7 %), con las siguientes frecuencias alélicas:  $\epsilon 2$  (5,5 %),  $\epsilon 3$  (85,6 %) y  $\epsilon 4$  (8,9 %) (27).

Por último, en una población del Valle del Cauca conformada por 140 individuos sanos, se encontraron las siguientes frecuencias genotípicas:  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (70,7 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (21,4 %),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (5,7 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (0,7 %),  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (1,4 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (0 %), con las siguientes frecuencias alélicas:  $\epsilon 2$  (3,2 %),  $\epsilon 3$

(84,3 %) y  $\epsilon 4$  (12,5 %) (Rivera-Franco N, Perdomo V, Barreto G. Análisis de polimorfismos asociados al gen de apolipoproteína E y su distribución en poblaciones del suroccidente y centro colombiano. Revista Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas. 2012;24(Supl.1):73. Memorias, XLVII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Cali, octubre de 2012).

En la población de diferentes países se ha encontrado diversidad genotípica, pero también, algunas similitudes importantes. Svobodova, *et al.*, (28) estudiaron las frecuencias genotípicas y alélicas en la población de Mongolia y reportaron los siguientes genotipos:  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (0 %),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (5,7 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (1,7 %),  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (65,3 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (25,4 %) y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (1,9 %), con las siguientes frecuencias alélicas:  $\epsilon 2$  (3,7 %),  $\epsilon 3$  (80,8 %) y  $\epsilon 4$  (15,5 %). Asimismo, en Hungría se reportaron los genotipos  $\epsilon 3/\epsilon 3$  (65,2 %),  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (15,9 %),  $\epsilon 2/\epsilon 3$  (15,2 %),  $\epsilon 2/\epsilon 2$  (2,3 %),  $\epsilon 2/\epsilon 4$  (1,0 %) y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  (0,4 %), con las siguientes frecuencias alélicas:  $\epsilon 2$  (10,4 %),  $\epsilon 3$  (80,7 %) y  $\epsilon 4$  (8,7 %). Estos resultados reflejan la diversidad alélica y genotípica de diferentes poblaciones, pero también, la conservación de cierto grado de similitud en aquellas relacionadas ancestralmente (17,18,27) (Rivera-Franco N, Perdomo V, Barreto G. Análisis de polimorfismos asociados al gen de apolipoproteína E y su distribución en poblaciones del suroccidente y centro colombiano. Revista Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas. 2012;24 (Supl.1):73. Memorias, XLVII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Cali, octubre de 2012).

### **Polimorfismo del gen APOE y enfermedad**

El estudio del gen *APOE* ha demostrado definitivamente un acentuado polimorfismo entre poblaciones, variabilidad genética que se refleja en la predisposición a ciertas enfermedades.

En los estudios de Torres, *et al.*, (29) se reportó que los niveles de triglicéridos presentaban una tendencia al aumento ( $p < 0,05$ ) en los individuos con el genotipo  $\epsilon 3/\epsilon 4$  ( $172,1 \pm 16,9$ ), en comparación con quienes presentaban el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 3$  ( $148,7 \pm 32,1$ ). Por otro lado, en la población de Cali se reportó una correlación negativa entre los niveles de triglicéridos y el genotipo *APOE*, pero sí hubo significación estadística en la relación entre el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 3$  y el nivel de colesterol, en comparación con los genotipos  $\epsilon 3/\epsilon 3$  y  $\epsilon 3/\epsilon 4$  (Rivera-Franco N, Perdomo V, Barreto G. Análisis de polimorfismos asociados al gen de

apolipoproteína E y su distribución en poblaciones del suroccidente y centro colombiano. Revista Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas. 2012;24(Supl.1):73. Memorias, XLVII Congreso Nacional de Ciencias Biológicas, Cali, octubre de 2012). En otros estudios se ha observado un incremento del colesterol total, de las lipoproteínas de baja densidad y de los triglicéridos, asociado a los genotipos del gen *APOE*, en particular en aquellos con el alelo  $\epsilon 4$  (29,30) (Mosquera M, Aguilar C, Pradilla A. Genotipo *APOE* y asociación con el perfil lipídico en sujetos de 18 a 39 años. Colombia Médica. 2008;39(Supl.2):1. Resúmenes, V Congreso Internacional y VIII Congreso Colombiano de Genética Humana, Cali, septiembre 6 y 7, 2007).

En forma similar, en algunos estudios en Brasil se ha reportado que el alelo  $\epsilon 4$  se asociaba en mayor medida con la elevación del colesterol total en la población estudiada (31). Asimismo, en una población de Croacia se determinó que el gen *APOE* estaba involucrado en la aparición de la obesidad, especialmente el alelo  $\epsilon 2$ , datos que contradicen los de otros estudios (32).

Con respecto a las enfermedades metabólicas, los estudios genéticos han reportado que los individuos con el genotipo  $\epsilon 3/\epsilon 4$  presentan un incremento de los niveles de lipoproteínas de baja densidad, y que la presencia del alelo  $\epsilon 4$  probablemente predispone a la aparición de enfermedades de las arteriales coronarias (33).

En cuanto a la enfermedad de Alzheimer, en algunos estudios se ha reportado que no existe una diferencia significativa entre casos y controles en cuanto a la presencia del alelo  $\epsilon 3$ , pero que sí hay significación estadística para los alelos  $\epsilon 2$  y  $\epsilon 4$ . Asimismo, los genotipos  $\epsilon 3/\epsilon 4$  y  $\epsilon 4/\epsilon 4$  se han relacionado con la aparición de la enfermedad de Alzheimer (34,35). En otros estudios no se ha encontrado una asociación entre los genotipos de este gen y las funciones cognitivas, lo cual podría abrir un nuevo campo de investigación (36).

Se puede considerar, entonces, que el polimorfismo del gen *APOE* es un importante biomarcador de la vulnerabilidad o de la protección frente a ciertas enfermedades relacionadas.

En el presente estudio se demostró que las frecuencias alélicas de  $\epsilon 3$  y del genotipo  $\epsilon 3/\epsilon 3$  en la población estudiada, eran similares a las informadas en otros estudios efectuados en Brasil, México y Colombia. Al igual que lo reportado en



otras poblaciones, el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$  no se encontró en la población estudiada en Barranquilla. Por último, los alelos y los genotipos encontrados, principalmente el alelo  $\epsilon 4$  y el genotipo  $\epsilon 4/\epsilon 4$ , podrían estar relacionados con la presencia de ciertas enfermedades como la hipercolesterolemia, el infarto del miocardio y la enfermedad de Alzheimer, como quedó evidenciado en la literatura científica revisada.

### Agradecimientos

A los grupos técnicos y de investigación del Laboratorio de Genética y Biología de la Universidad del Norte y de la Universidad Cooperativa de Colombia.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

### Financiación

Universidad del Norte y Universidad Cooperativa de Colombia.

### Referencias

1. Scott J, Knott TJ, Shaw DJ, Brook JD. Localization of genes encoding apolipoprotein C1, CII, and E to the p13->cen region of human chromosome 19. *Hum Genet.* 1985;71:144-6.
2. Das HK, McPherson J, Bruns GA, Karathanasis SK, Breslow JL. Isolation, characterization and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *J Biol Chem.* 1985;260:6240-7.
3. Paik YK, Chang DJ, Reardon CA, Davies GE, Mahley RW, Taylor JM. Nucleotide sequence and structure of the human apolipoprotein E gene. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82:3445-9.
4. Hatters DM, Peters-Libeu CA, Weisgraber KH. Apolipoprotein E structure: Insights into function. *Trends Biochem Sci.* 2006;31:445-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.008>
5. Henry JB. *El laboratorio en el diagnóstico clínico.* Madrid: Marban; 2005.
6. Feng J, Xiang L, Wan G, Qi K, Sun L, Huang Z, et al. Is *APOE*  $\epsilon 3$  a favourable factor for the longevity: An association study in the Chinese population. *J Genet.* 2011;90:343-7.
7. Laws SM, Hone E, Gandy S, Martins RN. Expanding the association between the *APOE* gene and the risk of Alzheimer's disease: Possible roles for *APOE* promoter polymorphisms and alterations in *APOE* transcription. *J Neurochem.* 2003;84:1215-36. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01615.x>
8. Mahley RW, Innerarity TL, Rall SC Jr, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: Apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res.* 1984;25:1277-94.
9. Greenow K, Pearce NJ, Ramji DP. The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis. *J Mol Med (Berl).* 2005;83:329-42.
10. Anoop S, Misra A, Meena K, Luthra K. Apolipoprotein E polymorphism in cerebrovascular and coronary heart diseases. *Indian J Med Res.* 2010;132:363-78.
11. Gregorio ML, Pinhel MA, Sado CL, Longo GS, Oliveira FN, Amorim GS, et al. Impact of genetic variants of apolipoprotein E on lipid profile in patients with Parkinson's disease. *Biomed Res Int.* 2013;2013:641515. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/641515>
12. Fei M, Jianhua W. Apolipoprotein  $\epsilon 4$ -allele as a significant risk factor for conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: A meta-analysis of prospective studies. *J Mol Neurosci.* 2013;50:257-63. <http://dx.doi.org/10.1007/s12031-012-9934-y>
13. Loango N, Gallego ML, Restrepo B, Landázuri P. Diferencias de sexo, edad y lípidos plasmáticos asociadas al polimorfismo de la apolipoproteína E en un grupo de escolares de Quindío, Colombia. *Biomédica.* 2009;29:382-91. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v29i3.10>
14. Hixson JM, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with Hha I. *J Lipid Res.* 1990;31:545-8.
15. Callas N, Poveda E, Baracaldo C, Hernández P, Castillo C, Guerra M. Genetic polymorphism of the E apolipoprotein in school age children: Comparison with levels of plasma lipids and apolipoproteins. *Biomédica.* 2007;27:526-36. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v27i4.171>
16. Marca V, Acosta O, Cornejo-Olivas M, Ortega O, Huerta D, Mazzetti P. Polimorfismo genético de la apolipoproteína E en una población peruana. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2011;28:589-94.
17. Singh PP, Singh M, Mastana SS. *APOE* distribution in world populations with new data from India and the UK. *Ann Hum Biol.* 2006;33:279-308. <http://dx.doi.org/10.1080/03014460600594513>
18. Fernández-Mestre MT, Yehirobi C, Montagnani S, Balbas O, Layrissa Z. Genetic variability of apolipoprotein E in different populations from Venezuela. *Dis Markers.* 2005;21:15-9. <http://dx.doi.org/10.1155/2005/625182>
19. Jaramillo-Correa JP1, Keyeux G, Ruiz-García M, Rodas C, Bernal J. Population genetic analysis of the genes *APOE*, *APOB* (3' VNTR) and *ACE* in some black and Amerindian communities from Colombia. *Hum Hered.* 2001;52:14-33. <http://dx.doi.org/10.1159/000053351>
20. De Knijff P, Johansen LG, Rosseneu M, Frants RR, Jespersen J, Havekes LM. Lipoprotein profile of a Greenland Inuit population: Influence of anthropometric variables, ApoE and A4 polymorphism, and lifestyle. *Arterioscler Thromb.* 1992;12:1371-9. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.12.12.1371>
21. Demarchi DA, Salzano FM, Altuna ME, Fiegenbaum M, Hill K, Hurtado AM, et al. *APOE* polymorphism distribution among native Americans and related populations. *Ann Hum Biol.* 2005;32:351-65. <http://dx.doi.org/10.1080/03014460500097237>
22. Ojeda-Granados C, Panduro A, Ramos-López O, Román S. Construyendo una dieta correcta con base en el genoma latino. *Rev Endocrinol Nutr.* 2013;21:84-92.
23. Lars B. Apolipoproteína E: ¿un candidato importante para la interacción entre genes y nutrientes? Department



- of Medicine, University of California. Fecha de consulta: 23 de marzo de 2005. Disponible en: <http://www.siicsalud.com/dato/dat042/05222000.htm>.
24. **Berkinbayev S, Rysuly M, Mussayev A, Blum K, Baitasova N, Mussagaliyeva A, et al.** Apolipoprotein gene polymorphisms (APOB, APOC111, APOE) in the development of coronary heart disease in ethnic groups of Kazakhstan. *J Genet Syndr Gene Ther.* 2014;5:216. <http://dx.doi.org/10.4172/2157-7412.100021610.4172/2157-7412.1000216>
  25. **Yin Y-W, Sun Q-Q, Zhang B-B, Hu A-M, Liu H-L, Wang Q, et al.** Association between apolipoprotein E gene polymorphism and the risk of coronary artery disease in Chinese population: Evidence from a meta-analysis of 40 studies. *PLoS One.* 2013;8:e66924. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0066924>
  26. **Arango VJ, Valencia A, Páez A, Montoya N, Palacio C, Arbeláez MP, et al.** Prevalencia de variantes en el gen de la apolipoproteína E (APOE) en adultos de la población general del área urbana de Medellín (Antioquia). *Rev Colomb Psiquiat.* 2014;43:80-6.
  27. **Forero DA, Pinzón J, Arboleda GH, Yunis JJ, Álvarez C, Cataño N, et al.** Analysis of common polymorphisms in angiotensin-converting enzyme and apolipoprotein E genes and human longevity in Colombia. *Arch Med Res.* 2006;37:890-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2006.04.001>
  28. **Svobodova H, Kucera F, Stulc T, Vrablik M, Amartuvshin B, Altannavch TS, et al.** Apolipoprotein E gene polymorphism in the Mongolian population. *Folia Biol (Praha).* 2007;53:138-42.
  29. **Torres AL, Guerra-Muñoz M, Segre A, Wagner J, Alvarado M.** Modulación de los niveles de lípidos y lipoproteínas por el polimorfismo de la apolipoproteína E en individuos sanos de Bogotá D.C. *NOVA.* 2005;3:31-6.
  30. **Celaya J, Rodríguez A, Michelle P, Arends A.** Estudios de polimorfismos del gen (*APOE*) de la apolipoproteína-E (ApoE) y su relación con niveles elevados de colesterol total, lipoproteínas y triglicéridos séricos en niños de edad escolar. *Soc Med Quir Hosp Emerg Pérez de León.* 2007;38(Supl.1):9-26.
  31. **Alvim RO, Freitas SR, Ferreira NE, Santos PC, Cunha RS, Mill JG, et al.** APOE polymorphism is associated with lipid profile, but not with arterial stiffness in the general population. *Lipids Health Dis.* 2010;9:128. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-511X-9-128>
  32. **Zeljko HM, Skaric-Juric T, Narancic NS, Tomas Z, Baresic A, Salihovic MP, et al.** E2 allele of the apolipoprotein E gene polymorphism is predictive for obesity status in Roma minority population of Croatia. *Lipids Health Dis.* 2011;10:9. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-511X-10-9>.
  33. **Heidari MH, Foruzannia, Emami M.** Apolipoprotein E gene polymorphism in Iranian coronary atherosclerosis patients candidate for coronary artery bypass graft. *Iran J Basic Med Sci.* 2013;16:841-4.
  34. **Castañeda M.** Análisis de polimorfismos en los genes *ADAM10, BACE1, NCSTN* y *APOE* en pacientes con enfermedad de Alzheimer de tipo esporádico en Antioquia (2011-2013). Tesis de Maestría. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2013.
  35. **Liu M, Bian C, Zhang J, Wen F.** Apolipoprotein E gene polymorphism and Alzheimer's disease in Chinese population: A meta-analysis. *Sci Rep.* 2014;4:4383. <http://dx.doi.org/10.1038/srep04383>
  36. **Yasen AL, Raber J, Miller JK, Piper BJ.** Sex, but not apolipoprotein E polymorphism, differences in spatial performance in young adults. *Arch Sex Behav.* 2015;44:2219-26. <http://dx.doi.org/10.1007/s10508-015-0497-1>

ORIGINAL ARTICLE

## Adverse drug reactions in Colombian patients, 2007-2013: Analysis of population databases

Jorge Enrique Machado-Alba, Manuel José Londoño-Builes,  
Luis Felipe Echeverri-Cataño, Sergio Andrés Ochoa-Orozco

Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira,  
Audifarma, S. A., Pereira, Colombia

**Introduction:** Recognizing adverse drug reactions (ADRs) is becoming more important in clinical practice.

**Objective:** To determine the frequency of adverse drug reactions and ADR suspicions among the population affiliated to the Colombian health system and to describe the drugs, reactions and associated variables.

**Materials and methods:** We revised ADRs and ADRs suspicion databases from drugs dispensed by Audifarma, S.A., both for inpatient and outpatient care from 2007 to 2013. Variables included ADR report date, city, drug, drug's Anatomical Therapeutic Classification (ATC), ADR severity, ADR type, ADR classification and ADR probability according to the World Health Organization's definitions.

**Results:** We obtained 5,342 reports for 468 different drugs. The ATC groups with the most reports were anti-infectives for systemic use (25.5%), nervous system agents (17.1%) and cardiovascular system drugs (15.0%). The drugs with the highest number of reports were metamizole (4.2%), enalapril (3.8%), clarithromycin (2.8%), warfarin (2.5%) and ciprofloxacin (2.4%). The most common ADR, classified following the World Health Organization adverse reaction terminology, were: skin and appendages disorders (35.3%), general disorders (14.2%) and gastrointestinal system disorders (11.8%). Overall, 49.4% of the ADRs were classified as "moderate" and 45.1% as "mild".

**Conclusion:** An increasing number of ADR reports were found coinciding with a worldwide tendency. Differences between inpatient and outpatient ADR reports were found when compared to scientific publications. The information on ADR reports, mainly gathered by the *Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – Invima*, should be made public for academic and institutional use.

**Key words:** Drug-related side effects and adverse reactions, adverse drug reaction reporting systems, pharmacovigilance, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2781>

### Reacciones adversas a medicamentos en una población colombiana, 2007-2013: análisis de bases de datos

**Introducción.** La detección de las reacciones adversas a medicamentos es cada vez más importante en la práctica clínica.

**Objetivo.** Determinar la frecuencia de reacciones adversas a medicamentos y de los casos sospechosos de tales reacciones, en la población afiliada al Sistema General de Seguridad Social en Salud de Colombia.

**Materiales y métodos.** Se revisaron las bases de datos sistematizadas de reportes de sospecha de reacciones adversas a los medicamentos dispensados por la empresa Audifarma, S.A., para uso ambulatorio y hospitalario, entre 2007 y 2013. Las variables contempladas fueron: la fecha de radicación del reporte, la ciudad, el medicamento, la clasificación anatómica terapéutica del medicamento, la gravedad, el tipo de reacción adversa y su clasificación, así como la de su probabilidad de ocurrir, según las definiciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

**Resultados.** Se obtuvieron 5.342 reportes de sospecha de reacción adversa a 468 medicamentos diferentes. Los grupos con más reportes fueron los fármacos antiinfecciosos de uso sistémico (25,5 %) y los medicamentos para el sistema nervioso (17,1 %) y para el sistema cardiovascular (15,0 %). Los medicamentos con más reportes fueron: el metamizol (dipirona) (4,2 %), el enalapril (3,8 %), la claritromicina (2,8 %), la warfarina (2,5 %) y la ciprofloxacina (2,4 %). Las reacciones adversas a medicamentos más frecuentes, según la clasificación de la terminología sobre reacciones

#### Author's contributions:

Manuel José Londoño-Builes: data collection

Jorge Enrique Machado-Alba and Sergio Andrés Ochoa-Orozco: final text revision

All authors participated in the analysis of data and results and in their discussion.

adversas de la OMS, fueron los trastornos de la piel y anexos (35,3 %), los trastornos generales (14,2 %) y los trastornos del sistema gastrointestinal (11,8 %). El 49,4 % de las reacciones adversas a medicamentos se catalogaron como moderadas y, el 45,1 %, como leves.

**Conclusiones.** Se encontró un incremento de reportes de reacciones adversas a medicamentos en los últimos años, lo que concuerda con la tendencia mundial. Se evidenciaron diferencias entre los reportes hospitalarios y de consulta ambulatoria. La información sobre los reportes de reacciones adversas a medicamentos, sobre todo la recopilada por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima), debería ser pública para su uso académico e institucional.

**Palabras clave:** efectos colaterales y reacciones adversas relacionados con medicamentos, sistemas de registro de reacción adversa a medicamentos, farmacovigilancia, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2781>

Adverse drug reactions (ADR) are events that may severely affect the health of people who consume drugs for therapeutic, diagnostic or prophylactic purposes (1). ADRs have been shown to be an important worldwide cause of hospitalization and death every year and are among the top ten causes of death in the United States (2-5). Besides compromising people's health, ADRs generate unexpected costs that affect the economy of health systems, which is why the early identification, prevention and resolution of ADRs are necessary (5-7). Several authors have calculated the percentage of preventable ADRs, demonstrating that a structured pharmacovigilance system could reduce human and economic repercussions generated by them (8,9).

In 2007, the World Health Organization (WHO) stated the importance of pharmacovigilance by releasing a resolution after the 27<sup>th</sup> Pan American Sanitary Conference urging member states to give priority to patient security by establishing and strengthening the scientific systems needed to improve security and attention quality (10).

The debate of active (search) and passive (spontaneous report) monitoring is open, contemplating costs and countries capacity in accordance with their own developmental level, with multiple considerations about experiences in different nations and the analysis of several classification and reporting systems (11-13).

Locally, the *Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – Invima*, the drug regulator entity in Colombia, constituted its national pharmacovigilance program in 1997, obtaining

membership to the World Pharmacovigilance Program in 2004 with the recognition of a national initiative by the Uppsala Monitoring Center. Since then, ADR reports have been sent to the WHO collaborating center with regular feedback by the way of experts focused on standardizing the program. Trimestral bulletins with information on ADR reports, pharmacovigilance research and related news are published on its website (9,14). In 2006, the Colombian Health Minister established the Obligatory System of Health Attention Quality Guarantee by means of Decree No. 1011, making health institutions carry out an audit for the improvement of health attention quality by preventive actions and following-up drug dispensation and administration (15). This shows the importance of this topic in accordance to what has been discussed and adopted worldwide.

In 2011, a review of the literature published on research related to ADR detection in Colombian patients found 13 papers, including inpatient and outpatient populations monitored both passively and actively in institutions with different complexity levels. Nonetheless, these were small-scale studies with non-unified information (14). A survey carried out in 2002 among pharmacology teachers in the country showed that there was no pharmacoepidemiology or pharmacovigilance teaching culture in Colombia (16).

We aimed at determining the frequency of ADRs and ADR suspicion in the Colombian health system (SGSSS) population by means of the ADR notification system owned by Audifarma, S.A. (main drug dispenser in Colombia) from January 2007 to March 2013, and at describing associated variables.

## Materials and methods

A retrospective cross-sectional study was conducted, revising ADRs and ADR suspicion report databases of the drugs dispensed by Audifarma, S.A., both for

Corresponding author:

Jorge Enrique Machado-Alba, Calle 105 N° 14-140, Pereira, Colombia

Telephone: (310) 832 6970; fax: (576) 313 7822  
machado@utp.edu.co.

Recibido: 31/03/15; aceptado: 27/07/15

inpatient and outpatient populations, from January 1<sup>st</sup>, 2007 to March 1<sup>st</sup>, 2013, when it began to be systematized information. Audifarma, S.A., is a drug dispensation logistic operator covering over 6.2 million users of the SGSSS, corresponding to 32.6% of the population affiliated to the pay system. The databases were completed by pharmaceutical chemists associated with the company who received the report of Negative Outcomes Associated with Medication (NOM) including ADR suspicions, and data were verified with the help of a pharmacoepidemiologist if necessary. Databases presented variations on yearly information, so pertinent variables were manually standardized to create specific compilations by periods and a general compilation from 2007 to 2013 with all cases included. As this is a database used by several professionals across the country, information was carefully checked and terms were standardized.

The general database included: ADR report date, city, drug's generic name, drug's Anatomical Therapeutic Classification System (ATC) (code letter and first two digits), ADR severity (mild, moderate, serious), ADR type according to Edwards and Aronson (A, B, C, D, E, F) and ADR causality category according to WHO-UMC (Certain, Likely, Possible, Unlikely, Conditional, Unassessable). ADRs were standardized in accordance with WHO Adverse Drug Reaction Terminology (WHO-ART). The 15 drugs with the highest number of reports were classified and a list was created with the ADRs reported for them. The first 15 ATC subgroups (code letter and first two digits) were also extracted.

The study data were stored, processed, and analyzed using IBM SPSS®, Statistics, version 21.0 (SPSS Inc., an IBM company, Chicago, Illinois, United States); frequencies, percentages and means were employed. The study protocol was reviewed and approved by the bioethics committee of the *Universidad Tecnológica de Pereira*, Colombia.

## Results

The 5,342 ADRs and ADR suspicion reports were obtained from 55 cities, including 21 of the 32 departments in the country. The ten municipalities with the most reports (Bogotá, Barranquilla, Cali, Pereira, Medellín, Barrancabermeja, Bello, Manizales, Ibagué and Cartagena) accounted for 85.0% of the total. The number of reports per year was: 2007: 198 reports, 2008: 205 reports, 2009: 383 reports, 2010: 661 reports, 2011: 1,397 reports, 2012: 2,099 reports, and January-February 2013:

399 reports. The mean number of monthly reports was 71. Altogether, 468 different drugs received at least one notification; table 1 shows the ATC group distribution for these.

ATC groups with the highest report numbers were: Anti-infectives for systemic use (J) (n=1360, 25.5%), nervous system agents (N) (n=916, 17.1%), cardiovascular drugs (C) (n=802, 15.0%), alimentary tract and metabolism drugs (A) (n=592, 11.1%), and antineoplastic and immunomodulating agents (L) (n=530, 9.9%) (figure 1). Table 2 shows the top 15 ATC subgroups (code letter and first two digits).

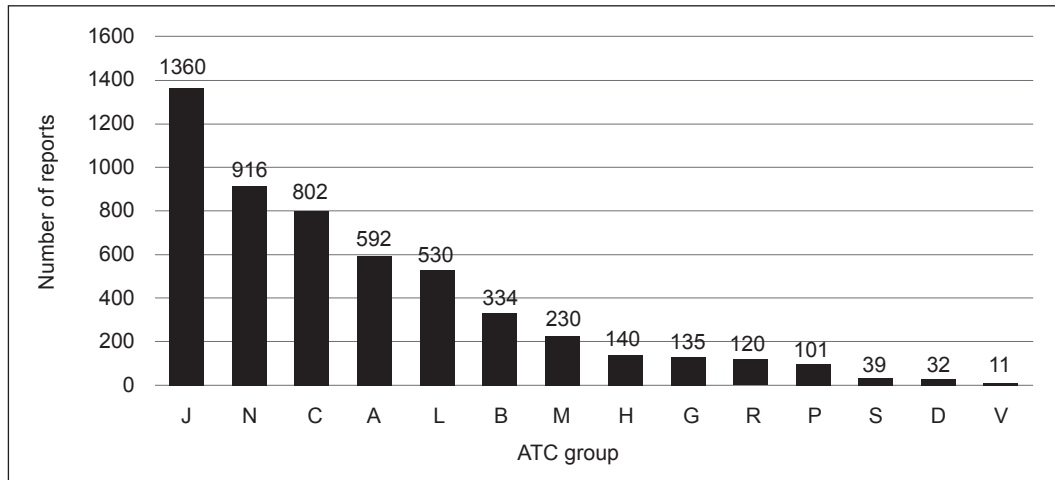
The ATC group with the highest number of reports was "Anti-infectives for systemic use" with 17.7 reports for each of the group's drugs included in the database, while "Dermatologicals" obtained the lowest proportion, with 2.3 reports per drug.

The drugs with the highest number of reports were metamizole (4.2%), enalapril (3.8%), clarithromycin (2.8%), warfarin (2.5%) and ciprofloxacin (2.4%). In the list of the 15 drugs with the highest number of reports, there were four antibiotics (clarithromycin, ampicillin/sulbactam, ciprofloxacin and vancomycin), three antihypertensive drugs (losartan, nifedipine and enalapril), three analgesics/antipyretics (metamizole, diclofenac and tramadol), two monoclonal antibodies (infliximab and rituximab), one anticoagulant (warfarin), one antiemetic (metoclopramide) and one anti-ulcer drug (ranitidine) (table 3).

**Table 1.** Groups of drugs involved in adverse drug reactions among Colombian patients according to the Anatomical and Therapeutic Classification (ATC), 2007-2013

ATC group	Frequency	%
Nervous system (N)	77	16.5
Anti-infectives for systemic use (J)	73	15.6
Alimentary tract and metabolism (A)	59	12.6
Antineoplastic and immunomodulating agents (L)	56	12.0
Cardiovascular system (C)	54	11.5
Blood and blood forming organs (B)	24	5.1
Musculoskeletal system (M)	23	4.9
Respiratory system (R)	23	4.9
Genitourinary system and sex hormones (G)	22	4.7
Systemic hormonal preparations (H)	18	3.8
Dermatologicals (D)	14	3.0
Antiparasitic products, insecticides and repellents (P)	13	2.8
Sensory organs (S)	8	1.7
Various (V)	4	0.9
Total	468	100.0





**Figure 1.** Total reports of adverse drug reactions in Colombia according to the Anatomical and Therapeutic Classification (ATC), 2007-2013. A) Alimentary tract and metabolism, (B) blood and blood forming organs, (C) cardiovascular system, (D) dermatologicals, (G) genito-urinary system and sex hormones, (H) systemic hormonal preparations, (J) anti-infectives for systemic use, (L) antineoplastic and immunomodulating agents (M), musculoskeletal system, (N) nervous system, (P) antiparasitic products, insecticides and repellents, (R) respiratory system, (S) sensory organs, (V) various.

**Table 2.** Reporting of adverse drug reactions attributed to the top 15 drug subgroups among Colombian patients according to the Anatomical and Therapeutic Classification (ATC), 2007-2013

ATC	Sub-group description	Reports	Percentage
J01C	Beta-lactam antibacterials, penicillins	330	6.2
L04A	Immunosuppressants	306	5.7
J01D	Other beta-lactam antibacterials	300	5.6
N02B	Other analgesics and antipyretics	292	5.5
J01F	Macrolides, lincosamides and streptogramins	237	4.4
C09A	Agents acting on the renin-angiotensin system	230	4.3
B01A	Antithrombotic agents	208	3.9
N02A	Opioids	178	3.3
J01X	Other antibacterials	164	3.1
N03A	Antiepileptics	164	3.1
M01A	Antiinflammatory and antirheumatic products, non-steroids	157	2.9
C10A	Lipid modifying agents, plain	139	2.6
J01M	Quinolone antibacterials	137	2.6
A02B	Drugs for peptic ulcer and gastroesophageal reflux disease	127	2.4
L01X	Other antineoplastic agents	115	2.2

The most common ADRs, classified following the World Health Organization Adverse Reaction Terminology (WHO-ART), were: Skin and appendages disorders, general disorders and gastrointestinal system disorders (table 4).

Table 5 specifically shows the most commonly reported ADRs for the 15 drugs with the highest number of reports.

For 3,292 reports (61.6% of the total), the severity of the notified ADR was indicated. Most were classified as “moderate” (n=1,626, 49.4%), followed by “mild” (n=1486, 45.1%), while “severe” ADRs were less common (n=176, 5.3%), even though there were

3 (0.1%) lethal reactions. Data for ADR type were obtained for 3,233 (60.5%) of the reports, which showed that type B (dose-independent) were the most frequent (n=2,366, 73.2%), and just 782 (24.2%) were type A (dose-dependent). There were also some notifications for type C (chronic) ADRs (n=64, 2.0%), type F (failure of therapy) (n=9, 0.3%) and type D or delayed (n=6, 0.2%).

Finally, 1,799 ADRs were classified as possible (45.0%), followed by likely (n=1,479, 37.0%), conditional (n=181, 4.5%), unlikely (n=170, 4.3%) and definitive (n=166, 4.2%). A total of 198 ADRs (5.0%) were unassessable.

**Table 3.** List of the 15 drugs with the highest number of adverse drug reactions in hospitals and ambulatory reports among Colombian patients, 2007-2013

ATC	Drug	Number of reports	Incidence x 1,000,000 inhabitants/year	Number of hospital reports n (%)	Number of ambulatory reports n (%)
N02BB02	Metamizole	225	0.73	175 (7.6)	50 (1.5)
C09AA02	Enalapril	203	0.65	40 (1.7)	163 (4.9)
J01FA09	Clarithromycin	147	0.47	113 (4.9)	34 (1.1)
B01AA03	Warfarin	150	0.42	81 (3.5)	69 (2.1)
J01MA02	Ciprofloxacin	130	0.42	81 (3.5)	49 (1.5)
N02AX02	Tramadol	104	0.34	65 (2.8)	39 (1.2)
J01CR01	Ampicillin/sulbactam	101	0.33	86 (3.8)	15 (0.4)
C09CA01	Losartan	124	0.32	17 (0.7)	107 (3.3)
L04AB02	Infliximab	95	0.31	13 (0.6)	82 (2.5)
J01XA01	Vancomycin	91	0.29	72 (3.1)	19 (0.5)
A03FA01	Metoclopramide	88	0.28	52 (2.3)	36 (1.0)
C08CA01	Amlodipine	78	0.25	7 (0.3)	71 (2.2)
A02BA02	Ranitidine	77	0.25	60 (2.6)	17 (0.5)
M01AB05	Diclofenac	72	0.23	44 (1.9)	28 (0.8)
L01XC02	Rituximab	72	0.23	11 (0.5)	61 (1.9)

**Table 4.** The most common adverse drug reactions classified according to the World Health Organization Adverse Reaction Terminology (WHO-ART), Colombia, 2007-2013

System-organ class	Frequency	%
Skin and appendages disorders	1681	35.3
Body as a whole - general disorders	676	14.2
Gastrointestinal system disorders	562	11.8
Central & peripheral nervous system disorders	382	8.0
Application site disorders	302	6.3
Respiratory system disorders	295	6.2
Cardiovascular disorders, general	247	5.2
Platelet, bleeding & clotting disorders	114	2.4
Musculoskeletal system disorders	77	1.6
Autonomic nervous system disorders	60	1.3
Heart rate and rhythm disorders	56	1.2
Reproductive disorders, female	51	1.1
Psychiatric disorders	48	1.0
Vision disorders	46	1.0
White cell and reticuloendothelial system disorders	31	0.7
Urinary system disorders	30	0.6
Endocrine disorders	29	0.6
Special senses other, disorders	26	0.5
Liver and biliary system disorders	18	0.4
Vascular (extracardiac) disorders	11	0.2
Metabolic and nutritional disorders	11	0.2
Red blood cell disorders	3	0.1
Hearing and vestibular disorders	3	0.1
Reproductive disorders, male	2	0.0
Total	4,761	100

## Discussion

An increasing number of yearly ADR reports were found, a fact that coincides with a worldwide tendency; differences between inpatient and outpatient

ADR reports were evident when compared to scientific publications (17,18). No similar scientific papers had been published in the region which is a strength of this work.

Other studies in Colombia have used active pharmacovigilance in hospitalized patients and retrospective enquiries of medical attention due to ADRs, but this work included both in- and outpatient reports, and compared the frequency of adverse drug reactions in hospitals and ambulatory settings (14). A study in a hospital in Colombia found the same three ATC groups as those found with the highest number of reports in this case, but in the opposite order, probably as a result of only taking hospital ADR reports into account (19). Antibiotics, which are usually associated with ADRs, were the most common, but adverse reactions to insulin and heparin, which are common in other pharmacovigilance reports, were not frequently reported in this study (1,19,20). Biotechnologic drugs, such as infliximab and rituximab, also presented an important number of ADR reports. A press communiqué by Invima in 2013 reported the risk of serious dermatological ADRs and anaphylaxis due to rituximab and recommended the notification of any type of adverse reaction associated with this drug to the Institute (21).

Scientific literature usually exposes antibiotics as the drugs that are most commonly associated with ADR reports and, in this case, four of the top ten drugs with the highest number of reports were of that class, with ATC group J (anti-infectives for systemic use) being first in the ADR report list (19,20).

**Table 5.** The most commonly reported adverse drug reactions attributed to the first 15 drugs with the highest number of reports among Colombian patients, 2007-2013

Adverse reactions	Frequency	%
Dermatologic reaction	408	31.3
Phlebitis	138	10.6
Cough	101	7.7
Nausea/dizziness	78	6.0
Bleeding	68	5.2
Dyspnea	53	4.1
Leg edema	41	3.1
Headache	40	3.1
Emesis	37	2.8
Thoracic pain	33	2.5
Bleeding risk	21	1.6
Hot flush	20	1.5
Hypotension	18	1.4
Extrapyramidal symptoms	17	1.3
Presyncope	16	1.2
Epigastric pain	15	1.2
Tachycardia	15	1.2
Anxiety/excitement	14	1.1
Eyelid edema	10	0.8
Paresthesia	10	0.8

The most common ADRs in any context are usually hypersensitivity reactions which mainly present as dermatological allergic reactions and were the most common in this report (19). A study carried out in two health institutions in Pereira, Colombia, in 2005 showed that the most common ADRs were allergic urticarial, hypoglycemia and acute gastritis. The latter two were not reported in this case, showing the difference between ADRs that occur in hospital settings and those in the outpatient setting (1).

The information obtained in this work was from a spontaneous report system, because the data are conditioned to inter-individual factors and the motivation of doctors and pharmaceutical chemists that work with the affiliated population. Passive pharmacovigilance has shown an important under-reporting of the actual number of adverse events (5,10,22). Spontaneous reports of ADR might be useful for specific reactions or those with a temporal relationship linking them to a specific drug, but might be less helpful in other types of ADR such as cancer development (7,10).

The percentage of ADR notification, according to the 54 million drugs dispensed by Audifarma, S.A., in 2012, was 0.003%. Studies in Colombia showed an ADR frequency of 0.03% and 6.8% among hospitalized patients and 1.2% to 45% as a reason for consultation/hospitalization. Taking this into account, significant ADR underreporting occurred in this population (1,14).

A small percentage of ADRs were classified as “definitive”, which is in accordance with other reports and evidences the difficulty in determining the absolute relationship of a drug with an event (1,4,14). Failures in completing the on-line form were detected for some items that were not available for all cases. The WHO Pharmacovigilance Center in Uppsala has established criteria to guarantee the quality of ADR reports that should be met by Audifarma (10).

Pharmacovigilance systems constitute a permanent drug monitoring tool which can reduce the morbidity, mortality and cost for health systems (23). The number of ADR reports for a drug can increase if there are specific warnings about it, which allows health institutions to focus pharmacovigilance on certain drugs. In the past, this behavior has allowed the detection of drug security problems and has resulted in their withdrawal from the market (4). We considered 5.3% as a significant percentage of severe ADRs, as it is above reports in Spain (1.1%) and below those recorded in France and Canada (9.6% and 24%, respectively) (24-26). The differences may be due to the quality of reporting systems (25).

Segura, *et al.*, calculated that the cost of health attention due to ADR in Colombia would reach approximately 29.4 to 88.9 million dollars in 2010, hence the pertinence of preventing their occurrence (2). Another study from Colombia showed that the average cost of care for each ADR case was US\$ 78.1 (range: US\$ 32 - US\$ 259) (1). A study found that ADRs caused by anticoagulants, insulin and corticosteroids accounted for over 80% of global ADR attention cost, which shows the importance of certain drug groups even when they are not among those that are most commonly associated with drug reactions (19). To deepen the dilemma, national ADR information, collected by INVIMA, is not published on academic media as a tool that would allow improvements in decision making and procurement for patient security (27).

We concluded, then, that the drug groups most commonly related to ADRs in Colombia during the study period were anti-infectives for systemic use, cardiovascular drugs, nervous system agents, alimentary tract and metabolism drugs and anti-neoplastic and immunomodulating agents, the latter being a novelty in our country but in line with their growing use. Metamizole, enalapril and clarithromycin were the drugs with the highest number of reports, which is common in the case of

the analgesic, but has led to discussion regarding the frequency of the uncomfortable cough associated with the antihypertensive drug. It was also noteworthy that rituximab and infliximab, both biotechnological drugs, were among the 15 drugs with the highest ADR report number. Hypersensitivity reactions in skin, followed by phlebitis associated with intravenous antimicrobial use and cough, were the most common ADRs.

Among the limitations of this study we should mention that information was obtained from spontaneous ADR notification, and this renders a partial view of the events that could have happened. Also, the data correspond to a percentage of the Colombian population, so the results can only be extrapolated to persons with similar SGSSS affiliation characteristics.

The question could be asked about how much of the information on ADR reaches patients, a fact that seems to be underrated in most publications. The knowledge about the most common ADRs in the country could help patient communities to understand the risk to which they are exposed by using certain drugs (28). As there is little ADR notification and reports, and national pharmacovigilance programs in Colombia are deficient, we think our results can provide knowledge on the drug groups most commonly associated with ADRs in the country, as well as information on the events related to the administration of biotechnological drugs, which is a topic that the enquiry on this kind of undesired results must also focus upon. Work needs to be done on the design of digital systems to immediately record adverse reactions and give feedback to prescribing doctors in order to prevent related medication errors (29). In addition, due to the importance of ADR notification with regard to public health, the possibility of paying physicians for each report they fill in has been suggested with the aim of improving the quantity and quality of the information received (30). Finally, we should consider mandatory ADR reporting and have all health workers report each event. People responsible for health policies should create mechanisms to promote ADR reporting among physicians, and case investigation and timely notification among insurers and health care providers.

#### Conflicts of interest

One of the authors has a contractual relationship with both financial organizations (*Universidad Tecnológica de Pereira* and *Audifarma, S.A.*) without this affecting the content of the manuscript.

#### Financing

This investigation was financed by *Audifarma, S.A.*, and the *Universidad Tecnológica de Pereira*.

#### References

1. **Machado-Alba JE, Moncada-Escobar JC.** Reacciones adversas medicamentosas en pacientes que consultaron a instituciones prestadoras de servicios en Pereira, Colombia. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. 2006;8:200-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642006000200008>
2. **Segura O, Maldonado C.** Las reacciones adversas a medicamentos: una aproximación desde el punto de vista económico. *Biomédica*. 2003;23:401-7. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v23i4.1234>
3. **Salazar N, Jirón M, Escobar L, Tobar E, Romero C.** Errores de medicación en pacientes críticos adultos de un hospital universitario. Estudio prospectivo y aleatorio. *Rev Med Chile*. 2011;139:1458-64. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872011001100010>
4. **Aagaard L, Soendergaard B, Andersen E, Kampmann JP, Hansen EH.** Creating knowledge about adverse drug reactions: A critical analysis of the Danish reporting system from 1968 to 2005. *Soc Sci Med*. 2007;65:1296-309. <http://dx.doi.org/10.1016/j.socscimed.2007.04.026>
5. **Wiktorowicz M, Lexchin J, Moscou K.** Pharmacovigilance in Europe and North America: Divergent approaches. *Soc Sci Med*. 2012;75:165-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.socscimed.2011.11.046>
6. **Moscoso-Veloza SM, Ramírez-Cubillos GF, López-Gutiérrez JJ, Gerena-Useche BE.** Reacciones adversas a medicamentos en el Hospital de Suba de Bogotá. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. 2006;8:209-17. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642006000200009>
7. **Hasford J, Goettler M, Munter KH, Müller-Oerlinghausen B.** Physicians' knowledge and attitudes regarding the spontaneous reporting system for adverse drug reactions. *J Clin Epidemiol*. 2002;55:945-50. [http://dx.doi.org/10.1016/S0895-4356\(02\)00450-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0895-4356(02)00450-X)
8. **Amariles P, Giraldo N.** Método Dáder de seguimiento farmacoterapéutico a pacientes y problemas relacionados con la utilización de medicamentos en el contexto de Colombia. *Seguim Farmacoter*. 2003;1:99-104.
9. **Du W, Guo JJ, Jing Y, Li X, Kelton CM.** Drug safety surveillance in China and other countries: A review and comparison. *Value Health*. 2008;11(Suppl.1):S130-6. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1524-4733.2008.00377.x>
10. **WHO/Uppsala Monitoring Centre.** Vigilancia de la seguridad de los medicamentos. Guía para la instalación y puesta en funcionamiento de un centro de farmacovigilancia. Fecha de consulta: 13 de julio de 2013. Disponible en: <http://who-umc.org/graphics/24751.pdf>.
11. **Machado-Alba JE, Giraldo-Giraldo C, Moncada-Escobar JC.** Farmacovigilancia activa en pacientes afiliados al sistema general de seguridad social en salud. *Rev Salud Pública (Bogotá)*. 2010;12:580-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642010000400005>
12. **Magro L, Conforti A, Del Zotti F, Leone R, Iorio ML, Meneghelli I, et al.** Identification of severe potential drug-drug interactions using an Italian general-practitioner database. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008;64:303-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00228-007-0394-1>



13. **García-Ramos SE, Baldominos-Utrilla G.** Electronically assisted prescription will minimize drug transcription errors. *Farm Hosp.* 2011;35:64-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.farma.2010.06.002>
14. **Calderón-Ospina C, Urbina-Bonilla A.** La farmacovigilancia en los últimos 10 años: actualización de conceptos y clasificaciones. Logros y retos para el futuro en Colombia. *Médicas UIS.* 2011;24:57-73.
15. **Ministerio de la Protección Social.** Decreto 1011 de 2006. Diario Oficial. Fecha de consulta: 5 de agosto de 2013. Disponible en: <http://www.alcaldiabogota.gov.co/sisjur/normas/Norma1.jsp?i=19975>.
16. **Segura O, Pacific H.** Tendencias en relación con la farmacovigilancia y la Farmacoepidemiología: un sondeo de opinión entre docentes de farmacología de facultades de medicina colombianas. *Acta Med Colomb.* 2003;28:112-6.
17. **Cano FG, Rozenfeld S.** Adverse drug events in hospitals: A systematic review. *Cad Saúde Pública.* 2009;25(Suppl.3):S360-72. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009001500003>
18. **Tsang C, Majeed A, Aylin P.** Routinely recorded patient safety events in primary care: A literature review. *Fam Pract.* 2012;29:8-15. <http://dx.doi.org/10.1093/fampra/cmr050>
19. **Tribiño G, Maldonado C, Segura O, Díaz J.** Costos directos y aspectos clínicos de las reacciones adversas a medicamentos en pacientes hospitalizados en el servicio de medicina interna de una institución de tercer nivel de Bogotá. *Biomédica.* 2006;26:31-41. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1392>
20. **Budnitz DS, Pollock DA, Mendelsohn AB, Weidenbach KN, McDonald AK, Anest JL.** Emergency department visits for outpatient adverse drug events: Demonstration for a national surveillance system. *Ann Emerg Med.* 2005;45:197-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annemergmed.2004.09.020>
21. **Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos.** Dirección de Medicamentos y Productos Biológicos Grupo de Programas Especiales – Farmacovigilancia. Información para profesionales de la salud: Rituximab. 2013. Fecha de consulta: 13 de julio de 2013. Disponible en: [http://www.invima.gov.co/images/pdf/farmacovigilancia\\_alertas/info-seguridad/RITUXIMAB\\_PROFESIONALES.pdf](http://www.invima.gov.co/images/pdf/farmacovigilancia_alertas/info-seguridad/RITUXIMAB_PROFESIONALES.pdf)
22. **Björkman IK, Sanner MA, Bernsten CB.** Comparing 4 classification systems for drug-related problems: Processes and functions. *Res Social Adm Pharm.* 2008;4:320-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.sapharm.2007.10.006>
23. **Oliveira MP, Novaes MR.** Drug-related problems in institutionalized elderly in Brasilia, Brazil. *Biomedicine and Aging Pathology.* 2011;1:179-84. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomag.2011.09.007>
24. **Ibáñez L, Laporte JR, Carné X.** Adverse drug reactions leading to hospital admission. *Drug Saf.* 1991;6:450-9.
25. **Ruedy J, Ogilvie R.** Adverse events: Past and future. *CMAJ.* 2004;171:549. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.1040765>
26. **Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN.** Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients – a meta-analysis of prospective studies. *JAMA.* 1998;279:1200-5. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.279.15.1200>
27. **Organización Mundial de la Salud.** La farmacovigilancia: garantía de seguridad en el uso de los medicamentos. Ginebra: WHO; 2004. Fecha de consulta: 13 de julio de 2013. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s6166s/s6166s.pdf>.
28. **Herxheimer A.** Pharmacovigilance on the turn? Adverse reactions methods in 2012. *Int J Risk Saf Med.* 2013;25:29-31. <http://dx.doi.org/10.3233/JRS-130583>
29. **Li Q, Deleger L, Lingren T, Zhai H, Kaiser M, Stoutenborough L, et al.** Mining FDA drug labels for medical conditions. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2013;13:53. <http://dx.doi.org/10.1186/1472-6947-13-53>
30. **Vogel L, Sysak T.** Physicians should be paid to report adverse drug reactions, experts say. *CMAJ.* 2012;184:E409-10. <http://dx.doi.org/10.1503/cmaj.109-4153>

ARTÍCULO ORIGINAL

## La separación materna durante la lactancia altera los niveles basales del sistema neuroendocrino en ratas adolescentes y adultas

Irene Riveros-Barrera, Zulma Dueñas

Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina,  
Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** En diversos modelos animales, incluido el de la separación materna durante la lactancia, se ha demostrado que las experiencias tempranas adversas, como el maltrato, el abandono materno y el estrés psicosocial, pueden favorecer el desarrollo de algunas enfermedades mentales, pero no se han descrito completamente varios de los cambios que se producen en el sistema neuroendocrino.

**Objetivo.** Determinar si la separación materna durante la lactancia modificaba los niveles basales de neurohormonas como la corticosterona, la corticotropina (ACTH), la oxitocina y la vasopresina (ADH), en ratas jóvenes (35 días) y adultas (90 días).

**Materiales y métodos.** Se separaron ratas Wistar de sus madres durante dos periodos de tres horas diarias a lo largo de los 21 días de lactancia. A los 35 y 90 días se tomaron muestras de los grupos de las ratas de control y de las separadas de la madre, para obtener el suero y posteriormente medir cada una de las hormonas mediante un ensayo inmunoenzimático.

**Resultados.** Las concentraciones de corticosterona fueron mayores en las hembras adultas de control que en el resto de los grupos, y menores en los machos adultos de control. Las de ACTH fueron mayores en los machos y hembras jóvenes separadas de la madre que en los grupos de adultos. Los niveles de oxitocina fueron significativamente mayores en las hembras adultas separadas de la madre que en los otros grupos y significativamente menores en los machos adultos. En cuanto a la vasopresina, los grupos separados de la madre tuvieron concentraciones menores, en comparación con los grupos de jóvenes y adultos de control.

**Conclusiones.** Estos resultados muestran que el estrés temprano al que fueron sometidas las ratas, produjo cambios en las respuestas del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, las cuales variaron según el sexo y la edad.

**Palabras clave:** lactancia materna, relación madre-hijo, corticosterona, hormona liberadora de corticotropina, oxitocina, arginina vasopresina, sistema hipófico-suprarrenal.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2830>

### Maternal separation during nursing alters basal neuroendocrine levels in juvenile and adult rats

**Introduction:** Work with different animal models including that of maternal separation during nursing has shown that early adverse experiences such as abuse, maternal abandonment and psychosocial stress may favor the development of various psychopathologies. However, several neuroendocrine changes have not been completely described yet.

**Objective:** To establish whether maternal separation during nursing modifies the basal levels of neurohormones such as corticosterone, ACTH, oxytocin and vasopressin in juvenile and adult rats (aged 35 and 90 days, respectively).

**Materials and methods:** Wistar rats were separated from their mothers for two periods of 3 hours per day during the 21 days of nursing. Once these rats had reached 35 and then 90 days of age, blood samples were taken from both the separated and control groups to obtain serum for immunoenzymatic assays and measure the levels of each of the hormones.

**Results:** Concentrations of corticosterone were higher in control adult females in comparison with the rest of the groups and lower in the control adult males. Those of ACTH were higher in the separated young males and females than in the adult groups. Oxytocin levels were significantly higher in the separated adult females in comparison with the other groups and significantly lower in the adult males. With respect to vasopressin, the separated groups had lower concentrations than the young and adult control groups.

#### Contribución de los autores:

Zulma Dueñas: diseño del proyecto y los experimentos, y entrenamiento de Irene Riveros-Barrera

Irene Riveros-Barrera: desarrollo de todos los experimentos

Las dos autoras participaron en el análisis de datos y en la escritura del manuscrito.

**Conclusions:** These results show that the early stress to which rats were submitted produced changes in the basal responses of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, that these responses were distinct in males and females and that they also differed according to age.

**Key words:** Breast feeding, mother-child relations, corticosterone, corticotropin-releasing hormone, oxytocin, arginine vasopressin, pituitary-adrenal system.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2830>

La relación temprana entre madre e hijo y el cuidado de los padres con el recién nacido, afectan el desarrollo fisiológico, cerebral y emocional del individuo, así como su comportamiento (1). En los estudios clínicos en los que se evalúan las consecuencias del maltrato infantil, el abandono materno y el estrés psicosocial, se sugiere que estos factores podrían favorecer el desarrollo de diversas enfermedades mentales, especialmente durante la adolescencia y la edad adulta (2-4). Se ha reportado que los niños abusados o rechazados por sus padres son más propensos a la depresión y a los trastornos de ansiedad, mientras que una relación estrecha y buena se asocia con un mejor manejo del estrés (5). En humanos, los posibles cambios cerebrales debidos a esta condición y sus consecuencias tardías, no son fáciles de detectar, lo que ha promovido la utilización de modelos animales experimentales para abordar desde diferentes perspectivas las complejas consecuencias del estrés crónico causado, por ejemplo, por la separación materna (6).

Con la utilización del modelo de estrés crónico de separación materna durante la lactancia en roedores, se han reportado secuelas de la disrupción en la relación entre madre e hijo. Los datos de otros grupos y del nuestro han evidenciado cambios persistentes en el comportamiento relacionados con la ansiedad (6), y alteraciones en la morfofisiología del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (3,6-8), y en áreas del sistema límbico (9,10), así como en la expresión de los receptores del ácido gamma-aminobutírico (GABA) (11) y de la serotonina (12,13), los cuales están estrechamente relacionados con la regulación de las respuestas de ansiedad.

Las respuestas fisiológicas al estrés más frecuentemente estudiadas corresponden a la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y del

sistema nervioso autónomo. Un evento o factor estresante induce la liberación de las hormonas corticoliberina (*Corticotropin-Releasing Hormone*, CRH) y vasopresina (*Antidiuretic Hormone*, ADH), por parte del núcleo paraventricular del hipotálamo desde la eminencia media del hipotálamo hacia la circulación portal; a su vez, estas hormonas activan la secreción de la hormona corticotropina (*Adrenocorticotropic Hormone*, ACTH) en la hipófisis hacia la circulación general. La ACTH actúa directamente sobre la corteza de las glándulas suprarrenales para inducir la síntesis y secreción de glucocorticoesteroides y mineralocorticoesteroides. En circunstancias fisiológicas, los niveles elevados de glucocorticoides activan sus receptores en el cerebro y la hipófisis, lo que sirve de señal para iniciar la culminación de la liberación de CRH y permite al organismo regresar al estado basal (14).

La activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal facilita los mecanismos fisiológicos para que un organismo reaccione adaptándose a los estímulos amenazantes. Por ejemplo, el aumento de glucocorticoides en las glándulas suprarrenales y la secreción de adrenalina en el sistema simpático, provocan el aumento en la función cardiovascular y la movilización de energía, y reducen la actividad gastrointestinal y la función inmunológica. Las hormonas relacionadas con la reacción al estrés también cumplen un papel importante en el sistema nervioso central, donde su acción facilita la consolidación de memorias mediadas por la acción de los glucocorticoides en la amígdala y el hipocampo. Sin embargo, la exposición continua a estos puede causar alteraciones en la actividad de neurotransmisores como las monoaminas, el GABA y el glutamato. Se ha comprobado que el estrés crónico afecta las propiedades electrofisiológicas de los receptores de serotonina e ionotrópicos de glutamato en el hipocampo y en la corteza prefrontal (15). Asimismo, se ha encontrado que el estrés crónico disminuye la actividad del sistema serotoninérgico y, en consecuencia, la naturaleza y la duración de los estímulos estresantes se ve reflejada en los cambios del funcionamiento de este sistema, lo que puede correlacionarse con el inicio de la depresión y la ansiedad (16-18).

Correspondencia:

Zulma Dueñas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Avenida Carrera 30 N° 45-01, oficina 430, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 316 5000, extensión 15057; fax: (571) 316 5308  
zjduenasg@unal.edu.co

Recibido: 14/05/15; aceptado: 29/07/15

Se ha postulado que la contribución de la CRH y la ADH en la liberación de la ACTH, parece ser específica según el tipo de factor estresante que la desencadena; también, se plantea que la influencia de la ADH es predominante durante el estrés crónico (18,19).

Se sabe, además, que el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal en ratas no está completamente maduro durante el periodo perinatal, que los niveles de ACTH y corticosterona se reducen significativamente durante los dos primeros días de vida y que la reacción del eje a estímulos de estrés es reducida, en comparación con lo que sucede en las ratas adultas (20).

Por otra parte, hay evidencias que demuestran que la oxitocina cerebral contribuye significativamente al establecimiento y el mantenimiento del cuidado materno en diferentes especies (21-24). Algunos experimentos en ratas macho han demostrado que la activación de la oxitocina central es esencial para la regulación de la conducta sexual y que el incremento en los niveles de esta hormona durante la cópula está directamente asociado con la atenuación de conductas relacionadas con la ansiedad (25-28).

Teniendo en cuenta que la separación materna durante la lactancia es un factor de estrés crónico, en este estudio se consideró pertinente establecer cómo se ve afectado el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal a nivel neuroendocrino y aportar información para el esclarecimiento de los mecanismos involucrados en las alteraciones relacionadas con la reacción al estrés. El objetivo específico fue establecer si la separación materna durante la lactancia modifica los niveles basales de corticosterona, ACTH, oxitocina y ADH, en ratas jóvenes y adultas de ambos sexos, a mediano y a largo plazo.

## Materiales y métodos

### Separación materna

Para el protocolo de separación materna, se utilizaron 74 ratas albinas de la cepa Wistar, mantenidas en un cuarto con temperatura y humedad controladas, con el ciclo de luz y oscuridad invertido durante 12 horas, encendido de luces a las 19 horas y acceso libre a comida y agua. La separación de las crías de sus madres se hizo durante 180 minutos en la mañana y 180 minutos en la tarde a lo largo de todo el periodo de lactancia, y a partir del día siguiente al nacimiento y hasta el día 21 (8,12). A los 22 días del nacimiento,

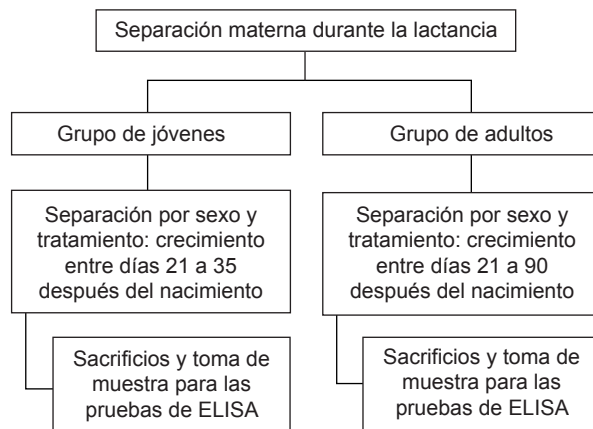
los individuos se alojaron en cajas según el sexo y el tratamiento, y continuaron su crecimiento hasta el día 35 (grupo de jóvenes) y el día 90 (grupo de adultos). Al finalizar cada uno de estos periodos, los animales fueron sacrificados bajo anestesia y se recolectó una muestra de sangre para la obtención del suero. El esquema del procedimiento para los grupos experimentales se presenta en la figura 1.

### Medición de las hormonas

Todas las hormonas se midieron mediante un ensayo inmunoenzimático hecho con el suero de las ratas tomado en las dos etapas de crecimiento y tratamiento. Se utilizaron 74 ratas distribuidas en grupos de jóvenes y adultas así: 20 hembras jóvenes (10 de control y 10 separadas de las madres) y 16 machos jóvenes (8 de control y 8 separados de las madres). El grupo de ratas adultas incluyó 20 hembras (10 de control y 10 separadas de la madre) y 18 machos (8 de control y 10 separados de la madre).

Las concentraciones de corticosterona, oxitocina y ADH se establecieron mediante las pruebas ELISA-ADI-900-097, ELISA-ADI=900=153 y ELISA-900-017, respectivamente (ENZO LifeScience), y para medir la hormona ACTH se utilizó el kit de Phoenix Phramaceuticals Inc. (EIA-ACTH-0EK 00121). En todos los casos se siguieron las instrucciones de los proveedores, cuyos fundamentos y procedimientos eran similares con variaciones en aspectos menores.

Para cada ensayo se elaboró una curva estándar de cada hormona; se utilizaron 100  $\mu$ l de muestra previamente reconstituida con 200  $\mu$ l de la solución



**Figura 1.** Esquema del diseño de trabajo para los grupos experimentales. En el grupo de control las crías no se separaban de la madre y solamente se las manipulaba para el cambio de camas.



tampón del ensayo. Las muestras se incubaron en cajas de 96 pozos que, además de esta, incluían los pozos blanco, el control positivo y los controles negativos. El tiempo de incubación con el anticuerpo primario respectivo se ajustó a las instrucciones de cada kit y el revelado se hizo utilizando el péptido biotinilado. En todas las placas de los kits de Enzo, la absorbancia se leyó en un lector de placas (Ultramark Manager 5.2.1) a una densidad óptica de 405 nm y en las del kit de Phoenix Pharmaceuticals Inc. para la ACTH la lectura se hizo a una densidad óptica de 450 nm. Cada muestra se analizó por triplicado.

### **Análisis estadístico**

Se utilizó el programa gratuito para análisis de datos científicos Past, versión 3.07. Para el análisis de los resultados de cada hormona, se hizo un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba *post hoc*, con el fin de establecer si había diferencias entre los grupos. Teniendo en cuenta los efectos dimorfos entre machos y hembras, se hizo una comparación pareada entre los grupos (solo machos, solo hembras) mediante la prueba t de Student. En todos los casos se estableció la diferencia significativa con un valor de  $p < 0,05$ .

### **Consideraciones éticas**

El proyecto de investigación en cuyo marco se obtuvieron los resultados aquí presentados, fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia (Acta 31 del 18 de mayo de 2012). Los procedimientos de laboratorio se desarrollaron de acuerdo con la Resolución 8430 de 1993, capítulo V, y se ajustaron a las normas fundamentales para el manejo de animales de laboratorio, que establecen los siguientes principios éticos: 1) garantizar el mínimo de manipulaciones del animal y de intervenciones en su entorno, evitando perturbarlo o provocarle reacciones de alerta o refugio; 2) ofrecerle un entorno confortable y protegido en cuanto a agentes físicos, químicos y biológicos; 3) lograr la seguridad del confinamiento, evitando su escape o fuga, la penetración de otros animales y la exposición a daños, garantizando la ausencia de peligros; 4) las áreas de alojamiento de los animales deben ser específicas para este propósito y responder a los requisitos establecidos en la actividad que se va a realizar, y 5) lograr los objetivos del experimento, ensayo o validación con el mínimo de variables de tiempo y de animales.

## **Resultados**

A continuación se describen los resultados de la medición de cada una de las hormonas. En todos los casos los datos se expresaron como la media + error estándar de la media (EEM). Con la prueba estadística ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los ocho grupos de las hormonas corticosterona, ADH, ACTH y oxitocina ( $p < 0,05$ ). Con la prueba estadística t de Student se hicieron comparaciones pareadas entre los grupos y se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las concentraciones hormonales. A continuación se describen los resultados de cada una de las mediciones.

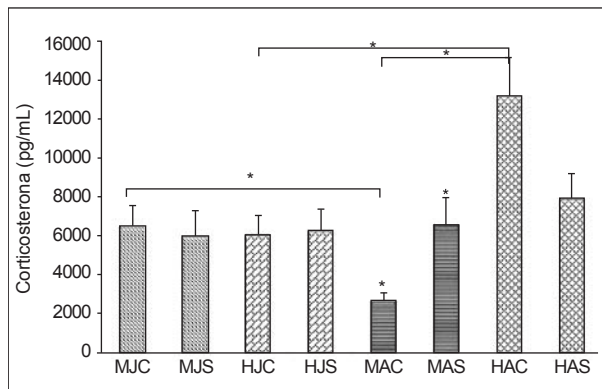
### **Corticosterona**

El ANOVA mostró diferencias entre el tratamiento y los grupos ( $F=6,385$ ;  $p < 0,05$ ), con la prueba *post hoc* de Tukey se evidenció una diferencia entre los grupos de los machos de control y los separados de la madre, y la prueba t también reveló diferencias en la comparación entre los grupos de jóvenes (machos jóvenes de control: 648,97 pg/ml; machos jóvenes separados de la madre: 597,54 pg/ml; hembras jóvenes de control: 605,55 pg/ml, y hembras jóvenes separadas de la madre: 623,46 pg/ml), aunque estas no fueron significativas. Sin embargo, sí hubo diferencias entre el grupo de machos adultos de control (267,14 pg/ml) y el grupo de machos adultos separados de la madre (653,92 pg/ml), con una concentración hormonal mayor en este último. También, se encontraron diferencias significativas entre el grupo de machos jóvenes de control y el de hembras adultas de control (1319,15 pg/ml), con una mayor concentración hormonal en este último (figura 2).

La comparación entre los grupos de jóvenes y de adultos evidenció diferencias significativas entre el grupo de machos jóvenes de control y el de machos adultos de control, en el cual el nivel hormonal fue menor, igualmente, se encontraron diferencias entre el grupo de hembras jóvenes de control y el de hembras adultas de control, grupo este que tuvo mayor nivel hormonal (figura 2).

### **Corticotropina (ACTH)**

Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de ACTH en el grupo de jóvenes. El ANOVA evidenció diferencias entre los grupos debidas al tratamiento ( $F=2,43$ ;  $p < 0,05$ ), la prueba *post hoc* de Tukey evidenció la diferencia entre los grupos de machos jóvenes de control y los separados de la madre. En los machos jóvenes de



**Figura 2.** Concentraciones de corticosterona medidas en los diferentes grupos. Con la prueba estadística ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ). Con la prueba t de Student se encontraron diferencias significativas (\*) entre los grupos de machos jóvenes de control (MJC) y de machos adultos de control (MAC) ( $p < 0,05$ ), entre los grupos de hembras jóvenes de control (HJC) y de hembras adultas de control (HAC) ( $p < 0,05$ ), entre los grupos de machos adultos de control (MAC) y de machos adultos separados de la madre (MAS) ( $p < 0,05$ ), y entre los grupos de machos y hembras adultas de control (MAC y HAC) ( $p < 0,05$ ).

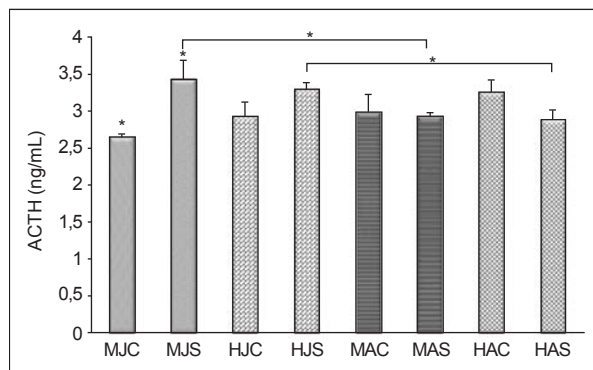
control (2,64 ng/ml) la concentración de la hormona fue menor que en los machos jóvenes separados de la madre (3,43 ng/ml), siendo mayores las concentraciones del grupo de los separados de la madre. Por el contrario, no se encontraron diferencias significativas entre los cuatro grupos de los adultos (figura 3).

Al comparar los grupos de jóvenes y de adultos, se hallaron diferencias significativas entre los machos jóvenes separados de la madre (3,43 ng/ml), con los niveles mayores, y los machos adultos separados de la madre (2,93 ng/ml); asimismo, se encontraron diferencias significativas entre el grupo de hembras jóvenes (3,92 ng/ml) y el de hembras adultas separadas de la madre (2,88 ng/ml), con un mayor nivel de ACTH en el grupo de jóvenes separadas de la madre (figura 3).

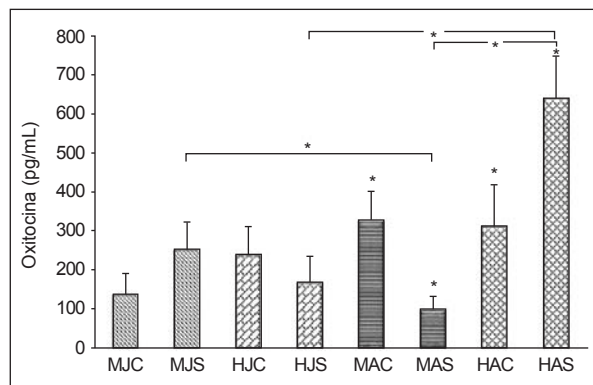
**Oxitocina**

La comparación de las concentraciones de oxitocina mediante el ANOVA y la prueba *post hoc* de Tukey, reveló una diferencia entre los grupos ( $F=5,362$ ;  $p < 0,05$ ). Con la prueba t de Student en los adultos se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los machos adultos de control (325,92 pg/ml) y los separados de la madre (98,56 pg/ml), con un mayor nivel en el grupo de los machos de control; igualmente, se encontraron diferencias entre los grupos de hembras adultas de control (310,71 pg/ml) y las separadas de la madre

(640,65 pg/ml), evidenciándose un mayor nivel hormonal en el grupo de las hembras separadas de la madre. Por último, al comparar por sexos, se encontraron diferencias entre el grupo de los machos adultos separados de la madre (98,56 pg/ml) y el de las hembras adultas (640,65 pg/ml), con un valor mayor en este último grupo (figura 4).



**Figura 3.** Concentraciones (ng) de corticotropina (ACTH) medidas en los diferentes grupos. Con la prueba estadística ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ). Con la prueba t de Student se encontraron diferencias significativas (\*) entre los grupos de machos jóvenes de control (MJC) y de machos jóvenes separados de la madre (MJS) ( $p < 0,05$ ), entre los grupos de machos jóvenes y de adultos separados de la madre (MJS y MAS) ( $p < 0,05$ ), y entre los grupos de hembras jóvenes y adultas separadas de la madre (HJS y HAS) ( $p < 0,05$ ).



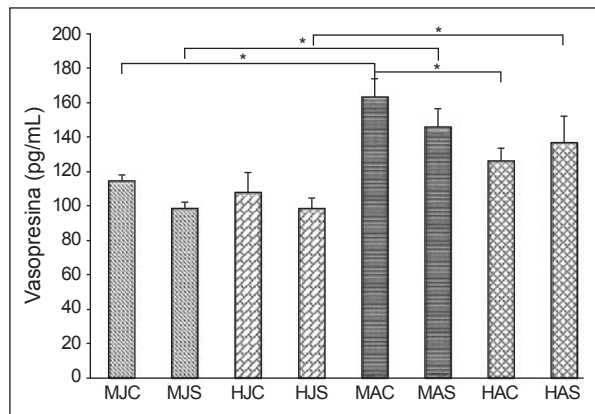
**Figura 4.** Concentraciones de oxitocina medidas en los diferentes grupos. Con la prueba estadística ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0,05$ ). Con la prueba t de Student se encontraron diferencias estadísticamente significativas (\*) entre los grupos de machos jóvenes y adultos separados de la madre (MJS y MAS) ( $p < 0,05$ ), entre los grupos de machos adultos de control y los separados de la madre (MAC y MAS) ( $p < 0,05$ ), entre los grupos de hembras adultas de control y las separadas de la madre (HAC y HAS) ( $p < 0,05$ ), entre los grupos de machos y de hembras adultas separadas de la madre (MAS y HAS) ( $p < 0,05$ ), y entre los grupos de hembras jóvenes y adultas separadas de la madre (HJS y HAS) ( $p < 0,05$ ).

En la comparación entre los grupos de jóvenes y adultos, se encontraron diferencias significativas entre los machos jóvenes separados de la madre (250,43 pg/ml) y los machos adultos (98,56pg/ml), así como entre el grupo de hembras jóvenes separadas de la madre (167,65 pg/ml) y el de las hembras adultas (640,65 pg/ml) (figura 4).

### Vasopresina (ADH)

Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de ADH en el análisis de varianza ( $F=4,992$ ;  $p<0,005$ ) entre el grupo de machos jóvenes de control (114,56 pg/ml) y el de machos jóvenes separados de la madre (98,02 pg/ml), con mayores concentraciones en el grupo de control. En el grupo de adultos se encontraron diferencias significativas entre los machos adultos de control (162,56 pg/ml) y el de las hembras (125,59 pg/ml), las cuales registraron concentraciones menores (figura 5).

En la comparación entre los grupos de jóvenes y adultos se encontraron diferencias significativas entre los machos jóvenes de control (114,56 pg/ml) y los adultos (162,56 pg/ml), los cuales registraron concentraciones mayores. Asimismo, se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de machos jóvenes separados de la madre (98,02 pg/ml) y el de los machos



**Figura 5.** Concentraciones de vasopresina (ADH) medidas en los diferentes grupos. Con la prueba estadística ANOVA se encontraron diferencias significativas entre los grupos ( $p<0,05$ ). Con la prueba t de Student se encontraron diferencias significativas (\*) entre los grupos de machos jóvenes de control y los separados de la madre (MJC y MJS) ( $p<0,05$ ), entre los grupos de machos jóvenes y adultos de control (MJC y MAC) ( $p<0,05$ ), entre los grupos de machos jóvenes y adultos separados de la madre (MJS y MAS) ( $p<0,05$ ), entre los grupos de hembras jóvenes y adultas separadas de la madre (HJS y HAS) ( $p<0,05$ ), y entre los grupos de machos y de hembras adultas de control (MAC y HAC) ( $p<0,05$ ).

adultos (145,39 pg/ml). Por último, se encontraron diferencias significativas entre el grupo de hembras jóvenes separadas de la madre (98,20 pg/ml) y el de las hembras adultas (135,5 pg/ml) (figura 5).

### Discusión

Cuando se viven situaciones de estrés, una de las respuestas del organismo es la activación del sistema neuroendocrino a través de un circuito que relaciona directamente el cuerpo y el cerebro: el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. El núcleo paraventricular del hipotálamo recibe señales de activación, las integra y produce una reacción hormonal que incluye la síntesis y la liberación de la hormona liberadora de corticotropina y de ADH, las cuales estimulan la glándula pituitaria, la cual, a su vez, libera ACTH en el flujo sanguíneo. Esta hormona estimula la glándula suprarrenal, la cual libera glucocorticoides en forma de cortisol en humanos y de corticosterona en ratas. La finalidad de la reacción al estrés es movilizar energía desde los tejidos de almacenamiento para preparar la reacción del organismo ante una situación amenazante. La corticosterona aumenta la glucogénesis para favorecer la utilización de glucosa y, simultáneamente, suprime funciones anabólicas como la digestión, el crecimiento y la reproducción, así como las del sistema inmunológico. La liberación de estos glucocorticoides está regulada por un mecanismo de realimentación inhibitorio del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal que actúa a nivel de la hipófisis, el hipotálamo y el hipocampo, inhibiendo su propia secreción (29).

El núcleo paraventricular contiene dos divisiones: la parvocelular y la magnocelular, y esta última posee neuronas secretoras que sintetizan principalmente ADH y oxitocina, cuyas funciones principales se relacionan con el mantenimiento del equilibrio iónico, y participan en el parto y la lactancia, respectivamente. Sin embargo, se ha planteado que ambas promueven la síntesis y la secreción de la ACTH (29). Por otro lado, la oxitocina también está involucrada en conductas sociales como el apego, la filiación, la confianza y el apoyo social, e interactúa con otras hormonas y neurotransmisores en el desarrollo de algunos trastornos psiquiátricos como la depresión, por lo que se ha considerado que contribuye a los cambios neurobiológicos que ocurren en un individuo en situaciones de estrés (27).

En algunos estudios previos se ha demostrado que el estrés temprano causa alteraciones diferentes en machos y hembras en cuanto al



comportamiento ansioso, lo que podría asociarse con las variaciones hormonales relacionadas con el sexo y, además, con la presencia dimórfica de diversas enfermedades mentales en humanos (30). Se han reportado, además, diferencias significativas en el comportamiento, la morfología y la neurobioquímica de las ratas adultas de ambos sexos sometidas a manipulación neonatal (28,29).

Algunos estudios de resonancia magnética funcional en seres humanos han evidenciado diferencias entre hombres y mujeres cuando son sometidos a estrés agudo: como reacción a los factores de estrés, el hombre activa preferentemente la corteza prefrontal, lo que favorece el comportamiento de "lucha o huida", mientras que la mujer activa el sistema límbico para favorecer el comportamiento de "ayuda y protección". La puesta en marcha del engranaje del sistema límbico, principalmente del hipocampo, reduciría, entonces, a actividad simpática y la del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal (29).

En este estudio se encontraron variaciones en los niveles hormonales de la corticosterona, la ACTH, la oxitocina y la ADH, no solo en las ratas sometidas a estrés crónico mediante el protocolo de separación materna durante la lactancia, sino también, diferencias entre los grupos de control con machos y hembras a mediano y largo plazo (jóvenes y adultas).

### **Corticosterona**

En condiciones basales, es decir, cuando no hay factores estresantes, las concentraciones plasmáticas de corticosterona en ratas son bajas y pueden variar entre 5 y 20 ng/ml dependiendo de la cepa, mientras que, en condiciones de estrés, los niveles hormonales aumentan con el fin de reaccionar adecuadamente a ellas. En este estudio se encontraron niveles similares de corticosterona en plasma en los grupos de machos y hembras jóvenes sometidas a separación materna durante la lactancia, así como en el grupo joven de control que no fue separado de la madre. Pese a que dicha separación se considera un factor de estrés crónico, la ausencia de cambios en las concentraciones de corticosterona pudiera deberse a un enmascaramiento debido a los cambios hormonales que se presentan en la pubertad, que corresponde a la etapa en la cual se hicieron las mediciones en las ratas jóvenes. De hecho, cuando las mediciones se hicieron en las adultas, es decir, en una etapa de mayor estabilidad hormonal, sí se evidenciaron cambios. En los cuatro grupos se

midieron concentraciones distintas y, aunque en los machos separados de la madre estas fueron mayores que en los machos de control, en las hembras separadas de la madre ocurrió lo opuesto: las concentraciones disminuyeron con respecto al grupo de hembras adultas no separadas de la madre. Estos resultados podrían asociarse con la reacción a la ansiedad en las hembras separadas de la madre, cuyo comportamiento ansioso fue menor, mientras que los machos separados de la madre mostraron una mejor evaluación del riesgo (8,12).

En contraste con estos resultados, en un estudio que comparó ratas expuestas a estrés crónico imprevisible y humanos con trastorno depresivo grave, se encontró un incremento en los niveles plasmáticos de corticosterona en las ratas macho, mientras que en los hombres con depresión mayor no se registraron cambios en el nivel plasmático de cortisol (30). En este sentido, hay que tener en cuenta que la capacidad de la corteza suprarrenal de la rata para sintetizar glucocorticoides se satura con niveles moderados de ACTH, de tal manera que una liberación superior de dicha hormona no se reflejaría en la liberación de los glucocorticoides (29,30).

Por otra parte, se ha encontrado que la concentración de cortisol aumenta en personas con depresión mayor. En algunos estudios se informa que este aumento se debe a una mayor secreción de CRH, ya que no hay una realimentación negativa para su disminución, pues la ACTH y el cortisol continúan secretándose, ya que la ADH favorece la liberación de ACTH en la adenohipófisis para mantener la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y compensar la acción de la CRH ante el estrés crónico, el cual, en muchos casos, precede a la depresión (30,31). El tratamiento de la depresión con fluoxetina, un inhibidor de la captura de serotonina, conduce a una disminución en las concentraciones de CRH y de ADH en el líquido cefalorraquídeo (31). Si bien es cierto que los resultados obtenidos con modelos animales no pueden extrapolarse directamente al ser humano, en este caso particular se ha reportado información cierta acerca de la relación entre la disrupción familiar temprana y la depresión en el adulto (3,32); por eso, es pertinente contribuir a identificar los mecanismos neuroendocrinos que puedan estar involucrados.

### **Corticotropina (ACTH)**

Tal como sucede con la corticosterona, en condiciones normales el nivel plasmático de ACTH es bajo y aumenta en situaciones de estrés. Al



igual que en los humanos, en animales hembra la actividad basal de estas dos hormonas aumenta como reacción a diversos estímulos. En condiciones basales, es decir en ausencia de factores que generen estrés, el hombre secreta más ACTH que la mujer, lo que sugiere que la reacción al estrés de esta hormona y del cortisol es más importante en el hombre que en la mujer (33,34).

En este estudio se encontró que en el grupo de jóvenes las concentraciones de ACTH fueron menores en los machos y las hembras de control, y mayores en los machos y las hembras separadas de la madre, siendo significativa la diferencia entre los machos jóvenes del grupo de control y los separados de la madre, mientras que, en los grupos adultos el nivel fue mayor en los machos y en las hembras de control, sin llegar a ser significativo. Además, se encontraron diferencias significativas en cuanto a la reacción de esta hormona entre los grupos de machos jóvenes y de machos adultos sometidos a separación materna durante la lactancia, así como entre las hembras jóvenes y las adultas, lo que indicaría que ante situaciones estresantes la reacción variaría con la edad, pues la activación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y de la secreción de ACTH sería mayor en los jóvenes. Como ya se mencionó, la privación materna y la interrupción del vínculo, así como los eventos estresantes tempranos, provocan alteraciones en la reacción del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal. En el presente estudio no se evidenciaron cambios significativos en las concentraciones de ACTH de las ratas durante la etapa puberal; sin embargo, hubo una tendencia al aumento en los grupos de jóvenes separados de la madre, el cual podría explicarse por los cambios hormonales de esta etapa, aunque en los adultos la tendencia fue menos evidente.

El papel de la ACTH en la reacción al estrés está directamente relacionada con el incremento en los niveles de cortisol o su equivalente en ratas, la corticosterona; sin embargo, se debe tener en cuenta la sensibilidad de la glándula suprarrenal, que hace parte del eje, lo que en este caso no se consideró y podría relacionarse con las concentraciones de ACTH que no se reflejaron en cambios en la corticosterona.

### **Oxitocina**

En los roedores la oxitocina también es liberada como reacción al estrés y parece tener cierta influencia sobre la secreción de ACTH (35), por lo cual, en condiciones en las que el individuo no

está estresado ni en proceso de parto o lactancia, el nivel plasmático de esta hormona es bajo. En este estudio se encontró que el nivel hormonal en los grupos de jóvenes fue menor que en los grupos de adultos, y que la diferencia entre las hembras jóvenes y las adultas sometidas a separación de la madre y entre las hembras adultas de control y las separadas de la madre, fue significativa; este último grupo presentó la mayor concentración de oxitocina de los grupos evaluados. Estos resultados indicarían que la separación materna durante la lactancia afectó las concentraciones de oxitocina, sobre todo en la etapa adulta y, en mayor grado, en las hembras. Los hallazgos respaldan el planteamiento de que, dada su importancia en una serie de comportamientos sociales positivos como la interacción materno-infantil, en animales adultos la oxitocina puede facilitar las interacciones sociales selectivas asociadas con la afinidad entre individuos y la formación de parejas, y participar en la regulación de las funciones parasimpáticas (36).

En otros estudios, sin embargo, se ha señalado que el tratamiento repetido con oxitocina induce un patrón contra el estrés en ratas y disminuye los niveles plasmáticos de corticosterona. Además, el tratamiento desencadena otros efectos ansiolíticos y sedantes de larga duración (37).

### **Vasopresina (ADH)**

En condiciones normales solo una fracción de las neuronas que actúan de forma sinérgica con la CRH expresa la ADH, pero en el caso de animales, en los que el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal está activado crónicamente, se ha observado que hasta 90 % de todas estas neuronas expresa concomitantemente la ADH, efecto que ha permitido sugerir que esta tendría un papel importante en situaciones de estrés crónico y que constituye el factor predominante de la regulación de la ACTH (38,39). En este estudio las concentraciones de ADH fueron menores en los grupos jóvenes, con diferencias significativas entre los machos jóvenes de control y los adultos, entre los machos jóvenes separados de la madre y los adultos, y entre las hembras jóvenes separadas de la madre y las adultas; además, se evidenció que en la etapa adulta los efectos de la separación materna durante la lactancia son mayores. Asimismo, se encontró que los machos adultos presentaron mayor nivel de ADH que las hembras, resultado que podría explicarse por el dimorfismo sexual en la síntesis de la hormona en las neuronas de la amígdala, la cual es mayor en machos que en hembras (40,41).

Además, como se mencionó anteriormente, en los machos se presenta más el comportamiento de “lucha o huida”, en el cual el incremento de la CRH y la ADH contribuye a los cambios durante las reacciones de defensa; la ADH se ha asociado con el aumento del estado de alerta, la atención o la vigilancia, así como de la conducta agresiva y de la actividad de las funciones simpáticas en general (32,42).

Aunque algunos de los resultados aquí presentados difieren de los de otros estudios, queda claro que el estrés temprano al que fueron sometidas las ratas produjo cambios en la activación y la reacción del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal diferentes según el sexo y la edad. Estos hallazgos, aunados a los reportados por otros autores, evidencian la importancia de mantener el vínculo materno y de promover una etapa de, al menos, un año de licencia por lactancia y maternidad para prevenir alteraciones emocionales en la etapa adulta y mayor sensibilidad durante la adolescencia. Indiscutiblemente, se requieren más estudios sobre el sistema neuroendocrino que permitan comprender lo que ocurre a mediano y largo plazo en las ratas sometidas a separación materna durante la lactancia como modelo de estrés por disrupción del vínculo materno, así como saber si las variaciones plasmáticas de las hormonas estudiadas son consecuencia de otros procesos.

Cabe anotar que hay estudios en los cuales se ha demostrado que, en las ratas, la exposición repetida a ambientes novedosos durante la vida temprana puede inducir mejoras duraderas en las funciones cognitiva, social, emocional y neuroendocrina en la etapa adulta, es decir, una mejor regulación del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal, lo que indica que la exposición temprana a ambientes novedosos puede mejorar la capacidad de los hijos para tener una reacción rápida ante los retos y que este éxito depende de la intervención de la madre en los primeros años de vida para regular la capacidad de aumentar el nivel de corticosterona rápidamente como reacción a la aparición de factores de estrés (43).

En conclusión, las variaciones entre machos y hembras a mediano y largo plazo, en los niveles hormonales de la corticosterona, la ACTH, la oxitocina y la ADH encontradas en este estudio, tanto en las ratas sometidas a estrés crónico mediante la separación materna durante la lactancia como en los grupos de control, permiten plantear nuevas preguntas y abren la posibilidad

de estudios posteriores para determinar claramente por qué la reacción al estrés es diferente en los machos y las hembras, por qué se producen los cambios fisiológicos a largo plazo después de vivir una experiencia estresante y cómo se relaciona esto con diferentes enfermedades mentales, como la depresión mayor y el trastorno de ansiedad, que hoy constituyen un problema de salud pública en el mundo. En varios estudios se vienen analizando los efectos epigenéticos del estrés temprano y actualmente nuestro grupo lleva a cabo algunos experimentos para analizar esa hipótesis en el modelo que se ha adoptado.

### Agradecimientos

Las autoras agradecen a Angélica Alarcón, estudiante de la Maestría en Neurociencias, quien colaboró en el procesamiento de algunas muestras mediante la técnica ELISA.

### Conflicto de intereses

Las autoras manifestamos que no tenemos ningún conflicto de intereses ni con la entidad financiadora ni con ninguna otra empresa.

### Financiación

Este proyecto (código 14800), se desarrolló gracias a la financiación de la Dirección de Investigación y de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá.

### Referencias

1. **Graham AM, Pfeifer JH, Fisher PA, Carpenter S, Fair DA.** Early life stress is associated with default system integrity and emotionality during infancy. *J Child Psychol Psychiatry.* 2015;56:12-22. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpp.12409>
2. **Klanecky AK, Woolman EO, Becker MM.** Child abuse exposure, emotion regulation, and drinking refusal self-efficacy: An analysis of problem drinking in college students. *Am J Drug Alcohol Abuse.* 2015;41:188-96. <http://dx.doi.org/10.3109/00952990.2014.998365>
3. **Pesonen AK, Räikkönen K, Feldt K, Heinonen K, Osmond C, Phillips DI, et al.** Childhood separation experience predicts HPA axis hormonal responses in late adulthood: A natural experiment of World War II. *Psychoneuroendocrinology.* 2010;35:758-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.10.017>
4. **Friedman EM, Karlamangla AS, Gruenewald TL, Koretz B, Seeman TE.** Early life adversity and adult biological risk profiles. *Psychosom Med.* 2015;77:176-85. <http://dx.doi.org/10.1097/PSY.000000000000147>
5. **Klug H, Bonsall MB.** What are the benefits of parental care? The importance of parental effects on developmental rate. *Ecol Evol.* 2014;4:2330-51. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1083>

6. **Veenema AH.** Early life stress, the development of aggression and neuroendocrine and neurobiological correlates: What can we learn from animal models? *Front Neuroendocrinol.* 2009;30:497-518. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.03.003>
7. **Macri S, Chiarotti F, Würbel H.** Maternal separation and maternal care act independently on the development of HPA responses in male rats. *Behav Brain Res.* 2008;191:227-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2008.03.031>
8. **León D, Dueñas Z.** Efectos de la separación materna temprana sobre el desempeño en el laberinto en cruz elevado en ratas adultas. *Acta Biol Colomb.* 2012;17:129-42.
9. **Lehmann J, Feldon J.** Long-term bio-behavioural effects of maternal separation in the rat: Consistent or confusing? *Rev Neurosci.* 2000;11:383-408.
10. **Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB, Plotsky PM, Monteggia LM.** Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *Eur J Neurosci.* 2007;25:3091-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05522.x>
11. **Bautista E, Dueñas Z.** Maternal separation during breastfeeding induces changes in the number of cells immunolabeled to GFAP. *Psychol Neurosci.* 2012;5:207-13. <http://dx.doi.org/10.3922/j.psns.2012.2.11>
12. **León D, Dueñas Z.** Maternal separation during breastfeeding induces gender-dependent changes in anxiety and the GABA-A receptor alpha-subunit in adult Wistar Rats. *PLoS One.* 2013;8:e68010. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0068010>
13. **Levy EA, Paolini AG, Govic A, Hazi A, Penman J, Kent S.** HPA and sympatho-adrenal activity of adult rats perinatally exposed to maternal mild calorie restriction. *Behav Brain Res.* 2010;208:202-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.033>
14. **Caldji C, Diorio J, Meaney MJ.** Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biol Psychiatry.* 2000;48:1164-74. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)01084-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3223(00)01084-2)
15. **Meaney MJ, Diorio J, Francis D, Weaver S, Yau J, Chapman K, et al.** Postnatal handling increases the expression of cAMP-inducible transcription factors in the rat hippocampus: The effects of thyroid hormones and serotonin. *J. Neurosci.* 2000;20:3926-35.
16. **Benekareddy M, Goodfellow NM, Lambe EK, Vaidya VA.** Enhanced function of prefrontal serotonin 5-HT(2) receptors in a rat model of psychiatric vulnerability. *J Neurosci.* 2010;30:12138-50. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3245-10.2010>
17. **Shea A, Walsh C, MacMillan HL, Steiner M.** Child maltreatment and HPA axis dysregulation: Relationship to major depressive disorder and post-traumatic stress disorder in females. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;30:162-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2004.07.001>
18. **Kole MH, Swan L, Fuchs E.** The anti-depressant tianeptine persistently modulates glutamate receptor currents of the hippocampal CA3 commissural associational synapse in chronically stressed rats. *Eur J Neurosci.* 2002;16:807-16. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02136.x>
19. **Meijer OC, Kortekaas R, Oitzl MS, de Kloet ER.** Acute rise in corticosterone facilitates 5-HT(1A) receptor-mediated behavioural responses. *Eur J Pharmacol.* 1998;351:7-14. [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00289-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00289-1)
20. **Emanuel RL, Thull DL, Girard DM, Majzoub JA.** Developmental expression of corticotropin releasing hormone messenger RNA and peptide in rat hypothalamus. *Peptides.* 1989;10:1165-9.
21. **Riad M, García S, Watkins KC, Jodoin N, Doucet E, Langlois X, et al.** Somatodendritic localization of 5-HT1A and preterminal axonal localization of 5-HT1B serotonin receptors in adult rat brain. *J Comp Neurol.* 2000;417:181-94. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(20000207\)417:2<181::AID-CNE4>3.0.CO;2-A](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000207)417:2<181::AID-CNE4>3.0.CO;2-A)
22. **Scott LV, Dinan TG.** Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: Implications for the pathophysiology of depression. *Life Sci.* 1998;62:1985-98. [http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205\(98\)00027-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205(98)00027-7)
23. **de Kloet ER, Sibug RM, Helmerhorst FM, Schmidt MV.** Stress, genes and the mechanism of programming the brain for later life. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29:271-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.10.008>
24. **Sapolsky RM, Meaney MJ.** Maturation of the adrenocortical stress response: Neuroendocrine control mechanisms and the stress hypo-responsive period. *Brain Res.* 1986;396:64-76.
25. **Kendrick KM.** Oxytocin, motherhood and bonding. *Exp Physiol.* 2000;85:111S-24. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-445X.2000.tb00014.x>
26. **Lonstein JS, Morrell JI.** Neuroendocrinology and neurochemistry of maternal behavior and motivation. In: Blaustein JD, editor. *Handbook of Neurochemistry and Molecular Biology.* Berlin: Springer-Verlag; 2006. p. 1-51.
27. **Campbell A.** Attachment, aggression and affiliation: The role of oxytocin in female social behavior. *Biol Psychol.* 2008;77:1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.09.001>
28. **Neumann ID.** Brain oxytocin: A key regulator of emotional and social behaviours in both females and males. *J Neuroendocrinol.* 2008;20:858-65. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01726.x>
29. **De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F.** Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6:463-75. <http://dx.doi.org/10.1038/nrn1683>
30. **Hammack SE, May V.** Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide in stress-related disorders: Data convergence from animal and human studies. *Biol Psychiatry.* 2015;78:167-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsycho.2014.12.003>
31. **Scott L, Dinan T.** Vasopressin and the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: Implications for the pathophysiology of depression. *Life Sci.* 1998;62:1985-98. [http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205\(98\)00027-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205(98)00027-7)
32. **Gilman SE, Kawachi I, Fitzmaurice GM, Buka SL.** Family disruption in childhood and risk of adult depression. *Am J Psychiatry.* 2003;160:939-46.
33. **Papaioannou A, Gerozissis K, Prokopiou A, Bolaris S, Stylianopoulou F.** Sex differences in the effects of neonatal handling on the animal's response to stress and

- the vulnerability for depressive behaviour. *Behav Brain Res.* 2002;129:131-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00334-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00334-5)
34. **Park MK, Hoang TA, Belluzzi JD, Leslie FM.** Gender specific effect of neonatal handling on stress reactivity of adolescent rats. *J Neuroendocrinol.* 2003;15:289-95. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2826.2003.01010.x>
35. **Duval F, González F, Rabia H.** Neurobiología del estrés. *Rev Chil Neuro-Psiquiatr.* 2010;48:307-18. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92272010000500006>
36. **McQuaid R, McInnis O, Abizaid A, Anisman H.** Making room for oxytocin in understanding depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 2014;45:305-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.07.005>
37. **Uvnäs-Moberg K.** Oxytocin linked antistress effects--the relaxation and growth response. *Acta Physiol Scand Suppl.* 1997;640:38-42.
38. **Nakase S, Kitayama I, Soya H, Hamanaka K, Nomura J.** Increased expression of magnocellular arginin vasopressin mRNA in paraventricular nucleus of stress-induced depression-model rats. *Life Sci.* 1998;63:23-31. [http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205\(98\)00232-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0024-3205(98)00232-X)
39. **Kirschbaum C, Kudielka B, Gaab J, Schommer N, Hellhammer D.** Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosom Med.* 1999;61:154-62.
40. **Uhart M, Chong R, Oswald L, Lin P, Wand G.** Gender differences in hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis reactivity. *Psychoneuroendocrinology.* 2006;31:642-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2006.02.003>
41. **Link H, Dayanithi G, Fohr K, Gratzl M.** Oxytocin at physiological concentrations evokes adrenocorticotropin (ACTH) release from corticotrophs by increasing intracellular free calcium mobilized mainly from intracellular stores. *Endocrinology.* 1992;130:2183-91. <http://dx.doi.org/10.1210/endo.130.4.1312449>
42. **Bosch OJ.** Maternal aggression in rodents: Brain oxytocin and vasopressin mediate pup defense. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013;368:20130085. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2013.0085>
43. **Dinces SM, Romeo RD, McEwen BS, Tang AC.** Enhancing offspring hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) regulation via systematic novelty exposure: The influence of maternal HPA function. *Front Behav Neurosci.* 2014;8:204. <http://dx.doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00204>



ARTÍCULO ORIGINAL

## Polimorfismos de los genes *LEP*, *LDLR*, *APOA4* y sus relaciones con el sobrepeso, la obesidad y el riesgo de enfermedades crónicas en adultos del estado Sucre, Venezuela

Greta Rodríguez-Arroyo<sup>1</sup>, Irene Paradisi<sup>1</sup>, Merlyn Vívenes-Lugo<sup>2</sup>,  
Dinorah Castro-Guerra<sup>1</sup>, Álvaro Rodríguez-Larralde<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Genética Humana, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela

**Introducción.** La prevalencia del sobrepeso, la obesidad y algunas enfermedades crónicas no transmisibles ha aumentado; sus causas pueden ser genéticas, epigenéticas o ambientales, por lo cual es importante evaluar la variabilidad en estas interacciones.

**Objetivo.** Analizar las relaciones entre nueve polimorfismos de nucleótido simple de los genes *LEP* (rs2167270), *LDLR* (rs885765, rs688, rs5925, rs55903358, rs5742911) y *APOA4* (rs5095, rs675, rs5110), y los fenotipos asociados al sobrepeso, la obesidad y otras enfermedades concomitantes.

**Materiales y métodos.** Se evaluaron parámetros clínicos y antropométricos en 144 sujetos del estado Sucre, Venezuela, 76 hombres y 68 mujeres, con medias de edad de 29,93±8,29 y 32,49±11,15 años, respectivamente. Se hizo la genotipificación de los polimorfismos seleccionados mediante enzimas de restricción; se estudiaron las asociaciones entre genotipo y riesgo, y se compararon los promedios de las medidas antropométricas y bioquímicas previamente ajustadas a variables biológicas y ambientales.

**Resultados.** Según el índice de masa corporal (IMC), el 38,9 % de los individuos tenía sobrepeso ( $25 < \text{IMC} < 29,9 \text{ kg/m}^2$ ) y el 20,1 %, obesidad ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Las frecuencias genotípicas y alélicas de los grupos con un índice de masa corporal normal y uno alto (sobrepeso y obesidad) resultaron similares. Solo se encontró asociación entre el genotipo ancestral A/A del rs5742911 y el riesgo alto por los niveles de la lipoproteína de alta densidad o colesterol HDL ( $\text{OR}=2,944$ ,  $\text{IC}_{95\%}$  1,446-5,996;  $p=0,003$ ). La diferencia entre los promedios corregidos de colesterol HDL para los genotipos del rs5742911 resultó significativa ( $p=0,005$ ) (A/A:  $41,50 \pm 14,81 \text{ mg/dl}$ ; A/G:  $45,00 \pm 12,07 \text{ mg/dl}$ ; G/G:  $47,17 \pm 9,43 \text{ mg/dl}$ ).

**Conclusión.** En la mayoría de las variantes genéticas estudiadas, se registró la asociación con el sobrepeso y la obesidad de los genotipos ancestrales, aunque sin ser significativa. El polimorfismo rs5742911 podría resultar útil como indicador del riesgo de enfermedades crónicas.

**Palabras clave:** polimorfismo de nucleótido simple, sobrepeso, obesidad, índice de masa corporal, dislipidemias, factores de riesgo, enfermedad crónica, adulto, Venezuela

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2702>

***LEP*, *LDLR* and *APOA4* gene polymorphisms and their relationship with the risk of overweight, obesity and chronic diseases in adults of the State of Sucre, Venezuela**

**Introduction:** Overweight, obesity and some chronic diseases have become more prevalent recently. It is well known that their causes may be genetic, epigenetic, environmental, or a mixture of these.

### Contribución de los autores:

Greta Rodríguez-Arroyo: concepción y diseño del estudio, extracción del ADN, asignación de genotipos, análisis estadístico, escritura y corrección del manuscrito

Irene Paradisi: asesoría en el diseño, selección de las variables adecuadas para el estudio de los polimorfismos y para las técnicas requeridas, entrenamiento, estandarización y control de calidad para la asignación de genotipos, y supervisión general del grupo de investigación

Merlyn Vívenes-Lugo: supervisión y ejecución de la toma de muestras en el trabajo de campo, recolección de los datos y extracción del ADN

Dinorah Castro-Guerra y Álvaro Rodríguez-Larralde: concepción y diseño del estudio, obtención del financiamiento y supervisión general del grupo de investigación

Álvaro Rodríguez-Larralde: asesoría y orientación en el análisis estadístico

Todos los autores participaron en el análisis e interpretación de los resultados, la discusión crítica y la corrección del manuscrito.

**Objective:** To analyze the relationship between nine single nucleotide polymorphisms of genes *LEP* (rs2167270), *LDLR* (rs885765, rs688, rs5925, rs55903358, rs5742911) and *APOA4* (rs5095, rs675, rs5110) with obesity-related phenotypes and other comorbidities.

**Material and methods:** We recruited 144 adults (76 males and 68 females, with average ages of 29.93±8.29 and 32.49±11.15 years, respectively) in the State of Sucre, Venezuela. Clinical and anthropometric parameters were obtained. Genotype-risk associations were studied. We then compared the averages registered for anthropometric and biochemical variables previously adjusted for biological and environmental factors.

**Results:** According to the body mass index, 38.9% of the individuals in the sample were overweight ( $25 < \text{BMI} \leq 29.9 \text{ kg/m}^2$ ) and 20.1% were obese ( $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Genotype and allele frequencies did not differ statistically for groups with normal and high body mass index (overweight plus obesity). The association between *LDLR* rs5742911 ancestral genotype A/A and high risk condition related to HDL-cholesterol was the only one found to be significant (OR=2.944, 95% CI: 1.446-5.996; p=0.003). The difference in adjusted mean HDL-cholesterol for *LDLR* rs5742911 genotypes was statistically significant (p=0.005) (A/A: 41.50±14.81 mg/dL; A/G: 45.00±12.07 mg/dL; G/G: 47.17±9.43 mg/dL).

**Conclusions:** For most of the genetic variants studied, there was an association with the presence of overweight and obesity among ancestral genotype carriers, although this was not statistically significant. The rs5742911 polymorphism may be useful as an indicator of a risk of chronic diseases.

**Key words:** Polymorphism, single nucleotide; overweight, obesity, body mass index, dyslipidemias, risk factors, chronic disease, adult, Venezuela.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2702>

Se prevé que para el 2020, las enfermedades crónicas no transmisibles del adulto, como las cardiovasculares, la hipertensión arterial sistémica, la diabetes, y la obesidad, entre otras, representarán casi las tres cuartas partes del total de la mortalidad en el ámbito mundial (1,2). En particular, la frecuencia de la obesidad ha aumentado en los países desarrollados y en desarrollo, hecho inquietante por el riesgo que supone para otras enfermedades concomitantes (3). Según datos suministrados por el Instituto Nacional de Nutrición en el 2013, en Venezuela el porcentaje de malnutrición por exceso era de 54,95 %, del cual 29,52 % correspondía al sobrepeso y, 25,43 %, a la obesidad (4), con base en mediciones del índice de masa corporal (IMC,  $\text{kg/m}^2$ ) en una muestra representativa de sujetos entre los 18 y 40 años de todo el territorio nacional (n=10.151). En el estado Sucre este porcentaje de malnutrición por exceso era de 59,03 %, con 36,34 % de sobrepeso y 22,69 % de obesidad, lo que la convierte en una de las regiones del país donde se presenta con mayor frecuencia este tipo de malnutrición (4).

Correspondencia:

Greta Rodríguez-Arroyo, Laboratorio de Genética Humana, Centro de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Carretera Panamericana, Km 11, Altos de Pipe, Caracas, Venezuela  
Teléfono: (58) 212 504 1491. Fax: (58) 212 504 1086  
gretamrb@gmail.com y gmrodrig@ivic.gob.ve

Recibido: 11/02/15; aceptado: 30/07/15

Aun cuando se reconoce la contribución del medio ambiente en el desarrollo del fenotipo obeso, en los últimos años se ha puesto de manifiesto la significativa contribución de los genes en la variación de la masa corporal. Los estudios genéticos han aumentado la comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en la regulación del peso corporal, y han revelado que la obesidad debida a trastornos monogénicos es poco frecuente. Por tal motivo, el principal reto de la investigación en este campo es la detección de las variantes genéticas que puedan explicar las formas más comunes de la obesidad humana (5,6).

Entre los genes asociados con fenotipos caracterizados por el sobrepeso y la obesidad, se encuentran el gen de la proteína leptina (*LEP*), la cual actúa como señal de circulación que reduce la ingestión de alimentos e incrementa el gasto de energía mediante la unión a su receptor, lo que activa la vía de la melanocortina hipotalámica y controla los depósitos de grasa corporal, así como el gen del receptor de las lipoproteínas de baja densidad (*LDLR*), que intervienen en el metabolismo de las lipoproteínas, y el gen de la apolipoproteína A-IV (*APOA4*), que participa en el transporte de las lipoproteínas y es muy importante para el control integral del consumo de alimentos, el metabolismo y la homeostasis de la glucosa (7-11).

Se han descrito varios polimorfismos mononucleotídicos (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) en los genes mencionados: en el gen *LEP*, el rs2167270 se ha asociado con la obesidad (12,13),

el índice de masa corporal (14), la preferencia por el dulce (15), los niveles de actividad física (16) y el control epigenético de factores perinatales, como la obesidad materna y el crecimiento del infante (17).

En el *LDLR*, los polimorfismos rs885765, rs688, rs5925, rs55903358 y rs5742911, entre otros, se han utilizado ampliamente en los estudios sobre la asociación de haplotipos con la hipercolesterolemia familiar. Estas cinco variantes se han asociado también con fenotipos relacionados con el sobrepeso y la obesidad, en cinco etnias de amerindios brasileños (18). Por su parte, Zee, et al., estudiaron la relación del rs688 con la obesidad en pacientes obesos e hipertensos, y encontraron dicha asociación solo en el grupo de los obesos hipertensos (19).

Las variantes rs675 y rs5110 del gen *APOA4* son mutaciones con cambio de sentido, es decir, implican cambios de aminoácido en la proteína (Tre367Ser y Gln380His, respectivamente) y, conjuntamente con el rs5095, se ha estudiado su asociación con lípidos y lipoproteínas (20-23), con el peso corporal, la dieta, los parámetros de la composición y la grasa corporal, así como con el síndrome metabólico (24-28).

En este contexto, el objetivo de la presente investigación fue analizar las relaciones existentes entre los genotipos de nueve polimorfismos y algunos fenotipos asociados al sobrepeso, la obesidad y el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles, en un grupo de individuos originarios del estado Sucre, como un estudio preliminar de orientación exploratoria y descriptiva.

## Materiales y métodos

### Grupo de estudio

El diseño de investigación partió de la selección de los sujetos sin haberlos clasificados previamente según peso normal, sobrepeso u obesidad, con la finalidad de comparar el fenotipo medido cuantitativamente. Para determinar el tamaño de la muestra, se hicieron simulaciones estadísticas para cada marcador, utilizando las distribuciones genotípicas, así como valores de promedios y desviaciones estándar para el índice de masa corporal (IMC) y el índice cintura-cadera registrados en estudios publicados (15,18,27), ya que dichos valores no se conocían para la población en estudio. Mediante estas pruebas se estableció que una muestra de, al menos, 120 individuos permitiría detectar diferencias significativas entre

los promedios de distintos genotipos para estas variables, a pesar de que tal tamaño de muestra no fuese representativo de la población. Esta limitación será discutida más adelante.

A partir de una muestra intencional no probabilística, se estudiaron 144 individuos (76 hombres y 68 mujeres), con edades comprendidas entre los 18 y los 65 años y provenientes del estado Sucre (región nororiental de Venezuela). Las muestras se recolectaron de personas asistentes al Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", ciudad de Cumaná, y la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Oriente (UDO), núcleo Sucre. Entre los asistentes se contó con donantes voluntarios de sangre, empleados del hospital y estudiantes universitarios, entre otros, provenientes de la población general urbana de Cumaná; se trataba de individuos mestizos cuya composición genética es el resultado de una mezcla de aportes amerindios, europeos y africanos (29-32). Los sujetos participantes debían cumplir con los siguientes criterios de inclusión: cuatro abuelos nacidos en el estado Sucre, no presentar relaciones de consanguinidad próxima entre sí, no padecer enfermedades agudas en el momento del estudio, ni tener trastornos de hiperglucemia (glucemia  $\geq 110$  mg/dl) o diabetes. Cada participante firmó el consentimiento informado aprobado por la Comisión de Bioética del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC).

### Pruebas bioquímicas y genéticas

A cada sujeto se le tomaron 10 ml de sangre por venopunción en el antebrazo después de un ayuno de 12 a 14 horas, con el fin de hacer pruebas bioquímicas, el análisis hematológico completo y la extracción del ADN (para estas dos últimas se utilizó como anticoagulante el EDTA- $\text{Na}_4$  al 15 %).

Se determinaron la glucemia y el perfil lipídico, empleando los reactivos y protocolos de Bayer Corporation (2000) (33) con el equipo Analizador Express 550<sup>®</sup>. La medición de la glucemia se incluyó en una segunda fase del trabajo de campo, razón por la cual no se contó con este valor para todos los participantes. El análisis hematológico se hizo en un contador automatizado (contador *Coulter*).

El aislamiento del ADN se hizo mediante el método de extracción salina de Lahiri y Nurnberger (34), estandarizado en el Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Para la identificación de los polimorfismos genéticos se utilizó la técnica de

reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el cuadro 1 se muestran los oligómeros y las enzimas de restricción utilizadas para cada polimorfismo de nucleótido simple estudiado. Se empleó el método descrito por Saiki, *et al.* (35), con modificaciones para una mezcla de PCR de 15 µl de volumen final. Las digestiones con enzimas de restricción se ajustaron a las especificaciones técnicas del fabricante, para un volumen final de 10 µl, utilizando la cantidad mínima requerida de enzima durante un tiempo de incubación de 16 horas. La asignación de los genotipos se efectuó mediante electroforesis en geles de poliacrilamida 29: 1 al 8, 10 y 12 % según los tamaños de los fragmentos. El revelado se hizo por tinción con nitrato de plata (36). El error técnico en la asignación de genotipos se descartó usando siempre muestras de control con genotipos conocidos (control positivo) y un control sin enzima (control negativo), en cada digestión. También, se hicieron controles de calidad aleatorios de un porcentaje de muestras (10-15 %) para cada SNP, con el fin de replicar resultados luego de la asignación definitiva. No se hizo secuenciación.

### **Fenotipos asociados al sobrepeso, la obesidad y el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles**

Se tomaron las medidas antropométricas de peso, talla y circunferencias de cintura y de cadera según los protocolos del Programa Biológico Internacional

(37), utilizando una balanza clínica Detecto-Medic® y una cinta métrica.

Se calculó el IMC y se clasificó a cada sujeto de acuerdo con los criterios de los *National Institutes of Health* (NIH) (38) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1), con base en las categorías de peso normal ( $18,5 \leq \text{IMC} \leq 24,9 \text{ kg/m}^2$ ), sobrepeso ( $25 \leq \text{IMC} \leq 29,9 \text{ kg/m}^2$ ) y obesidad ( $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Para clasificar el riesgo de padecer enfermedades crónicas, se utilizaron el índice cintura-cadera y la circunferencia de cintura (39,40). Los criterios fueron los siguientes: niveles de riesgo alto para los hombres, índice de cintura-cadera mayor o igual a 1,0 y circunferencia de cintura mayor de 102 cm, y para las mujeres, mayor o igual a 0,85 y mayor de 88 cm, respectivamente (30). Como indicador de la adiposidad corporal se calculó el índice de conicidad (41,42), que aún no cuenta con puntos de corte para los niveles de riesgo.

Las categorías de clasificación para definir las dislipidemias fueron las del *Adult Treatment Panel III* (ATP III) (43,44) y el Consenso Venezolano de Lípidos (45), que definen el riesgo alto para el colesterol total como igual o mayor de 200 mg/dl, para triglicéridos, como igual o mayor de 150 mg/dl, para el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (colesterol HDL), como menor de 40 mg/dl, y para el colesterol de lipoproteínas de baja densidad (colesterol LDL), como igual o mayor de 130 mg/dl.

**Cuadro 1.** Oligómeros y enzimas de restricción utilizadas para el análisis de los polimorfismos genéticos estudiados en el estado Sucre

Polimorfismos	Oligómeros <sup>a</sup> (5'→3') 1: Izquierdo; 2: derecho	Tamaño del producto	Enzimas de restricción <sup>b</sup>	Referencias
LEP rs2167270	1: GCCCCGCGAGGTGCACACTG 2: GAGCGCGCCGGGGCCTTAC	204 pb	<i>MspA</i> I	(52)
LDLR rs885765	1: CTGTTTGGAAAGGTGCTGGTTG 2: TGCCTGTAATCCGCGCTACT	185 pb	<i>Taq</i> I	*
LDLR rs688	1: TCTCCTTATCCACTTGTGTGTCTAG 2: CTTTCGATCTCGTACGTAAGCCACAC	190 pb	<i>Hinc</i> II	(60)
LDLR rs5925	1: GTCATCTTCCTTGCTGCCTGTTTAG 2: GTTCCACAAGGAGGTTTCAAGGTT	228 pb	<i>Ava</i> II	(61)
LDLR rs55903358	1: CAATCTTGTCGTTGATGG 2: GAACTCAAGTGATCCAGCTC	591 pb	<i>Msp</i> I	*
LDLR rs5742911	1: CAATCTTGTCGTTGATGG 2: GAACTCAAGTGATCCAGCTC	591 pb	<i>Nco</i> I	*
APOA4 rs5095	1: TAGGATCCACATATGTAAAC 2: GTCTTTCTGAAACGTATTAG	171 pb	<i>Xba</i> I	(56)
APOA4 rs675	1: AGAAGTCACTGGCAGAGC 2: TCCTCAAGTTCATACCAGAA	435 pb	<i>Hinf</i> I	*
APOA4 rs5110	1: AGAAGTCACTGGCAGAGC 2: TCCTCAAGTTCATACCAGAA	435 pb	<i>Fnu4H</i> I	*

<sup>a</sup> Todos los oligómeros se mandaron a sintetizar en la casa comercial *Qiagen-Operon Technologies, Inc.*

<sup>b</sup> Las enzimas de restricción utilizadas fueron de la casa comercial *New England Biolabs.*

\*Los oligómeros se diseñaron con los programas Primer 3 y DNAMAN.



### **Características biodemográficas, hábitos y estilo de vida**

Los participantes respondieron un cuestionario con información sobre sus características biodemográficas (edad, sexo, lugar de nacimiento), sus hábitos y estilo de vida (tabaquismo, consumo de alcohol y actividad física), sus antecedentes médicos personales y familiares (cardiovasculares, hipertensión, diabetes, dislipidemias), y su estrato socioeconómico, para su clasificación según el método de Graffar-Méndez-Castellano (46).

### **Análisis estadístico**

Se utilizó el programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS)<sup>®</sup>, versión 21,0 (47). Se calcularon las frecuencias para las variables biodemográficas, hábitos, estilo de vida, IMC y riesgo de enfermedades crónicas según los indicadores antropométricos y bioquímicos. Se obtuvieron medias y desviaciones estándar para las variables cuantitativas hematológicas, bioquímicas y antropométricas discriminadas por sexo. Se evaluaron las diferencias entre uno y otro sexo para dichas variables mediante la prueba t de Student después de la transformación logarítmica de cada una en caso de no cumplirse las asunciones de 'parametricidad' (sic.) (normalidad).

Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas para cada polimorfismo por frecuencias absolutas (48) en todos los sujetos y en los grupos clasificados según el valor del IMC (normal: <25 kg/m<sup>2</sup>; alto: sobrepeso y obesidad: IMC ≥ 25 kg/m<sup>2</sup>). Se calculó el equilibrio de Hardy-Weinberg en cada grupo y para cada polimorfismo mediante la prueba de ji al cuadrado con el programa MAXLIK y con base en el método de máxima verosimilitud descrito por Reed y Schull (49). Luego, se evaluó la asociación entre genotipos y alelos según IMC o sexo, utilizando la prueba de ji al cuadrado o el estadístico exacto de Fisher según el número de individuos en cada genotipo.

También, se construyeron tablas de contingencia para probar la asociación entre los genotipos de cada polimorfismo (ancestral con relación a portadores del alelo variante) y las categorías de riesgo con base en el índice cintura-cadera, la circunferencia de la cintura, el colesterol total, los triglicéridos, el colesterol HDL, y el colesterol LDL (riesgo bajo Vs. riesgo alto), mediante la prueba de ji al cuadrado, el test exacto de Fisher y las relaciones probabilísticas de riesgo (*odds ratio*, OR) con sus correspondientes intervalos de confianza.

Mediante el análisis de la varianza (ANOVA), se determinó la diferencia entre los promedios de las variables bioquímicas y antropométricas para los distintos genotipos de los nueve polimorfismos analizados por separado. Cada una de estas variables se controló previamente frente a la edad, el sexo, el tabaquismo y el consumo de alcohol, los hábitos de caminata y de ejercicio, y los antecedentes de enfermedades en la familia, usando modelos multivariados (regresión lineal múltiple). Cuando los análisis de varianza evidenciaron la existencia de diferencias significativas, se efectuaron pruebas *post hoc*, como la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni, para determinar entre cuáles genotipos había diferencias estadísticamente significativas. En los casos para los cuales no se encontró homogeneidad de varianzas, se calcularon las pruebas estadísticas de Games-Howell, de Welch y de Brown-Forsythe. También, se hicieron pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis, mediana y Jonckheere-Terpstra, o U de Mann-Whitney), utilizando para los cálculos los residuos de las regresiones (variables corregidas).

La corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones (50), se aplicó en todas las pruebas estadísticas con el fin de minimizar la probabilidad de cometer un error de tipo I (51).

### **Resultados**

La caracterización de los individuos según las variables hematológicas, bioquímicas y antropométricas, se muestra en el cuadro 2.

Según se refleja en el cuadro 3, se trató de un grupo mayoritariamente joven, perteneciente a los estratos socioeconómicos pobre y medio. El 90,7 % afirmó no tener antecedentes personales de enfermedad, pero sí familiares (51,4 %), pues uno o varios parientes (principalmente padres, abuelos y tíos) presentaban una o más afecciones. Los sujetos en su mayoría informaron ser "no fumadores" (74,8 %); en cuanto al alcohol, en la categoría "no tomador" se registró el 66,9 % de los sujetos, porcentaje que incluía a quienes lo consumían de forma ocasional, llamados "bebedores sociales" (47,5 %), y quienes nunca lo consumían (19,4 %). El 62,8 % de los participantes indicó que sí hacía caminatas, y más de la mitad respondió que no practicaba ningún deporte (61,2 %).

En cuanto al IMC, el 41 % de los individuos se clasificó como normal; solo cinco mujeres presentaron valores menores de 18,5 kg/m<sup>2</sup>, lo que

**Cuadro 2.** Parámetros hematológicos, bioquímicos y antropométricos en individuos mestizos del estado Sucre, Venezuela

Variable	Sexo masculino					Sexo femenino					p <sup>a</sup>
	n	Mínimo	Máximo	Media	DE	n	Mínimo	Máximo	Media	DE	
Edad (años)	76	18,00	55,00	29,93	8,285	65	18,00	65,00	32,49	11,147	0,213
Hemoglobina (g/dl)	76	12,00	16,70	14,87	0,87	68	10,90	14,10	12,89	0,76	<b>&lt;0,0001</b>
Hematocrito (mg/dl)	76	37,10	51,00	45,24	2,68	68	32,80	43,80	39,66	2,55	<b>&lt;0,0001</b>
Glucemia (mg/dl)	45	66,00	108,00	88,16	8,30	40	65,00	98,00	78,53	7,85	<b>&lt;0,0001</b>
Colesterol total (mg/dl)	76	117,00	271,00	197,89	35,56	68	118,00	340,00	198,31	45,55	0,840
Triglicéridos (mg/dl)	76	30,00	394,00	110,64	66,11	68	16,00	328,00	94,00	57,52	0,063
Colesterol HDL (mg/dl)	76	4,00	84,00	42,71	13,39	68	20,00	90,00	46,91	14,11	0,073
Colesterol LDL (mg/dl)	76	46,00	200,00	132,18	33,77	68	52,00	280,00	132,57	40,27	0,909
Colesterol LMBD (mg/dl)	76	6,00	79,00	22,14	13,24	68	3,00	66,00	18,82	11,54	0,064
Peso (kg)	76	53,00	110,30	78,637	12,510	68	40,000	104,500	64,890	13,289	<b>&lt;0,0001</b>
Talla (cm)	76	158,00	187,00	171,70	6,23	68	140,50	179,00	159,30	6,88	<b>&lt;0,0001</b>
Circunferencia de cintura (cm)	76	48,00	116,00	90,26	12,43	68	58,00	109,00	83,62	11,67	<b>0,002</b>
Circunferencia de cadera (cm)	76	52,00	114,00	93,76	10,14	68	75,00	117,00	95,30	11,01	0,418
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	76	19,23	35,81	26,61	3,58	68	17,54	34,99	25,52	4,65	0,065
Índice de conicidad	76	0,69	1,41	1,22	0,12	68	1,03	1,36	1,20	0,07	0,410
Índice de cintura-cadera	76	0,58	1,10	0,96	0,09	68	0,73	1,10	0,88	0,07	<b>&lt;0,0001</b>

<sup>a</sup> Valor de p para la diferencia entre los promedios de uno y otro sexo (prueba t de las variables transformadas logarítmicamente), nivel de significación: p<0,003 después de la corrección de Bonferroni. Los números en negrilla corresponden a los valores de p significativos. DE: desviación estándar

**Cuadro 3.** Características biodemográficas, hábitos y riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles según indicadores bioquímicos y antropométricos en los sujetos evaluados del estado Sucre

	n	%	Variables bioquímicas	n	%
Sexo			Riesgo según colesterol total		
Sexo masculino	76	52,8	Riesgo bajo (<200 mg/dl)	81	56,3
Sexo femenino	68	47,2	Riesgo alto (≥200 mg/dl)	63	43,8
Grupo etario			Riesgo según triglicéridos		
18 a 29 años	72	51,1	Riesgo bajo (<150 mg/dl)	121	84,0
30 a 39 años	43	30,5	Riesgo alto (≥150 mg/dl)	23	16,0
40 a 49 años	20	14,2	Riesgo según colesterol HDL		
50 a 65 años	6	4,3	Riesgo bajo (≥40 mg/dl)	89	61,8
Estrato socioeconómico			Riesgo alto (<40 mg/dl)	55	38,2
Estrato I-II	19	24,4	Riesgo según colesterol LDL		
Estrato III	24	30,8	Riesgo bajo (<130 mg/dl)	66	45,8
Estrato IV-V	35	44,9	Riesgo alto (≥130 mg/dl)	78	54,2
Tabaquismo			<b>Variables antropométricas</b>		
No fumador	104	74,8	Clasificación según IMC		
Fumador-exfumador	35	25,2	Peso normal (≤24,9 kg/m <sup>2</sup> )	59	41,0
Consumo de alcohol			Sobrepeso (25,0-29,9 kg/m <sup>2</sup> )	56	38,9
Tomador	46	33,1	Obesidad (≥30 kg/m <sup>2</sup> )	29	20,1
No tomador	93	66,9	Riesgo según circunferencia de de cintura		
Hábito de caminar			Riesgo bajo (♂≤102 cm; ♀≤88 cm)	113	78,5
Sí	81	62,8	Riesgo alto (♂>102 cm; ♀>88 cm)	31	21,5
No	48	37,2	Riesgo según índice cintura-cadera		
Hábito de hacer ejercicios			Riesgo bajo (♂<1,0; ♀<0,85)	67	46,5
Sí	45	38,8	Riesgo alto (♂≥1,0; ♀≥0,85)	77	53,5
No	71	61,2			

Estrato socioeconómico I: clase alta; II: clase media-alta; III: clase media-media y media-baja; IV: clase baja (pobreza relativa), y V: pobreza crítica. Tabaquismo, fumador: ≥1 cigarrillo al día. Consumo de alcohol, tomador: frecuencia diaria, día de por medio, semanal y mensual; no tomador: frecuencia ocasional o nunca. Hábito de caminar y hacer ejercicios, solo se tomó en cuenta la respuesta afirmativa o negativa.

corresponde a bajo peso, pero, en concordancia con los objetivos del trabajo, estas participantes se incluyeron en el grupo con IMC normal. El 38,9 %

tuvo sobrepeso y el 20,1 % presentó obesidad. Es decir que según este indicador del estado nutricional, más de la mitad de los sujetos evaluados

(59 %) padecía malnutrición por exceso. En cuanto a los índices relacionados con la distribución de la grasa corporal, según el índice cintura-cadera, 53,5 % estaba en riesgo alto de padecer enfermedades crónicas y, según la circunferencia de cintura, el 21,5 %. Según la clasificación del perfil lipídico, los individuos evaluados estaban en riesgo alto de padecer enfermedades crónicas no transmisibles: 54,2 % por el colesterol LDL; 43,8 % por el colesterol total, 38,2 % por el colesterol HDL, y 16 % por los triglicéridos.

La distribución de las frecuencias genotípicas masculinas y femeninas para cada uno de los nueve polimorfismos estudiados, no resultaron significativamente diferentes (no se presentan los datos), razón por la cual no se discriminó por sexo en el análisis.

Ocho de los polimorfismos estudiados se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg para todos los subgrupos y grupos totales (no se presentan los datos); el único subgrupo en el que no se halló equilibrio fue el de los individuos con IMC normal para el polimorfismo *LEP* rs2167270 ( $\chi^2=4,875$ , un grado de libertad). Es probable que esta falta de

equilibrio por déficit de heterocigotos G/A y exceso de homocigotos A/A, se deba a que el tamaño de la muestra era relativamente pequeño ( $n=59$ ) y a un error propio del muestreo (sesgo involuntario), luego de haberse descartado el error técnico en la asignación de genotipos.

Las frecuencias genotípicas y alélicas de los nueve polimorfismos se comportaron de forma similar entre los grupos con IMC normal e IMC alto (cuadro 4); en consecuencia, la asociación de los genotipos o alelos con algún fenotipo específico de IMC, no resultó estadísticamente significativa.

En cambio, la evaluación de la asociación entre los genotipos de cada variante y alguna de las categorías de riesgo debido al índice cintura-cadera, la circunferencia de la cintura, el colesterol total, los triglicéridos, el colesterol HDL o el colesterol LDL, reveló un resultado estadísticamente significativo luego de la corrección de Bonferroni para el polimorfismo rs5742911 del gen *LDLR*, en el cual se encontró asociación entre los homocigotos del alelo ancestral (A/A) y la categoría de riesgo alto para el colesterol HDL, con un OR de 2,944 (IC<sub>95%</sub> 1,446-5,996) (cuadro 5).

**Cuadro 4.** Frecuencias genotípicas y alélicas de los nueve polimorfismos analizados en individuos del estado Sucre y clasificados según el IMC

Polimorfismos	Genotipos	IMC, n (%)		Total n (%)	Alelos	IMC		Total
		Normal	Alto			Normal	Alto	
<i>LEP</i> rs2167270	G/G	26 (41,1)	26 (30,6)	52 (36,1)	G	0,61	0,56	0,58
	G/A	20 (33,9)	43 (50,6)	63 (43,8)	A	0,39	0,44	0,42
	A/A	13 (22,0)	16 (18,8)	29 (20,1)				
<i>LDLR</i> rs885765	A/A	54 (91,5)	71 (84,5)	125 (87,4)	A	0,96	0,92	0,94
	A/G	5 (8,5)	13 (15,5)	18 (12,6)	G	0,04	0,08	0,06
<i>LDLR</i> rs688	C/C	16 (27,1)	36 (42,9)	52 (36,4)	C	0,54	0,65	0,61
	C/T	32 (54,2)	38 (45,2)	70 (49,0)	T	0,46	0,35	0,39
	T/T	11 (18,6)	10 (11,9)	21 (14,7)				
<i>LDLR</i> rs5925	T/T	11 (19,0)	25 (29,8)	36 (25,4)	T	0,47	0,55	0,51
	T/C	32 (55,2)	42 (50,0)	74 (52,1)	C	0,53	0,45	0,49
	C/C	15 (25,9)	17 (20,2)	32 (22,5)				
<i>LDLR</i> rs55903358	T/T	31 (54,4)	39 (50,0)	70 (51,9)	T	0,75	0,73	0,74
	T/C	23 (40,4)	36 (46,2)	59 (43,7)	C	0,25	0,27	0,26
	C/C	3 (5,3)	3 (3,8)	6 (4,4)				
<i>LDLR</i> rs5742911	A/A	24 (42,1)	36 (46,2)	60 (44,4)	A	0,64	0,70	0,67
	A/G	25 (43,9)	37 (47,4)	62 (45,9)	G	0,36	0,30	0,33
	G/G	8 (14,0)	5 (6,4)	13 (9,6)				
<i>APOA4</i> rs5095	A/A	40 (67,8)	56 (65,9)	96 (66,7)	A	0,83	0,83	0,83
	A/G	18 (30,5)	29 (34,1)	47 (32,6)	G	0,17	0,17	0,17
	G/G	1 (1,7)	0 (0)	1 (0,7)				
<i>APOA4</i> rs675 (Tre367Ser)	A/A	44 (74,6)	65 (76,5)	109 (75,7)	A (Tre)	0,86	0,88	0,87
	A/T	14 (23,7)	20 (23,5)	34 (23,6)	T (Ser)	0,14	0,12	0,13
	T/T	1 (1,7)	0 (0)	1 (0,7)				
<i>APOA4</i> rs5110 (Gln380His)	G/G	54 (93,1)	76 (89,4)	130 (90,9)	G (Gln)	0,97	0,95	0,95
	G/T	4 (6,9)	9 (10,6)	13 (9,1)	T (His)	0,03	0,05	0,05

IMC normal:  $\leq 24,9$  kg/m<sup>2</sup>; IMC alto: sobrepeso y obesidad ( $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>)

En el cuadro 6 se muestran las variables independientes que resultaron significativas en la regresión múltiple hecha para corregir las medidas antropométricas y bioquímicas.

En lo concerniente al ANOVA y las pruebas no paramétricas, después de aplicar la corrección de Bonferroni solo uno de los resultados se mantuvo estadísticamente significativo: el correspondiente a la diferencia entre el colesterol HDL del genotipo rs5742911 del gen *LDLR* (cuadro 7), con promedios de 41,50±14,81 mg/dl en los homocigotos A/A, de 45,00±12,07 mg/dl en los heterocigotos A/G, y de 47,17±9,43 mg/dl en los homocigotos G/G.

Aunque no llegaron a ser significativos, vale la pena destacar algunos resultados. En cuanto al IMC corregido, en el rs2167270 del gen *LEP* el promedio de los homocigotos del alelo ancestral (G/G) fue de 25,04±4,20 kg/m<sup>2</sup>, el de los homocigotos A/A fue de 25,87±4,08 kg/m<sup>2</sup>, y el de los heterocigotos G/A fue de 27,02±4,08 kg/m<sup>2</sup>. Para cuatro de las cinco variantes del gen *LDLR* estudiadas, también se hallaron diferencias en el IMC corregido; los polimorfismos rs688, rs5925 y rs5742911 presentaron mayores promedios para los genotipos ancestrales, con valores de 26,86±4,12 kg/m<sup>2</sup> (C/C), 27,32±3,99 kg/m<sup>2</sup> (T/T), y 26,07±4,41 kg/m<sup>2</sup> (A/A),

respectivamente, en contraste con los genotipos homocigotos del alelo variante cuyos promedios estuvieron entre 23 y 25 kg/m<sup>2</sup>.

Otras variables antropométricas, como el índice cintura-cadera, el peso y el índice de conicidad, para estos polimorfismos del *LDLR* también tuvieron mayores promedios en los genotipos homocigotos ancestrales. Solo el rs885765 exhibió promedios más altos entre los portadores del alelo variante (A/G), tanto para los indicadores antropométricos de IMC y el índice de cintura-cadera, como de triglicéridos y de colesterol LMBD. Los tres SNP del gen *APOA4* presentaron mayores promedios entre los homocigotos ancestrales para las variables antropométricas del índice cintura-cadera (rs5095) y el índice de conicidad (rs675 y rs5110).

### Discusión

Las variables antropométricas de peso, talla, circunferencia de cintura e índice cintura-cadera mostraron el dimorfismo sexual esperado para sujetos adultos. La hemoglobina, el hematocrito y la glucemia presentaron medias significativamente diferentes entre uno y otro sexo, en tanto que las variables del perfil lipídico no presentaron diferencias significativas entre hombres y mujeres, y se encontraron dentro de los límites de la normalidad,

**Cuadro 5.** Frecuencias de los genotipos del polimorfismo rs5742911 del gen *LDLR* según categorías de riesgo para colesterol HDL

<i>LDLR</i> rs5742911 Genotipos	Riesgo según colesterol HDL, n (%)		Total n (%)
	Riesgo alto (<40 mg/dl)	Riesgo bajo (≥40 mg/dl)	
A/A	33 (60,0)	27 (33,8)	60 (44,4)
A/G + G/G	22 (40,0)	53 (66,2)	75 (55,6)
<b>Ji al cuadrado</b>	9,096 (1 g.l.); p=0,003	<b>Prueba exacta de Fisher</b>	p=0,003
<b>OR</b>	2,944	<b>IC<sub>95%</sub></b>	1,446-5,996

Genotipo ancestral: A/A. g.l.: grado de libertad. OR: odds ratio.

**Cuadro 6.** Variables biológicas y sobre estilo de vida significativas al corregir las medidas antropométricas y bioquímicas

Variable dependiente	Variables independientes significativas (p<0,05) para el modelo <sup>a</sup>
Colesterol total	Edad, antecedentes familiares
Triglicéridos	Edad
Colesterol HDL	Antecedentes familiares
Colesterol LDL	Edad, antecedentes familiares
Colesterol LMBD	Edad
Peso	Sexo, antecedentes familiares, hábito de hacer ejercicios
Índice de masa corporal	Antecedentes familiares, sexo
Índice de conicidad	Hábito de consumo de alcohol
Índice de cintura-cadera	Sexo
Circunferencia de cintura	Hábito de consumo de alcohol, antecedentes familiares, sexo, hábito de hacer ejercicios

<sup>a</sup> Regresión lineal múltiple. Variables independientes consideradas: edad (continua); sexo (masculino, femenino); antecedentes familiares (tiene, no tiene); tabaquismo (no fumador, fumador y exfumador); hábito de consumo de alcohol (tomador, no tomador); hábito de caminar (sí, no); hábito de hacer ejercicios (sí, no).



**Cuadro 7.** Resumen de los resultados de las pruebas paramétricas y no paramétricas al comparar promedios de las variables corregidas entre los diferentes genotipos

Polimorfismos	Genotipos	Variables	ANOVA <sup>a</sup>	Pruebas no paramétricas
<i>LEP</i> rs2167270	G/G (52) G/A (63) A/A (25)	IMC	p=0,056 (G/G – G/A)	n.s.
<i>LDLR</i> rs885765	A/A (122) <sup>b</sup> A/G (18)	IMC ICiCa Tg VLDL	p=0,017 p=0,020 n.s. n.s.	p=0,037 (M-W) p=0,020 (M-W) p=0,043 (M-W) p=0,048 (M-W)
<i>LDLR</i> rs688	C/C (50) <sup>c</sup> C/T (68) <sup>c</sup> T/T (21) <sup>c</sup>	IMC ICiCa	n.s. n.s.	p=0,046 (J-T) p=0,048 (J-T)
<i>LDLR</i> rs5925	T/T (34) <sup>d</sup> T/C (73) <sup>d</sup> C/C (31) <sup>d</sup>	IMC Peso	p=0,056 (T/T – C/C) p=0,033 (T/T – C/C)	p=0,021 (J-T) p=0,020 (J-T)
<i>LDLR</i> rs55903358	T/T (69) T/C (56) C/C (6)	IC	p=0,051 (T/T – C/C); p=0,047 (T/C – C/C)	n.s.
<i>LDLR</i> rs5742911	A/A (60) A/G (60) G/G (12)	IMC HDL	n.s. n.s.	p=0,05 (Med) <b>p=0,005</b> (Med)
<i>APOA4</i> rs5095	A/A (96) A/G+G/G (48)	ICiCa	n.s.	p=0,048 (M-W)
<i>APOA4</i> rs675 (Tre367Ser)	A/A (105) A/T+T/T (34)	IC	n.s.	p=0,045 (M-W)
<i>APOA4</i> rs5110 (Gln380His)	G/G (126) G/T (13)	IC	n.s.	p=0,037 (M-W)

Se presentan los genotipos para cada polimorfismo, y el tamaño de cada subgrupo entre paréntesis; los valores de p para las pruebas estadísticas paramétricas y no paramétricas con las variables antropométricas y bioquímicas corregidas por edad, sexo, tabaquismo, consumo de alcohol, hábitos de caminata y ejercicios, y antecedentes familiares para evaluar las diferencias entre los genotipos; n.s.: no significativo ( $p > 0,05$ ); variables: índice de masa corporal (IMC), índice cintura-cadera (ICiCa), índice de conicidad (IC), triglicéridos (Tg), colesterol HDL (HDL), colesterol LMBD; prueba paramétrica: análisis de varianza de una vía (ANOVA); pruebas no paramétricas: Kruskal-Wallis (K-W), prueba de medianas (Med), Jonckheere-Terpstra (J-T), U de Mann-Whitney (M-W).

<sup>a</sup> Cuando hay tres genotipos, se presentan entre paréntesis los valores de p para la prueba de comparaciones múltiples *post hoc* de Bonferroni: pares de genotipos que presentaron diferencias; <sup>b</sup> Para IMC: A/A n=121, y para ICiCa: A/A n=125; <sup>c</sup> Para ICiCa: C/C n=52; C/T n=70; T/T n=21; <sup>d</sup> Para peso: T/T n=29; T/C n=59; C/C n=26. Los números en negrilla corresponden a un valor de p significativo luego de la corrección de Bonferroni.

excepto los promedios para el colesterol LDL, que resultaron ligeramente altos. De la misma forma, la media del IMC se ubicó en la categoría de sobrepeso. Como era de esperarse, la edad y el sexo influyeron sobre la mayoría de las variables cuantitativas estudiadas. La presencia o ausencia de antecedentes familiares de enfermedad tuvo un efecto importante en el ajuste de las medidas originales, tanto bioquímicas como antropométricas.

Las cifras de sobrepeso y obesidad para el periodo 2008-2010 en el estado Sucre, estuvieron entre las más altas de Venezuela (4); los resultados del presente estudio coinciden con esta alta frecuencia de malnutrición por exceso, lo que, aunado a la presencia de hipercolesterolemia en la mitad del grupo evaluado, sugiere que los habitantes de esta región podrían considerarse vulnerables a las enfermedades crónicas o en riesgo de complicaciones de otras enfermedades

concomitantes como las cardiovasculares, la hipertensión arterial sistémica y la diabetes, entre otras (3).

En la búsqueda de asociaciones entre las variantes genéticas estudiadas con los fenotipos de sobrepeso, obesidad y riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles, se encontró que en el polimorfismo rs2167270 de *LEP* no hubo asociación de los genotipos y alelos con el IMC (cuadro 4), lo cual también se ha descrito en estudios en Finlandia (52) e Italia (53). Sin embargo, cuando se analizaron los promedios corregidos de las variables antropométricas y bioquímicas según los genotipos, se pudo observar que el IMC de los sujetos heterocigotos G/A resultó más elevado que en los homocigotos de cada tipo, tendencia que ya se ha reportado en un estudio previo (12), pero solamente en mujeres obesas, probablemente debido al desequilibrio de ligamiento de este SNP con otros *loci* de *LEP* (12,13). Las mutaciones de

las regiones codificantes en este gen son muy poco frecuentes y producen una obesidad extrema de inicio temprano; la mayoría de los polimorfismos encontrados en la región 5' no traducida (como rs2167270), se encuentran en desequilibrio de ligamiento con otras variantes que podrían tener efectos directos sobre el fenotipo, pero el grado de desequilibrio puede variar entre poblaciones o tener mayor intensidad a medida que la cantidad de grasa corporal aumenta (12).

En la presente investigación solo se halló significación estadística para el rs5742911 del gen *LDLR* en la asociación del genotipo ancestral con el alto riesgo debido al colesterol HDL, y para las diferencias en los promedios corregidos de esta misma variable bioquímica; los valores para el colesterol HDL entre los genotipos formaron un gradiente, en el cual los homocigotos ancestrales A/A presentaron el promedio más bajo, seguidos de los heterocigotos A/G, en tanto que el promedio más alto fue el de los homocigotos del tipo de la variante G/G, comportamiento que podría sugerir un efecto de dosis, es decir, una mayor tendencia a la disminución de los niveles de colesterol HDL en la medida en que se presenta el alelo A de forma heterocigota u homocigota. En este sentido, los hallazgos de este estudio sugieren que este polimorfismo genético puede resultar útil como indicador del riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles.

En el polimorfismo rs688 del gen *LDLR*, la mayor frecuencia del alelo ancestral C entre los individuos con IMC alto (cuadro 4), aunque no estadísticamente significativa, coincide con los resultados de un estudio en australianos hipertensos (19). Otra investigación reportó estos hallazgos para el rs688, y encontró asociación para tres variantes más del *LDLR* (rs5925, rs55903358 y rs5742911) en amerindios brasileños (18). Las diferencias de los resultados de los grupos amerindios y los individuos del presente estudio, puede deberse a que los sujetos del estado Sucre provienen de una población mestiza con distintos grados de aporte europeo, amerindio y africano (29-32), mientras los sujetos estudiados por Mattevi, *et al.* (18), pertenecen a cinco poblados indígenas de Brasil con muy bajo o ningún grado de mestizaje con criollos brasileños.

El efecto funcional para estos SNP de *LDLR* no se ha determinado con exactitud en la obesidad. Tratándose de cambios en el intrón (rs885765) o en regiones no traducidas del gen (rs55903358 y

rs5742911), es posible que su papel sea regulador; por su parte, los cambios dentro de los exones (rs688 y rs5925) son sinónimos; sin embargo, hay estudios que revelan su influencia sobre la modulación del proceso de corte y empalme del gen, produciendo diferencias en los niveles del colesterol LDL (54,55).

Para el gen *APOA4*, ninguno de los alelos o genotipos de los tres polimorfismos estudiados demostraron asociación con alguna de las categorías de IMC (cuadro 4), resultado que se ha reportado previamente (56), o de las otras clasificaciones para el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles. Sin embargo, el análisis de los promedios corregidos sugiere que, para los indicadores de la distribución de grasa corporal (índice cintura-cadera e índice de conicidad), los valores más altos se hallaron entre los sujetos con los genotipos ancestrales. El rs5110 (Gln380His) exhibió promedios de 1,22±0,104 para el índice de conicidad en el genotipo ancestral G/G (Gln/Gln) y de 1,19±0,077 para los heterocigotos G/T (Gln/His), lo que concuerda con la hipótesis del perfil anti-aterogénico protector asociado con la presencia del alelo variante His380, que es muy poco frecuente, planteada por Fisher, *et al.*, en un amplio estudio de cohorte (24). La apolipoproteína A-IV con His380 adopta una conformación más estrechamente plegada, con mayor contenido de hélices alfa y aparentemente tiene una mayor afinidad por los fosfolípidos, lo cual podría permitirle una penetración más profunda en la monocapa de estos, y explicaría la mayor activación de la lecitina colesterol acil-transferasa (24).

Los resultados de este estudio, aun cuando son preliminares, llevan a plantear si este grupo mestizo del estado Sucre es un ejemplo de la hipótesis de Neel sobre el "genotipo ahorrador", la cual plantea que en la historia evolutiva del hombre se favoreció la selección de variantes genéticas excepcionalmente eficientes para el consumo y utilización del alimento y para el ahorro de energía, debido a las condiciones hostiles del medio ambiente en esos momentos, y que, al adoptar las condiciones del denominado estilo de vida occidental, dicho sistema, que favoreció la supervivencia en tiempos de hambruna, aumentó la vulnerabilidad ante trastornos metabólicos como la diabetes (57). En el estudio, en siete de los nueve polimorfismos evaluados (rs688, rs5925, rs55903358, rs5742911, rs5095, rs675, rs5110), se observó una propensión al sobrepeso o la

obesidad, a una mayor adiposidad abdominal y al riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles en los genotipos ancestrales.

Las enfermedades complejas son el resultado de interacciones entre causas ambientales y genéticas; estas últimas se deben a polimorfismos comunes que tienen efectos pequeños y aditivos, lo cual representa una dificultad para detectar asociaciones apreciables y lograr suficiente reproducibilidad en distintas poblaciones (58,59).

Desde el punto de vista del componente ambiental, la frecuencia de sobrepeso, la obesidad y los niveles elevados de colesterol, seguramente también se asociaron con los hábitos alimentarios y un estilo de vida sedentario en los sujetos del estudio. La evaluación de la frecuencia del consumo de alimentos en 84 de los entrevistados, reveló hábitos de consumo diario de grasas, aceites, azúcar y sal en sus comidas (no se presentan los datos).

Las respuestas disponibles sobre actividad física se referían únicamente a la práctica de caminatas y ejercicios, pero no a su frecuencia e intensidad, debido a la resistencia de los participantes a responder dichas preguntas, lo que implica que esta posible relación con los hábitos y el estilo de vida debe considerarse en futuros estudios.

La principal limitación de la presente investigación fue el número de individuos evaluados, así como el tipo de muestreo (no probabilístico), pues este restringe la posibilidad de hacer inferencias precisas sobre la población del estado Sucre. Estas debilidades del estudio se debieron al costo económico y a las restricciones logísticas para hacer un muestreo aleatorio con un tamaño representativo. Sin embargo, el estudio constituyó una primera aproximación a la situación del problema planteado y permitió obtener resultados importantes (como el polimorfismo rs5742911 del gen *LDLR*), a pesar del tamaño de la muestra.

Por primera vez se caracterizaron en individuos venezolanos originarios del estado Sucre estos polimorfismos previamente publicados en la literatura científica, utilizando el criterio genético de los cuatro abuelos nacidos en el estado para seleccionar a los sujetos de la muestra, lo cual es de suma relevancia para garantizar la mayor homogeneidad genética posible. Es importante aumentar, en lo posible, el tamaño de la muestra y continuar analizando variantes genéticas involucradas en las principales vías metabólicas relacionadas con el aumento o disminución de

la grasa corporal, con el fin de complementar el conocimiento para el diagnóstico y el tratamiento de grupos específicos de riesgo.

### Agradecimientos

Agradecemos a todos los participantes del estudio, al personal del Banco de Sangre, del Laboratorio General y del Servicio de Nutrición y Dietética del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", ciudad de Cumaná, así como a los colaboradores voluntarios y pasantes de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, núcleo de Sucre. También, hacemos extensivo nuestro agradecimiento a todo el equipo que labora en el Laboratorio de Genética Humana del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún tipo de conflicto de intereses.

### Financiación

El financiamiento de este proyecto fue otorgado por el Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas.

### Referencias

1. **World Health Organization.** Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. WHO Technical Report Series 916. WHO/FAO Expert Consultation. Geneva: World Health Organization; 2003. p. 1-149.
2. **World Health Organization.** Global health risks: Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva: World Health Organization; 2009. p. 1-62.
3. **Friedman JM.** Obesity in the new millennium. *Nature*. 2000;404:632-4. <http://dx.doi.org/10.1038/35007504>
4. **Instituto Nacional de Nutrición.** Sobrepeso y obesidad en Venezuela (prevalencia y factores condicionantes). Colección Lecciones Institucionales. Instituto Nacional de Nutrición. Caracas: Fondo Editorial Gente de Maíz; 2013. p. 1-148.
5. **Warden CH, Fisler JS.** Obesity: From animal models to human genetics to practical applications. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2010;94:373-89. [http://dx.doi.org/10.1016/S1877-1173\(10\)94013-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1877-1173(10)94013-1)
6. **Urano T, Inoue S.** Recent genetic discoveries in osteoporosis, sarcopenia and obesity. *Endocr J*. 2015;62:475-84. <http://dx.doi.org/10.1507/endocrj. EJ15-0154>
7. **Yu Z, Han S, Cao X, Zhu C, Wang X, Guo X.** Genetic polymorphisms in adipokine genes and a systematic review and meta-analysis. *Obesity*. (Silver Spring). 2012;20:396-406. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2011.148>
8. **Kohan AB, Wang F, Lo CM, Liu M, Tso P.** ApoA-IV: Current and emerging roles in intestinal lipid metabolism, glucose homeostasis, and satiety. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2015;308:G472-81. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpgi.00098.2014>

9. Wang F, Kohan AB, Lo CM, Liu M, Howles P, Tso P. Apolipoprotein A-IV: A protein intimately involved in metabolism. *J Lipid Res.* 2015;56:1403-18. <http://dx.doi.org/10.1194/jlr.R052753>
10. Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, et al. The human obesity gene map: The 2004 update. *Obes Res.* 2005;13:381-490. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2005.50>
11. Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The human obesity gene map: The 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:529-644. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2006.71>
12. Li WD, Reed DR, Lee JH, Xu W, Kilker RL, Sodam BR, et al. Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet.* 1999;63:227-34. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1469-1809.1999.6330227.x>
13. Jiang Y, Wilk JB, Borecki I, Williamson S, DeStefano AL, Xu G, et al. Common variants in the 5' region of the leptin gene are associated with body mass index in men from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Am J Hum Genet.* 2004;75:220-30. <http://dx.doi.org/10.1086/422699>
14. Hart Sailors ML, Folsom AR, Ballantyne CM, Hoelscher DM, Jackson AS, Linda Kao WH, et al. Genetic variation and decreased risk for obesity in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes Obes Metab.* 2007;9:548-57. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1463-1326.2006.00637.x>
15. Mizuta E, Kokubo Y, Yamanaka I, Miyamoto Y, Okayama A, Yoshimasa Y, et al. Leptin gene and leptin receptor gene polymorphisms are associated with sweet preference and obesity. *Hypertens Res.* 2008;31:1069-77. <http://dx.doi.org/10.1291/hypres.31.1069>
16. Walsh S, Haddad CJ, Kostek MA, Angelopoulos TJ, Clarkson PM, Gordon PM, et al. Leptin and leptin receptor genetic variants associate with habitual physical activity and the arm body composition response to resistance training. *Gene.* 2012;510:66-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.08.020>
17. Lesseur C, Armstrong DA, Paquette AG, Koestler DC, Padbury JF, Marsit CJ. Tissue-specific leptin promoter DNA methylation is associated with maternal and infant perinatal factors. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;381:160-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2013.07.024>
18. Mattevi VS, Coimbra CE Jr, Santos RV, Salzano FM, Hutz MH. Association of the low-density lipoprotein receptor gene with obesity in Native American populations. *Hum Genet.* 2000;106:546-52. <http://dx.doi.org/10.1007/s004390000299>
19. Zee RYL, Schrader AP, Robinson BG, Griffiths LR, Morris BJ. Association of HincII RFLP of low density lipoprotein receptor gene with obesity in essential hypertensives. *Clin Genet.* 1995;47:118-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.1995.tb03942.x>
20. Menzel HJ, Boerwinkle E, Schrangl-Will S, Utermann G. Human apolipoprotein A-IV polymorphism: Frequency and effect on lipid and lipoprotein levels. *Hum Genet.* 1988;79:368-72.
21. von Eckardstein A, Funke H, Chirazi A, Chen-Haudenschild C, Schulte H, Schonfeld R, et al. Sex-specific effects of the glutamine/histidine polymorphism in apo A-IV on HDL metabolism. *Arterioscler Thromb.* 1994;14:1114-20. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.14.7.1114>
22. Wong WM, Hawe E, Li LK, Miller GJ, Nicaud V, Pennacchio LA, et al. Apolipoprotein AIV gene variant S347 is associated with increased risk of coronary heart disease and lower plasma apolipoprotein AIV levels. *Circ Res.* 2003;92:969-75. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000069688.94567.7A>
23. Dallongeville J, Delcroix AG, Wagner A, Ducimetière P, Ruidavets JB, Arveiler D, et al. The APOA4 Thr347->Ser347 polymorphism is not a major risk factor of obesity. *Obes Res.* 2005;13:2132-8. <http://dx.doi.org/10.1038/oby.2005.264>
24. Fisher RM, Burke H, Nicaud V, Ehnholm C, Humphries SE. Effect of variation in the apo A-IV gene on body mass index and fasting and postprandial lipids in the European Atherosclerosis Research Study II. *J Lipid Res.* 1999;40:287-94.
25. Lefevre M, Lovejoy JC, DeFelice SM, Keener JW, Bray GA, Ryan DH, et al. Common apolipoprotein A-IV variants are associated with differences in body mass index levels and percentage body fat. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24:945-53.
26. Ordovás JM, Schaefer EJ. Genetic determinants of plasma lipid response to dietary intervention: The role of the APOA1/C3/A4 gene cluster and the APOE gene. *Br J Nutr.* 2000;83:S127-S36. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114500001069>
27. Fiegenbaum M, Hutz MH. Further evidence for the association between obesity-related traits and the apolipoprotein A-IV gene. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27:484-90. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ijo.0802256>
28. Feitosa MF, An P, Ordovás JM, Ketkar S, Hopkins PN, Straka RJ, et al. Association of gene variants with lipid levels in response to fenofibrate is influenced by metabolic syndrome status. *Atherosclerosis.* 2011;215:435-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.011>
29. Rodríguez-Laralde A, Castro-de Guerra D, González-Coira M, Morales J. Frecuencia génica y porcentaje de mezcla en diferentes áreas geográficas de Venezuela, de acuerdo a los grupos Rh y ABO. *Interciencia.* 2001;26:8-12.
30. Vivenes-de Lugo M, Rodríguez-Laralde A, Castro-de Guerra D. Beta-globin gene cluster haplotypes as an evidence of African gene flow to the northeastern coast of Venezuela. *Am J Hum Biol.* 2003;15:29-37. <http://dx.doi.org/10.1002/ajhb.10120>
31. Vivenes-de Lugo M, Rodríguez-Laralde A, Guerrero B, Castro-de Guerra D. Ethnic/geographic variation of the val34Ieu polymorphism of coagulation factor XIII and its distribution in American admixed populations. *Internet J Biol Anthropol.* 2008;2. <http://dx.doi.org/10.5580/12bd>
32. Castro-de Guerra D, Figuera-Pérez C, Izaguirre MH, Arroyo-Barahona E, Rodríguez-Laralde A, Vivenes-de Lugo M. Gender differences in ancestral contribution and admixture in Venezuelan populations. *Hum Biol.* 2011;83:345-61. <http://dx.doi.org/10.3378/027.083.0302>



33. **Bauer J.** Análisis clínico. Métodos e interpretación. 9ª edición. Barcelona: Editorial Reverté; 1986. p. 1-1302.
34. **Lahiri DK, Nurnberger JI Jr.** A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991;19:5444. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/19.19.5444>
35. **Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al.** Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polimerase. *Science.* 1988;239:487-91. <http://dx.doi.org/10.1126/science.2448875>
36. **Brandt B, Greger V, Yandell D, Passarge E, Horsthemke B.** A simple and nonradioactive method for detecting the Rb1.20 DNA polymorphism in the retinoblastoma gene. *Am J Hum Genet.* 1992;51:1450-1.
37. **Weiner JS, Lourie JA.** *Practical Human Biology.* 2nd edition. London: Academic Press; 1981. p. 439.
38. **World Health Organization.** Obesity: Preventing and managing the global epidemic: Report of a WHO consultation on obesity. WHO technical report series, 894. Geneva: WHO; 2000. p. 1-252.
39. **Bray GA.** Classification and evaluation of the obesities. *Med Clin North Am.* 1989;73:161-84.
40. **Aronne LJ.** Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. *Obes Res.* 2002;10:105S-15.
41. **Valdéz R.** A simple model-based index of abdominal adiposity. *J Clin Epidemiol.* 1991;44:955-6. [http://dx.doi.org/10.1016/0895-4356\(91\)90059-l](http://dx.doi.org/10.1016/0895-4356(91)90059-l)
42. **Valdéz R, Seidell JC, Ahn YI, Weiss KM.** A new index of abdominal adiposity as an indicator of risk for cardiovascular disease. A cross-population study. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1993;17:77-82.
43. **Grundey SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, et al.** Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation.* 2004;110:227-39. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000133317.49796.0E>
44. **National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III).** Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation.* 2002;106:3143-421.
45. **Consenso Venezolano de Lípidos.** International Lipid Information Bureau. Capítulo Venezuela. Caracas: Park Davis; 2000. p. 1-39.
46. **Méndez-Castellano H, Méndez MC.** Sociedad y estratificación: método Graffar-Méndez-Castellano. Caracas: Editorial Fundacredesa; 1994. p. 1-206.
47. **IBM Corp.** Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp; 2012.
48. **Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF.** The genetics of human populations. New York: Dover Publications; 1999. p. 1-965.
49. **Reed TE, Schull WJ.** A general maximum likelihood method estimation program. *Am J Hum Genet.* 1968;20:579-80.
50. **Bland JM, Altman DG.** Multiple significance tests: The Bonferroni method. *BMJ.* 1995;310:170. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.310.6973.170>
51. **Balding DJ.** A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nat Rev Genet.* 2006;7:781-91. <http://dx.doi.org/10.1038/nrg1916>
52. **Karvonen MK, Pesonen U, Heinonen P, Laakso M, Rissanen A, Naukkarinen H, et al.** Identification of new sequence variants in the leptin gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3239-42.
53. **Lucantoni R, Ponti E, Berselli ME, Savia G, Minocci A, Calò G, et al.** The A19G polymorphism in the 5' untranslated region of the human obese gene does not affect leptin levels in severely obese patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3589-91. <http://dx.doi.org/10.1210/jcem.85.10.6860>
54. **Lee JD, Hsiao KM, Wang TC, Lee TH, Kuo YW, Huang YC, et al.** Mutual effect of rs688 and rs5925 in regulating low-density lipoprotein receptor splicing. *DNA Cell Biol.* 2014;33:869-75. <http://dx.doi.org/10.1089/dna.2014.2577>
55. **Medina MW, Gao F, Naidoo D, Rudel LL, Temel RE, McDaniel AL, et al.** Coordinately regulated alternative splicing of genes involved in cholesterol biosynthesis and uptake. *PLoS One.* 2011;6:e19420. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0019420>
56. **Zaiou M, Visvikis S, Gueguen R, Parra HJ, Fruchart JC, Siest G.** DNA polymorphisms of human apolipoprotein A-IV gene: Frequency and effects on lipid, lipoprotein and apolipoprotein levels in a French population. *Clin Genet.* 1994;46:248-54. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.1994.tb04235.x>
57. **Neel JV.** Diabetes mellitus: A 'thrifty' genotype rendered detrimental by 'progress'? *Am J Hum Genet.* 1962;14:353-62.
58. **Chacín M, Rojas J, Pineda C, Rodríguez D, Núñez-Pacheco M, Márquez-Gómez M, et al.** Predisposición humana a la obesidad, síndrome metabólico y diabetes: el genotipo ahorrador y la incorporación de los diabetogenes al genoma humano desde la Antropología Biológica. *Diabetes Internacional.* 2011;III:36-49.
59. **Mattevi VS, Zembrzusi VM, Hutz MH.** Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes.* 2002;26:1179-85. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ijo.0802067>
60. **Leitersdorf E, Hobbs HH.** Human LDL receptor gene: HincII polymorphism detected by gene amplification. *Nucleic Acids Res.* 1988;16:7215. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/16.14.7215>
61. **Ahn YI, Kamboh MI, Aston CE, Ferrell RE, Hamman RF.** Role of common genetic polymorphisms in the LDL receptor gene in affecting plasma cholesterol levels in the general population. *Arterioscler Thromb.* 1994;14:663-70. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.14.5.663>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Predicción de la sensibilidad a la warfarina con base en polimorfismos de los genes *VKORC1* y *CYP2C9* en pacientes colombianos

Ricardo A. Cifuentes<sup>1,2</sup>, Juan Murillo-Rojas<sup>1</sup>, Esperanza Avella-Vargas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo Insight, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La validación de los factores predictores de la sensibilidad a la warfarina es importante para evitar las hemorragias asociadas con la terapia anticoagulante. En los estudios previos hechos en Colombia con polimorfismos de los genes *VKORC1* y *CYP2C9*, se reportaban algoritmos con rendimientos diferentes para explicar la variación de las dosis, pero no se evaluaba la predicción de la sensibilidad a la warfarina.

**Objetivo.** Determinar la exactitud del análisis farmacogenético de los polimorfismos \*2 y \*3 en el gen *CYP2C9* y 1639G>A en el gen *VKORC1* para predecir la sensibilidad a la warfarina en pacientes del Hospital Militar Central, un centro de referencia que atiende pacientes de diferentes lugares de Colombia.

**Materiales y métodos.** Se recopilaron los datos demográficos y clínicos de 130 pacientes que habían recibido una dosis estable de warfarina durante más de dos meses. Se obtuvieron sus genotipos mediante un análisis de curvas de fusión, y, después de verificar el equilibrio de Hardy-Weinberg de los polimorfismos, se hizo un análisis estadístico con enfoque multivariado y predictivo.

**Resultados.** Se construyó un modelo farmacogenético que explicó el 52,8 % de la variación de la dosis ( $p<0,001$ ), solo 4 % por encima del rendimiento obtenido con los mismos datos usando el algoritmo del *International Warfarin Pharmacogenetics Consortium*. El modelo predictivo de sensibilidad logró 77,8 % de exactitud e incluyó como factores la edad ( $p=0,003$ ), los polimorfismos \*2 y \*3 ( $p=0,002$ ) y el polimorfismo 1639G>A ( $p<0,001$ ).

**Conclusiones.** Estos resultados en una población mestiza colombiana respaldan la validez de la predicción de la sensibilidad a la warfarina basada en los polimorfismos de los genes *VKORC1* y *CYP2C9*.

**Palabras clave:** farmacogenética, warfarina, algoritmos, pruebas genéticas, validez de las pruebas, origen étnico y salud.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2795>

### Prediction of sensitivity to warfarin based on *VKORC1* and *CYP2C9* polymorphisms in patients from different places in Colombia

**Introduction:** In the search to prevent hemorrhages associated with anticoagulant therapy, a major goal is to validate predictors of sensitivity to warfarin. However, previous studies in Colombia that included polymorphisms in the *VKORC1* and *CYP2C9* genes as predictors reported different algorithm performances to explain dose variations, and did not evaluate the prediction of sensitivity to warfarin.

**Objective:** To determine the accuracy of the pharmacogenetic analysis, which includes the *CYP2C9* \*2 and \*3 and *VKORC1* 1639G>A polymorphisms in predicting patients' sensitivity to warfarin at the *Hospital Militar Central*, a reference center for patients born in different parts of Colombia.

**Materials and methods:** Demographic and clinical data were obtained from 130 patients with stable doses of warfarin for more than two months. Next, their genotypes were obtained through a melting curve analysis. After verifying the Hardy-Weinberg equilibrium of the genotypes from the polymorphisms, a statistical analysis was done, which included multivariate and predictive approaches.

**Results:** A pharmacogenetic model that explained 52.8% of dose variation ( $p<0.001$ ) was built, which was only 4% above the performance resulting from the same data using the *International Warfarin*

#### Contribución de los autores:

Ricardo A. Cifuentes: concepción del proyecto, genotipificación y análisis de datos

Todos los autores participaron en la captación de los pacientes, la recolección de datos, la interpretación de los resultados y la escritura del manuscrito.

Pharmacogenetics Consortium algorithm. The model predicting the sensitivity achieved an accuracy of 77.8% and included age ( $p=0.003$ ), polymorphisms \*2 and \*3 ( $p=0.002$ ) and polymorphism 1639G>A ( $p<0.001$ ) as predictors.

**Conclusions:** These results in a mixed population support the prediction of sensitivity to warfarin based on polymorphisms in *VKORC1* and *CYP2C9* as a valid approach in Colombian patients.

**Key words:** Pharmacogenetics, warfarin, algorithms, genetic testing, validity of tests, ethnicity and health.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2795>

La warfarina es el anticoagulante más extensamente empleado para la prevención de episodios de tromboembolia (1,2). Actúa disminuyendo la activación de los factores de coagulación dependientes de la vitamina K al inhibir su enzima epóxido reductasa (3). Se caracteriza por una amplia variación en la respuesta individual y por tener un índice terapéutico estrecho que implica un riesgo significativo de tromboembolia, si las dosis son inferiores a la adecuada, o de sangrado, en caso de sobredosis (4). En consecuencia, la dosis que puede generar efectos adversos como los mencionados es cercana a la dosis terapéutica efectiva, la cual se establece al obtener una razón normalizada internacional (*International Normalized Ratio*, INR) entre dos y tres (2).

El proceso de degradación de los factores de coagulación activados con la warfarina toma de cinco a siete días, por lo que cuando se requiere un efecto anticoagulante rápido se administra también heparina durante cuatro o más días (5). En contraste, el control del alto riesgo de hemorragia debido a la anticoagulación excesiva constituye un reto, y se ha reportado sangrado abundante en, aproximadamente, 12 % de los pacientes tratados con warfarina (6) y una frecuencia de sangrado con consecuencias fatales en 10 % de ellos (7). Los efectos de la hemorragia cerebral asociada con el uso de anticoagulantes son devastadores, pues ocasionan la muerte en la mitad de los pacientes y discapacidad permanente en la mayoría de los que sobreviven (8).

Dado que al administrar el tratamiento con una dosis fija de warfarina es difícil predecir el nivel de anticoagulación, se ha buscado optimizar su manejo (9), para lo cual se han propuesto algoritmos basados en parámetros clínicos como la edad, el peso y la talla, pero estos son inexactos y explican

únicamente de 12 a 22 % de la variación de la dosis (10). Por este motivo, se ha recurrido a la evaluación de factores genéticos, principalmente en los genes que codifican la isoforma 2C9 del citocromo P450 en el gen *CYP2C9* y la epóxido reductasa de la vitamina K en el gen *VKORC1*, los cuales afectan las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de la warfarina (11).

El gen *CYP2C9* tiene más de 30 variantes alélicas. Los individuos homocigóticos para el alelo de referencia (*CYP2C9\*1*) tienen un "metabolismo normal" de la S-warfarina, la forma más potente de este medicamento. Los dos alelos más frecuentes, el \*2 (polimorfismo rs1799853) y el \*3 (rs1057910), tienen una actividad enzimática reducida para la excreción del medicamento, lo que conlleva una disminución de alrededor del 30 y 80 %, respectivamente (2). Por otra parte, la enzima codificada por el *VKORC1* cataliza la reducción del epóxido de la vitamina K a vitamina K, paso necesario para activar los factores de coagulación. Su polimorfismo -1639G>A (rs9923231) se asocia con la sensibilidad a la warfarina y la disminución de la cantidad requerida (2). Se ha observado una asociación preferencial con la cromatina activa del alelo G en la posición -1639 del *VKORC1*, mientras que el alelo menor A en esta misma posición genera un sitio de unión *E-box* de tipo supresor, lo que resulta en una menor síntesis de ARN (12).

En este contexto, la *US Food and Drug Administration* (FDA) aprobó la inclusión en el inserto del medicamento de un cuadro de dosificación que recomienda tener en cuenta los polimorfismos -1639G>A en el gen *VKORC1* y \*2 y \*3 en el gen *CYP2C9*, para fijar la dosis inicial (13). También, se han propuesto algoritmos farmacogenéticos que tienen en cuenta tanto los polimorfismos genéticos como las variables clínicas para predecir la dosis, los cuales parecen tener una mayor exactitud que las tablas (14). Estos algoritmos explican alrededor de 50 % de la variación de la dosis (10,14), con mayor beneficio en los extremos de la dosificación, es decir, los pacientes sensibles, que requieren dosis de 21 mg por semana o menos, y los resistentes, que requieren 49 mg por semana o más (15).

Correspondencia:

Ricardo Antonio Cifuentes, Transversal 3 N° 49-00, Facultad de Medicina, Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 650 0000, extensión 2033

[ricardo.cifuentes@unimilitar.edu.co](mailto:ricardo.cifuentes@unimilitar.edu.co)

Recibido: 13/04/15; aceptado: 31/07/15

Sin embargo, algoritmos como el del *International Warfarin Pharmaceutical Consensus*, IWPC, no siempre predicen con exactitud, a pesar de haberse formulado con base en información de diversas poblaciones de Asia, Europa, Norteamérica y Brasil en Latinoamérica (15). Un ejemplo de ello fue la menor exactitud de predicción del algoritmo del IWPC en una muestra de pacientes egipcios (16). Incluso en grupos étnicos como los han de China, ha sido necesario incluir otras variables predictoras como el gen *CYP4F2* (17). La situación se complica en poblaciones muy mezcladas, como la latinoamericana, en la cual la contribución relativa de africanos, amerindios y europeos varía de acuerdo con circunstancias históricas (18). No parece haber, entonces, una única fórmula idónea, por lo que deben considerarse los factores locales a la hora de escoger el algoritmo farmacogenético más apropiado (19). En dos estudios en Colombia, por ejemplo, se han reportado algoritmos que explican un porcentaje diferente de la variación de la dosis: 38,2 % (20) y 47,4 % (21), y cuyo rendimiento predictivo no se evaluó en una muestra diferente de aquella en la que fueron generados.

Dada la creciente necesidad de mejorar la detección de pacientes que requieren dosis bajas de warfarina antes de iniciar su administración, y de minimizar la incidencia de efectos adversos serios como las hemorragias (22) y sus graves consecuencias individuales y socioeconómicas, y considerando, además, la falta de un análisis predictivo y de las diferencias en los porcentajes de variación de la dosis, el propósito del presente estudio fue determinar la exactitud de la predicción de la sensibilidad a la warfarina en pacientes colombianos que asistían a la consulta externa del Hospital Militar Central, el cual es un centro de referencia nacional que atiende pacientes nacidos en diferentes lugares del país.

## Materiales y métodos

### Pacientes

Con la aplicación Stat Calc de EpiInfo se determinó una muestra de 130 pacientes con poder suficiente para detectar la asociación entre el gen *VKORC1* y la sensibilidad a la warfarina. Se tuvo en cuenta un nivel de confianza de 95 %, un poder de 80 %, y con base en datos previos sobre la población colombiana (21), una razón de 0,58 entre expuestos y no expuestos a genotipos con mutación en la posición -1639 del *VKORC1*, la cual predispone a la sensibilidad (prevalencia de 64 %), y una diferencia en el porcentaje de la varianza de

la dosis de warfarina de 22,8 % en los casos en los que se presentaba un reemplazo de guanina por adenina en la posición -1639 del *VKORC1*.

Una vez verificada la ausencia de criterios de exclusión (menor de 18 años, embarazo, enfermedad renal, hepática o tiroidea causante de descompensación, síndrome de malabsorción intestinal, alcoholismo o cáncer), y una vez firmado el consentimiento informado, se incluyeron en orden consecutivo los pacientes que asistían al servicio de consulta externa del Hospital Militar Central en Bogotá y que presentaban valores de INR que permitían una dosificación estable durante más de dos meses con el mismo tipo de warfarina (de marca o genérica). El consentimiento informado fue aprobado previamente por el Comité de Ética independiente del Hospital Militar Central.

### Recolección de datos

Los pacientes fueron entrevistados durante su visita al servicio de consulta externa del Hospital Militar Central para obtener sus datos demográficos y clínicos. El registro de cada paciente incluía la edad, el sexo, el origen, la dosis y el tipo de warfarina (genérica o de marca), los valores de INR, la razón para el uso de la warfarina, las enfermedades concomitantes, otros medicamentos prescritos, y el peso y la talla, datos estos que fueron verificados revisando la historia clínica. Estos registros se almacenaron en una base de datos elaborada en MySQL, lo que permitió el anonimato del paciente al asignar automáticamente un número a cada uno.

### Genotipificación

Se obtuvo el ADN a partir de 5 ml de sangre completa de cada paciente mediante el método de extracción por columnas High Pure PCR Template Preparation Kit® de Roche. Luego se detectaron el polimorfismo -1639G>A en el gen *VKORC1* y los polimorfismos 430C>T (\*2) y 1075A>C (\*3) en el gen *CYP2C9* mediante PCR en tiempo real, utilizando el sistema fluorescente LightMix® de Roche, como se ha descrito previamente (23,24). En resumen, durante la amplificación de fragmentos específicos de 289 pares de bases para el *VKORC1* y de 374 y 180 pares de bases para el *CYP2C9*, se logró la hibridación de las sondas fluorogénicas. Los polimorfismos se detectaron como un cambio en la temperatura de fusión de la sonda hibridada. Posteriormente, los genotipos obtenidos se evaluaron mediante el análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg utilizando



para ello la prueba de ji al cuadrado. Los datos de la genotipificación se almacenaron bajo el número generado automáticamente por la base de datos.

### Análisis estadístico

Se generó un archivo de cada paciente (sin los datos de identificación) y se hizo su análisis con el programa estadístico SPSS®. Para la descripción general de las variables demográficas, clínicas y de los polimorfismos genéticos, se utilizaron frecuencias y porcentajes en el caso de variables cualitativas, en tanto que, para las variables cuantitativas, se emplearon la media, la mediana y los percentiles 25 a 75.

Se evaluó en la muestra de pacientes la posibilidad de encontrar una asociación entre la sensibilidad a la warfarina (dosis semanal de 21 mg o menos), y la presencia de genotipos con la mutación -1639G>A en el *VKORC1* mediante la obtención de la razón de momios (*odds ratio*, OR) con un intervalo de confianza de 95 % (IC<sub>95%</sub>). Luego, se evaluó la asociación de las variables cualitativas dicotómicas con la dosis semanal de warfarina mediante la prueba t de Student para muestras independientes.

En el caso de las variables cualitativas con más de dos valores, se utilizó el ANOVA de un factor y la prueba de correlación coincidente de Bonferroni. Para la evaluación de la asociación entre las variables cuantitativas y la dosis semanal de warfarina, se hizo un análisis de regresión lineal simple. Para el análisis multivariado de los factores que influyen sobre la dosis de warfarina, se generó un modelo explicativo mediante una regresión lineal múltiple con el método de pasos sucesivos, y se validó el modelo obtenido mediante *bootstrap*.

Por último, se hizo un análisis predictivo de la sensibilidad mediante un análisis 'discriminante' según se ha descrito previamente (25). En resumen, inicialmente se seleccionaron las variables mediante la función *CfsSubsetEval* del programa Weka® (26), la cual escoge el grupo de mayor correlación con sensibilidad a la warfarina, pero con la más baja correlación entre ellas. Con las variables seleccionadas se utilizó la función de análisis 'discriminante', método de inclusión por pasos, del programa estadístico SPSS®, y así se construyó un modelo predictivo con el 70 % de los datos y se escogió aquel con mayor exactitud de acuerdo con la validación cruzada del tipo de "dejar-uno-afuera". El desempeño del modelo se evaluó

en el 30 % restante de los datos para determinar su exactitud de predicción, sensibilidad, especificidad, y valor predictivo positivo y negativo.

### Resultados

La mayoría de los pacientes eran oriundos de los departamentos de la región Andina de Colombia (cuadro 1). Su edad oscilaba entre los 28 y los 88 años, y 75 % era mayor de 58 años. El índice de masa corporal (IMC) fue indicativo de sobrepeso y 40 % de los pacientes correspondían a mujeres. El porcentaje de warfarina de origen genérico era similar al del medicamento de marca original, y la dosis era de alrededor de 25 mg por semana. El motivo más frecuente para la medicación fue la prótesis valvular cardiaca, seguida de trombosis venosa y fibrilación auricular. Además, los pacientes presentaron un alto porcentaje de enfermedades cardiovasculares y endocrino-metabólicas concomitantes (cuadro 2). Se observó más de una indicación de warfarina como en el caso de pacientes con trombosis venosa profunda y tromboembolia pulmonar; en algunos se presentó más de una enfermedad concomitante.

Algunas variables demográficas y clínicas mostraron una asociación estadísticamente significativa con la dosis semanal de warfarina. Se observó la necesidad de una mayor dosis de warfarina cuanto mayor fuera la talla ( $\beta=0,307$ ;  $R^2=0,047$ ;  $p<0,01$ ) y el peso ( $\beta=0,156$ ;  $R^2=0,025$ ;  $p=0,04$ ). Por el contrario, a mayor edad se requirió una menor dosis de warfarina ( $\beta=-0,29$ ;  $R^2=0,099$ ;  $p<0,01$ ). También, se observó que se requería una menor dosis en pacientes medicados debido a fibrilación auricular (dosis promedio de 22,2 Vs. 29,59 mg/semana;  $p=0,01$ ).

No hubo una asociación estadísticamente significativa entre la dosis de warfarina y los medicamentos administrados simultáneamente (cuadro 3). De

**Cuadro 1.** Pacientes incluidos en el estudio según lugar de nacimiento

Origen	n	%
Boyacá	29	22,3
Cundinamarca	28	21,5
Bogotá	26	20,0
Tolima	12	9,2
Santander	11	8,5
Huila	6	4,6
Antioquia	3	2,3
Caldas	3	2,3
Otros <sup>a</sup>	12	9,2

<sup>a</sup> Norte de Santander, Quindío, Cauca, Caquetá, Nariño, Bolívar y Magdalena aportaron cada uno menos de tres pacientes al estudio.

**Cuadro 2.** Características demográficas y clínicas de los pacientes

Variable	Valor <sup>a</sup> (n=130 pacientes)
Edad (años)	66,2-70 (58-76,2)
Hombre/mujer	77 (59,2)/53 (40,8)
Peso (kg)	72,5-72 (62-82)
Talla (cm)	162,5-162 (155-170)
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	27,4-27,1 (24,6-29,1)
Tabaquismo actual	2 (1,5)
Warfarina	
Dosis (mg/semana)	28,4-25 (17,5-35)
De marca/genérica	63 (48,46)/67 (51,54)
<i>International Normalized Ratio</i>	2,53-2,47 (2,2-2,7)
Indicación de medicación con warfarina (%)	
Prótesis valvular	48 (36,9)
Trombosis venosa	41 (31,5)
Fibrilación auricular	20 (15,4)
Embolia pulmonar	15 (11,5)
Accidente cerebrovascular trombótico	15 (11,5)
Enfermedad coronaria	5 (3,8)
Síndrome antifosfolípido	3 (2,3)
Dilatación ventricular	2 (1,5)
Otra arritmia	2 (1,5)
Otra razón de uso	4 (3,1)
Enfermedades concomitantes (%)	
Hipertensión	70 (53,8)
Dislipidemia	54 (41,5)
Cardiopatía isquémica	31 (23,8)
Arritmia	26 (20)
Diabetes mellitus	24 (18,5)
Hipotiroidismo	24 (18,5)
Cardiopatía congestiva	16 (12,3)
EPOC	16 (12,3)
Osteoartritis	12 (9,2)
Otra enfermedad concomitante	64 (49,2)

<sup>a</sup> Las variables cuantitativas se expresan como media, mediana y percentiles 25 a 75 entre paréntesis, y las cualitativas, como número de pacientes y porcentaje entre paréntesis.

EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica

estos, los más frecuentemente administrados fueron las estatinas, cuya acción altera la concentración de fármacos como la warfarina (27). La mayoría de los pacientes tomaban atorvastatina (no se presentan los datos), con la cual no se ha documentado el típico efecto potenciador de otras estatinas como la rosuvastatina, la lovastatina y la fluvastatina (28,29). Por otra parte, se observó que se requería una menor dosis de warfarina con la administración simultánea de amiodarona, medicamento inhibidor de su destrucción, pero dicha asociación no alcanzó la significancia estadística (promedio semanal de 25,2 mg Vs. 28,3 mg; p=0,4).

Con respecto a los genotipos estudiados, la distribución de su frecuencia no difirió de lo esperado según el equilibrio de Hardy-Weinberg,

como se apreció con el resultado de la prueba de ji al cuadrado (cuadro 4), lo que permitió el análisis de los tres polimorfismos propuestos. Además, la muestra de 130 pacientes fue suficiente para detectar la sensibilidad a la warfarina asociada a los genotipos con la mutación -1639G>A en *VKORC1* (OR=8,04; IC<sub>95%</sub> 1,8-35,8).

El análisis de la asociación de los genotipos con la dosis de warfarina evidenció que los pacientes homocigóticos para el alelo AA en la posición -1639 del *VKORC1* necesitaban una menor dosis promedio (19,3 mg/semana) que los heterocigóticos GA (31,3 mg/semana; p<0,01), y estos, a su vez, una menor dosis que los homocigóticos para el alelo silvestre GG (37,5 mg/semana; p=0,018).

Con respecto al gen *CYP2C9*, los pacientes con el genotipo heterocigótico CA (\*1\*3) en la posición 1075 necesitaron una menor dosis promedio de warfarina que quienes tenían el genotipo silvestre AA (21,1 Vs. 29,2 mg/semana, p=0,019); en la muestra no hubo pacientes con genotipo doble mutado CC (\*3\*3). En el caso del polimorfismo en la posición 430 del *CYP2C9*, solo un paciente era homocigótico TT (\*2\*2) para el alelo mutado, y aquellos heterocigóticos CT (\*1\*2) no requirieron una dosis significativamente diferente a la de los pacientes con el genotipo silvestre CC (27,2 Vs.

**Cuadro 3.** Asociación de los medicamentos administrados simultáneamente con la dosis de warfarina

Medicamento	n	%	Warfarina <sup>a</sup>	p <sup>b</sup>
Estatinas	64	49,2	27,3	0,3
Losartán-valsartán	47	36,2	28,0	0,7
Metoprolol	41	31,5	26,0	0,1
Suplemento de vitaminas	38	29,2	26,1	0,3
Carvedilol	33	25,4	27,7	0,7
Tiroxina	30	23,1	28,1	0,8
Omeprazol-lanzoprazol	30	23,1	26,7	0,3
Antiinflamatorios no esteroideos	22	16,9	25,7	0,1
Enalapril-fosinopril	21	16,2	28,1	0,9
Metformina	18	13,8	28,6	1,0
Medicación herbal	13	10,0	30,6	0,5
Amidarona	10	7,7	25,2	0,4
Digoxina	10	7,7	23,9	0,2
Insulina	9	6,9	24,2	0,3
Ácido acetilsalicílico, 100 mg	8	6,2	33,8	0,5
Ranitidina	6	4,6	25,0	0,1
Verapamilo	6	4,6	23,7	0,3
Inductor enzimático <sup>c</sup>	5	3,8	24,5	0,5

<sup>a</sup> Dosis media

<sup>b</sup> Para la diferencia con la dosis media de warfarina en ausencia del medicamento

<sup>c</sup> Carbamacepina=3, fluoxetina=1, macrólidos=1

**Cuadro 4.** Frecuencias genotípicas, alélicas y equilibrio de Hardy-Weinberg de los polimorfismos estudiados en *VKORC1* y *CYP2C9*

Gen	Genotipo observado	n (%)	Alelo	n	HWE <sup>a</sup> $\chi^2$	p
<i>VKORC1</i> -1639G>A	GG	28 (21,5)	G	112	1,923	0,166
	GA	56 (43,1)	A	148		
	AA	46 (35,4)				
<i>CYP2C9</i> 430C>T <sup>b</sup> (*2)	CC	109 (84,5)	C (*1)	237	0,029	0,864
	CT	19 (14,7)	T (*2)	21		
	TT	1 (0,8)				
<i>CYP2C9</i> 1075A>C (*3)	AA	117 (90)	A (*1)	247	0,360	0,548
	CA	13 (10)	C (*3)	13		
	CC	0 (0)				

<sup>a</sup> HWE: análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg

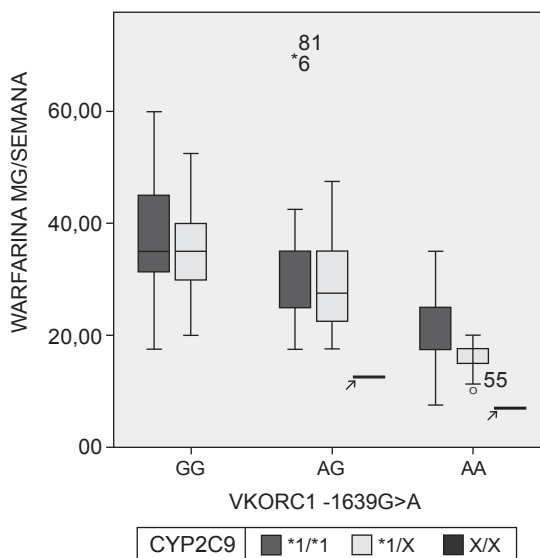
<sup>b</sup> Un alelo amplificó en forma inespecífica.

28,6 mg/semana;  $p=0,632$ ). Sin embargo, la presencia simultánea de mutación en la posición 430 (\*2) y en la 1075 (\*3) del *CYP2C9*, se asoció a una menor dosis promedio de warfarina en comparación con la presencia de una sola mutación (9,7 Vs. 27,2 mg por semana;  $p=0,04$ ).

Al analizar los dos genes en conjunto, se apreció que la dosis de warfarina disminuyó a medida que aumentaba el número de mutaciones en el *VKORC1*, y que los pacientes que tenían mutaciones en las dos posiciones analizadas del *CYP2C9* (\*2 y \*3) simultáneamente, requerían las menores dosis. Igualmente, hubo una tendencia a menores dosis en presencia de mutación en una de las dos posiciones del *CYP2C9* además de la mutación en la posición -1639 del *VKORC1*, especialmente en el caso del genotipo homocigótico mutado AA (figura 1).

Se observaron, igualmente, algunos casos extremos (*outliers*), que evidenciaron que los polimorfismos no explican la totalidad de la variación en la dosis. Hubo dos individuos que recibían una dosis alta de 70 mg a la semana de warfarina y presentaban los alelos silvestres en las dos posiciones en el *CYP2C9*, pero una mutación en el *VKORC1* (señalados con asterisco en el figura 1). Se trataba de pacientes con edades por debajo del promedio del grupo estudiado, sin medicación concomitante inductora o inhibidora del procesamiento de la warfarina, uno con trombosis venosa por hipercoagulabilidad de base y otro con una prótesis valvular cardíaca.

El análisis multivariado permitió obtener un modelo que explicaba 52,8 % de la variación de la dosis ( $R^2=0,528$ ;  $p<0,001$ ). Como variable dependiente



**Figura 1.** Relación de la dosis semanal de warfarina con los genotipos de *VKORC1* (AA: homocigótico mutado, GA: heterocigótico, GG: homocigótico silvestre) y de los genotipos de *CYP2C9* (\*1/\*1: no mutado, \*1/X: presencia de un polimorfismo \*1 o \*2, X/X: presencia de dos polimorfismos \*1, \*2 o \*1 y \*2) en cuanto a la combinación de genotipos de *VKORC1* y *CYP2C9*. Las flechas indican los pacientes con dos mutaciones en *CYP2C9* y una o dos mutaciones concomitantes en *VKORC1*.

se tomó la raíz cuadrada de la dosis, pues se ajustaba mejor que la dosis no transformada a la distribución normal. Como variables independientes, la trombosis venosa como indicación y el peso aumentaban la dosis de warfarina, mientras que otras, como la edad en años y los polimorfismos en los genes *VKORC1* y *CYP2C9*, la disminuían (el *bootstrap* de 1.000 replicaciones ratificó la significancia estadística de los coeficientes obtenidos) (cuadro 5). Las variables de talla y

fibrilación auricular no fueron tenidas en cuenta por el modelo, pues en conjunto no influían de forma significativa sobre la dosis de warfarina, aunque sí lo hacían consideradas individualmente.

En la comparación con el algoritmo que explicaba el mayor porcentaje de la variación de la dosis en Colombia (21) y con la predicción del IWPC (obtenida mediante validación cruzada y evaluada con datos no utilizados para generar el algoritmo) (15), el modelo incluyó también las variables de edad y de los polimorfismos en los genes *VKORC1* y *CYP2C9*, pero no las variables de inductor enzimático, inhibidor enzimático y talla (esta última solo presente en el algoritmo del IWPC). La raza es una variable incluida por el IWPC, pero no se calificó en la presente investigación debido a la alta posibilidad de error por tratarse de una población tan mezclada. Se evaluó la capacidad de predicción del algoritmo del IWPC comparando las dosis calculadas con las reales. Se encontró que, a pesar de haber sido desarrollado para otras poblaciones, en la muestra de pacientes de este estudio el algoritmo del IWPC predijo un valor solo cuatro puntos porcentuales por debajo del máximo obtenido mediante el modelo explicativo con mayor rendimiento ( $R^2=0,48$ ;  $p<0,001$ ) (figura 2).

Por último, se generó un modelo predictivo de sensibilidad a la warfarina con una exactitud de predicción de 77,8 %, que incluyó tres variables: la edad ( $p=0,003$ ), los polimorfismos \*2 y \*3 del *CYP2C9* ( $p=0,002$ ), y el polimorfismo 1639G>A en el *VKORC1* ( $p<0,001$ ). El modelo comprendió dos algoritmos: sensible =  $0,555$ , edad +  $8,839$ , *VKORC1* +  $6,154$ , *CYP2C9* -  $35,052$ ; y no sensible =  $0,468$ , edad +  $5,942$ , *VKORC1* +  $3,457$ , *CYP2C9* -  $21,447$ .

Cada sujeto se asignó al grupo para el cual obtuvo un mayor puntaje. La edad se midió en años, y se asignó un puntaje según el genotipo del *VKORC1* (AA=3, GA=2, GG=1) y un puntaje para cada una de las combinaciones de mutaciones en el *CYP2C9*

(0=no mutación; 1=una mutación en \*2 o en \*3; y 2=mutaciones en las dos posiciones, \*2 y \*3). De acuerdo con el valor de sensibilidad obtenido con este algoritmo, 62,5 % de los pacientes sensibles que recibiría la dosis estándar se beneficiaría de una dosis menor, con lo que disminuiría el riesgo de un mayor efecto adverso serio, es decir, la hemorragia (cuadro 6).

## Discusión

En el presente estudio se encontró que en pacientes nacidos en diversos lugares del país, principalmente en la región Andina, el análisis farmacogenético basado en los polimorfismos 430C>T, 1075A>C en el gen *CYP2C9* y -1639G>A en el *VKORC1*, permitió explicar un porcentaje de la variación en la dosis de warfarina similar al encontrado con el IWPC en poblaciones de cinco continentes, con una exactitud de predicción de la sensibilidad a este medicamento de 77,8 %.

La presente investigación respalda la aplicabilidad del análisis farmacogenético para el manejo de la warfarina en un gran porcentaje de la población colombiana. La región Andina se caracteriza por el predominio de individuos caucásicos mestizos (30), que según las estimaciones corresponden a 85,9 % de los habitantes de Colombia (31). Por otra parte, a pesar de pequeñas diferencias, el porcentaje de genotipos con el polimorfismo en forma heterocigótica u homocigótica en la posición -1639 del *VKORC1*, fue similar al publicado en estudios llevados a cabo en población colombiana de Bogotá, Risaralda (21), y Antioquia (20). Lo mismo se observó con los polimorfismos en el gen *CYP2C9*. Cabe mencionar que estas frecuencias fueron también similares a las reportadas en el estudio del IWPC (15).

Considerando que el inicio de la medicación con warfarina se asocia con respuestas muy variables según los individuos, y que pueden producirse

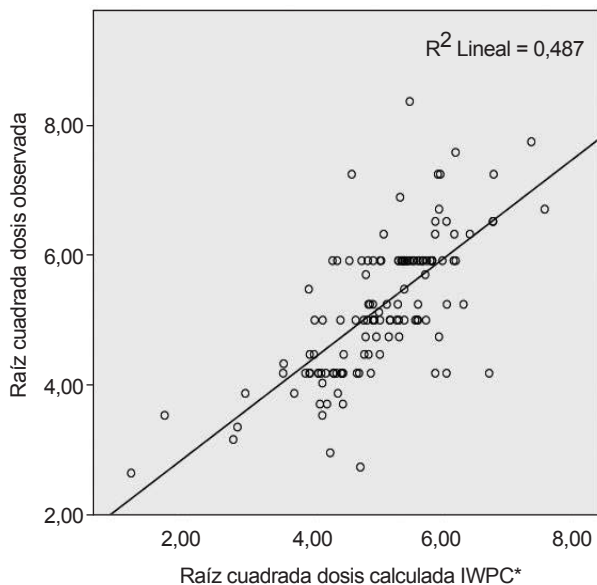
**Cuadro 5.** Modelo de regresión lineal múltiple y *bootstrap* para la validación de coeficientes

Variables	Modelo		Bootstrap (n=1.000)			
	B	p	Sesgo	Error estándar	p (bilateral)	IC <sub>95%</sub>
<i>VKORC1</i> (genotipo) <sup>a</sup>	-0,881	,000	0,005	0,092	0,001	-1,051 -0,702
<i>CYP2C9</i> (genotipo) <sup>b</sup>	-0,470	,001	0,004	0,136	0,002	-0,694 -0,176
Trombosis venosa	0,415	,005	-0,001	0,149	0,009	0,114 0,710
Edad (años)	-0,023	,000	0,000	0,005	0,001	-0,033 -0,014
Peso (kg)	0,012	,012	0,000	0,005	0,010	0,003 0,022
Constante	7,696	,000	-0,007	0,477	0,001	6,760 8,687

<sup>a</sup> AA=3, GA=2, GG=1

<sup>b</sup> No mutación=0, una mutación en \*2 o en \*3=1, y mutaciones en las dos posiciones \*2 y \*3=2





**Figura 2.** Correlación de la dosis de warfarina observada con la dosis calculada mediante el algoritmo farmacogenético del IWPC  
\*IWPC: *International Warfarin Pharmacogenetic Consortium*

**Cuadro 6.** Evaluación de la predicción de la sensibilidad a la warfarina

Sensible	Pronóstico		Total	
	Sí	No		
Casos seleccionados				
Original	Sí	23	2	25
	No	8	51	59
Validación cruzada	Sí	23	2	25
	No	10	49	59
Casos no seleccionados				
	Sí	10	6	16
	No	4	25	29

- Exactitud de la predicción en casos no seleccionados: 77,8 %
- Sensibilidad en casos no seleccionados: 62,5 %
- Especificidad en casos no seleccionados: 86,2 %
- Valor predictivo positivo en casos no seleccionados: 71,4 %
- Valor predictivo negativo en casos no seleccionados: 80,6 %

efectos adversos (32), en la presente investigación se confirmó la validez del algoritmo del IWPC para ajustar la dosis de warfarina en pacientes colombianos. Debe recordarse que el algoritmo del IWPC demostró un mejor desempeño en los extremos de la dosificación: sensibilidad o resistencia (15). Sin embargo, el hecho de que explica apenas la mitad de la variación de la dosis de warfarina, aproximadamente, deja un amplio margen de error, por lo que deberá considerarse la inexactitud si se decide usar el genotipo para ajustar la dosis cuando comienza la administración de warfarina.

En estas circunstancias, el enfoque encaminado a detectar pacientes sensibles al medicamento, permitiría un manejo más adecuado, con la consecuente disminución del riesgo de hemorragia en 62,5 % de ellos, los cuales, de otra manera, recibirían una dosis estándar del medicamento. No obstante, teniendo en cuenta que el valor predictivo positivo alcanzó 71,4 % (cuadro 6), en la predicción de la sensibilidad deben considerarse medidas como el uso simultáneo de anticoagulantes de otro tipo, como la heparina, al iniciar el tratamiento con dosis bajas. Por otra parte, dado el valor predictivo negativo de 80,6 % (cuadro 6), cuando la prueba determina que no hay sensibilidad, se justifica un seguimiento estricto de la INR al comienzo del tratamiento.

Debe mencionarse que el algoritmo obtenido para predecir la sensibilidad a la warfarina coincidió con el de publicaciones previas en el sentido de que, a mayor edad o mayor número de mutaciones en el *VKORC1* o el *CYP2C9*, mayor es la probabilidad de encontrar sensibilidad. Un estudio similar en una cohorte de 4.272 pacientes, cuyo objetivo era minimizar la incidencia de sangrado, identificó las mismas características asociadas a la sensibilidad a la warfarina, además del uso de amiodarona (22).

Debe recordarse que en esta investigación la amiodarona se asoció con menores dosis de warfarina, pero sin lograr niveles significativos. La muestra analizada, diseñada para detectar la asociación entre la sensibilidad y los genotipos del *VKORC1*, parece tener poco poder para detectar asociaciones significativas entre otros medicamentos administrados y la dosis de warfarina. Además, el número mucho mayor de prescripciones que de pacientes evidenció el típico uso de múltiples medicamentos en estos casos y, en algunos, la prescripción simultánea de inductores de la destrucción de la warfarina, como la carbamacepina, y de potenciadores de su acción, como la propafenona (33), lo que hace más difícil la detección del efecto específico de algunos fármacos.

Con este panorama, a pesar de que el *VKORC1* se considera el principal modulador genético de las diferencias étnicas en la reacción a la warfarina, y se conoce su utilidad para explicar la reacción a este medicamento en pacientes con diferentes ancestros (34,35), no debe descartarse la posibilidad de mejorar la predicción teniendo en cuenta aspectos específicos de cada población.

Reportes recientes indican que la utilidad de los algoritmos farmacogenéticos podría ser mayor si se logra un mejor control de las variables clínicas. En sujetos sanos, con menos variables clínicas, los polimorfismos en los genes *CYP2C9* y *VKORC1* han permitido explicar un mayor porcentaje de variación en la dosis, alrededor de 62 % (36). Debe recordarse que la inclusión de la trombosis venosa mejoró el desempeño del algoritmo explicativo en la presente investigación, lo que demuestra la importancia de considerar la razón de la medicación con warfarina cuando se fija su dosis. Tampoco deben olvidarse la dieta, los suplementos dietéticos y la medicación simultánea con posibles o probables inhibidores y potenciadores (37). El aumento del riesgo de hemorragia con fármacos de uso común, como la aspirina, los antiinflamatorios no esteroideos, la penicilina en altas dosis (5,38) e, incluso, las interacciones con medicamentos de tipo herbal (39), debe tomarse en cuenta para mejorar la predicción cuando se trata de un paciente medicado con warfarina en un ámbito clínico local.

En resumen, los resultados de la presente investigación demuestran una vez más la utilidad de los genotipos estudiados en la predicción de la sensibilidad a la warfarina en Colombia, especialmente si el propósito es disminuir los efectos adversos de tipo hemorrágico al iniciar el tratamiento. Actualmente hay estudios en diversas poblaciones que han demostrado una reducción de efectos adversos serios (40), una menor incidencia de anticoagulación excesiva (INR $\geq$ 4) (9,40), un menor porcentaje de INR fuera del rango (40) e, incluso, la disminución del tiempo para alcanzar la dosis terapéutica con la consecuente reducción del riesgo de tromboembolia (9,40,41).

### Agradecimientos

Al Hospital Militar Central, por la aprobación del proyecto, y a su equipo de laboratorio, farmacia, cardiología y enfermeras de consulta externa, por su apoyo en la ejecución. Al Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia, por facilitar el uso del equipo de PCR en tiempo real para la presente investigación.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Este trabajo se llevó a cabo en el marco del proyecto MED-1329 financiado por la Universidad Militar Nueva Granada.

### Referencias

1. **Carlquist JF, Horne BD, Muhlestein JB, Lappe DL, Whiting BM, Kolek MJ, et al.** Genotypes of the cytochrome p450 isoform, *CYP2C9*, and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: A prospective study. *J Thromb Thrombolysis*. 2006;22:191-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s11239-006-9030-7>
2. **Johnson JA, Gong L, Whirl-Carrillo M, Gage BF, Scott SA, Stein CM, et al.** Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for *CYP2C9* and *VKORC1* genotypes and warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2011;90:625-9. <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2011.185>
3. **Stehle S, Kirchheiner J, Lazar A, Fuhr U.** Pharmacogenetics of oral anticoagulants: A basis for dose individualization. *Clin Pharmacokinet*. 2008;47:565-94.
4. **Kamali F, Wynne H.** Pharmacogenetics of warfarin. *Annu Rev Med*. 2010;61:63-75. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.med.070808.170037>
5. **Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin JL.** American Heart Association/American College of Cardiology Foundation guide to warfarin therapy. *Circulation*. 2003;107:1692-711. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000063575.17904.4E>
6. **Li T, Lange LA, Li X, Susswein L, Bryant B, Malone R, et al.** Polymorphisms in the *VKORC1* gene are strongly associated with warfarin dosage requirements in patients receiving anticoagulation. *J Med Genet*. 2006;43:740-4. <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2005.040410>
7. **Bilen O, Teruya J.** Complications of anticoagulation. *Dis Mon*. 2012;58:440-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.disamonth.2012.04.002>
8. **Goldstein JN, Rosand J, Schwamm LH.** Warfarin reversal in anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage. *Neurocrit Care*. 2008;9:277-83. <http://dx.doi.org/10.1007/s12028-008-9049-z>
9. **Pirmohamed M, Burnside G, Eriksson N, Jorgensen AL, Toh CH, Nicholson T, et al.** A randomized trial of genotype-guided dosing of warfarin. *N Engl J Med*. 2013;369:2294-303. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1311386>
10. **Gage BF, Eby C, Johnson JA, Deych E, Rieder MJ, Ridker PM, et al.** Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther*. 2008;84:326-31. <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2008.10>
11. **Wadelius M, Pirmohamed M.** Pharmacogenetics of warfarin: Current status and future challenges. *Pharmacogenomics J*. 2007;7:99-111. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.tpj.6500417>
12. **Wang D, Chen H, Momary KM, Cavallari LH, Johnson JA, Sadee W.** Regulatory polymorphism in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC1*) affects gene expression and warfarin dose requirement. *Blood*. 2008;112:1013-21. <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2008-03-144899>
13. **Dean L.** Warfarin therapy and the genotypes *CYP2C9* and *VKORC1*. Medical genetics summaries. Bethesda, MD: National Center for Biotechnology Information; 2013.
14. **Finkelmann BS, Gage BF, Johnson JA, Brensinger CM, Kimmel SE.** Genetic warfarin dosing: Tables versus algorithms. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:612-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacc.2010.08.643>

15. **Klein TE, Altman RB, Eriksson N, Gage BF, Kimmel SE, Lee MT, et al.** Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *N Engl J Med.* 2009;360:753-64. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0809329>
16. **Bazan NS, Sabry NA, Rizk A, Mokhtar S, Badary O.** Validation of pharmacogenetic algorithms and warfarin dosing table in Egyptian patients. *Int J Clin Pharm.* 2012;34:837-44. <http://dx.doi.org/10.1007/s11096-012-9678-3>
17. **Liang R, Li L, Li C, Gao Y, Liu W, Hu D, et al.** Impact of *CYP2C9\*3*, *VKORC1*-1639, *CYP4F2*rs2108622 genetic polymorphism and clinical factors on warfarin maintenance dose in Han-Chinese patients. *J Thromb Thrombolysis.* 2012;34:120-5. <http://dx.doi.org/10.1007/s11239-012-0725-7>
18. **Salzano FM.** Interethnic variability and admixture in Latin America--social implications. *Rev Biol Trop.* 2004;52:405-15.
19. **Roper N, Storer B, Bona R, Fang M.** Validation and comparison of pharmacogenetics-based warfarin dosing algorithms for application of pharmacogenetic testing. *J Mol Diagn.* 2010;12:283-91. <http://dx.doi.org/10.2353/jmoldx.2010.090110>
20. **Palacio L, Falla D, Tobón I, Mejía F, Lewis JE, Martínez AF, et al.** Pharmacogenetic impact of *VKORC1* and *CYP2C9* allelic variants on warfarin dose requirements in a hispanic population isolate. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2010;16:83-90. <http://dx.doi.org/10.1177/1076029608330472>
21. **Isaza C, Beltrán L, Henao J, Porras G, Pinzón A, Vallejos A, et al.** Factores genéticos y ambientales asociados con la respuesta a warfarina en pacientes colombianos. *Biomédica.* 2010;30:410-20. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v30i3.275>
22. **Saleh MI.** Clinical predictors associated with warfarin sensitivity. *Am J Ther.* 2015. <http://dx.doi.org/10.1097/MJT.0000000000000248>
23. **Burian M, Grosch S, Tegeder I, Geisslinger G.** Validation of a new fluorogenic real-time PCR assay for detection of *CYP2C9* allelic variants and *CYP2C9* allelic distribution in a German population. *Br J Clin Pharmacol.* 2002;54:518-21. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2125.2002.01693.x>
24. **Veenstra DL, You JH, Rieder MJ, Farin FM, Wilkerson HW, Blough DK, et al.** Association of vitamin K epoxide reductase complex 1 (*VKORC1*) variants with warfarin dose in a Hong Kong Chinese patient population. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15:687-91.
25. **Cifuentes RA, Barreto E.** Supervised selection of single nucleotide polymorphisms in chronic fatigue syndrome. *Biomédica.* 2011;31:613-21. <http://dx.doi.org/10.1590/S0120-41572011000400017>
26. **Frank E, Hall M, Trigg L, Holmes G, Witten IH.** Data mining in bioinformatics using Weka. *Bioinformatics.* 2004;20:2479-81. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bth261>
27. **Williams D, Feely J.** Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41:343-70. <http://dx.doi.org/10.2165/00003088-200241050-00003>
28. **Andrus MR.** Oral anticoagulant drug interactions with statins: Case report of fluvastatin and review of the literature. *Pharmacotherapy.* 2004;24:285-90. <http://dx.doi.org/10.1592/phco.24.2.285.33137>
29. **McKenney JM.** Efficacy and safety of rosuvastatin in treatment of dyslipidemia. *Am J Health Syst Pharm.* 2005;62:1033-47.
30. **Yunis JJ, Acevedo LE, Campo DS, Yunis EJ.** Geo-geographic origin of Y-specific STR haplotypes in a sample of Caucasian-Mestizo and African-descent male individuals from Colombia. *Biomédica.* 2013;33:459-67. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i3.807>
31. **Departamento Administrativo Nacional de Estadística.** Colombia una nación multicultural. Su diversidad étnica - 2007. Fecha de consulta: 14 de julio de 2015. Disponible en: [https://www.dane.gov.co/files/censo2005/etnia/sys/colombia\\_nacion.pdf](https://www.dane.gov.co/files/censo2005/etnia/sys/colombia_nacion.pdf).
32. **Flockhart DA, O'Kane D, Williams MS, Watson MS, Gage B, Gandolfi R, et al.** Pharmacogenetic testing of *CYP2C9* and *VKORC1* alleles for warfarin. *Genet Med.* 2008;10:139-50. <http://dx.doi.org/10.1097/GIM.0b013e318163c35f>
33. **Holbrook AM, Pereira JA, Labiris R, McDonald H, Douketis JD, Crowther M, et al.** Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions. *Arch Intern Med.* 2005;165:1095-106. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.165.10.1095>
34. **Geisen C, Watzka M, Sittlinger K, Steffens M, Daugela L, Seifried E, et al.** *VKORC1* haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb Haemost.* 2005;94:773-9. <http://dx.doi.org/10.1160/TH05-04-0290>
35. **Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al.** Effect of *VKORC1* haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med.* 2005;352:2285-93. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa044503>
36. **Kadian-Dodov DL, van der Zee SA, Scott SA, Peter I, Martis S, Doheny DO, et al.** Warfarin pharmacogenetics: A controlled dose-response study in healthy subjects. *Vasc Med.* 2013;18:290-7. <http://dx.doi.org/10.1177/1358863X13503193>
37. **Nutescu E, Chuatrisorn I, Hellenbart E.** Drug and dietary interactions of warfarin and novel oral anticoagulants: An update. *J Thromb Thrombolysis.* 2011;31:326-43. <http://dx.doi.org/10.1007/s11239-011-0561-1>
38. **Chan TY.** Adverse interactions between warfarin and nonsteroidal antiinflammatory drugs: Mechanisms, clinical significance, and avoidance. *Ann Pharmacother.* 1995;29:1274-83.
39. **Izzo AA, Ernst E.** Interactions between herbal medicines and prescribed drugs: An updated systematic review. *Drugs.* 2009;69:1777-98. <http://dx.doi.org/10.2165/11317010-000000000-00000>
40. **Motsinger-Reif AA, Wagner MJ.** Clinical trial evidence of the promise of pharmacogenomics warfarin dosing algorithms. *Pharmacogenomics.* 2012;13:861-3. <http://dx.doi.org/10.2217/pgs.12.65>
41. **Wang M, Lang X, Cui S, Fei K, Zou L, Cao J, et al.** Clinical application of pharmacogenetic-based warfarin-dosing algorithm in patients of Han nationality after rheumatic valve replacement: A randomized and controlled trial. *Int J Med Sci.* 2012;9:472-9. <http://dx.doi.org/10.7150/ijms.4637>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Caracterización y seguimiento durante seis meses de una cohorte de recién nacidos con sífilis congénita

Cristian Vallejo<sup>1</sup>, Yolanda Cifuentes<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> División de Neonatología, Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Lugar donde se desarrolló la investigación:** Hospital La Victoria, sede Instituto Materno Infantil, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La sífilis congénita es una enfermedad prevenible cuya incidencia en Colombia ha aumentado, alcanzando la cifra de 3,28 casos por 1.000 nacidos vivos en el 2011.

**Objetivo.** Caracterizar a los recién nacidos con sífilis congénita y describir su diagnóstico y tratamiento durante el seguimiento de seis meses.

**Materiales y métodos.** En el periodo comprendido entre agosto de 2011 y febrero de 2012 en el Hospital La Victoria, sede Instituto Materno Infantil, se identificaron y trataron los recién nacidos con sífilis congénita, y se hizo seguimiento clínico y de laboratorio hasta la curación de la enfermedad. Las variables analizadas incluyeron las características clínicas y de laboratorio.

**Resultados.** En este periodo se diagnosticaron 29 pacientes que cumplían con los criterios de caso de sífilis congénita, cuya frecuencia en la institución era de un caso por cada 69 nacimientos. Hubo un mortinato y una muerte neonatal, cuatro recién nacidos fueron prematuros y cinco presentaron restricción en el crecimiento. De los 28 recién nacidos vivos, 15 fueron asintomáticos. Se presentaron dos casos con neurosífilis, es decir, 15 % de los sintomáticos. Se hizo seguimiento a 18 de los 27 niños (66,6 %), incluidos la mayoría de los sintomáticos y los dos casos con neurosífilis; la disminución esperada de los títulos en la prueba del *Venereal Disease Research Laboratory*, VDRL, se presentó en todos los pacientes, y no hubo secuelas clínicas, con lo que se cumplieron los criterios de curación.

**Conclusiones.** Se evidenció una gran incidencia de la enfermedad, fallas en su prevención, una variada expresión en su presentación y la efectividad del tratamiento en el periodo neonatal.

**Palabras clave:** sífilis congénita, neurosífilis, retardo del crecimiento fetal, mortalidad infantil, mortinato, estudios de seguimiento.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2661>

### Characterization and six-month follow-up on a cohort of newborns with congenital syphilis

**Introduction:** Congenital syphilis is a preventable disease. However, the incidence in Colombia has increased and reached the figure of 3.28 cases per 1,000 live births in 2011.

**Objective:** To characterize newborns with congenital syphilis and describe follow-up over 6 months following their diagnosis and treatment.

**Materials and methods:** Between August, 2011, and February, 2012, in *Hospital La Victoria, sede Instituto Materno Infantil*, newborns with congenital syphilis were identified and treated. Clinical and laboratory follow-up was carried out for six months until it was determined that the disease was cured. The analyzed variables included patients' clinical and laboratory characteristics.

**Results:** In this period, we identified 29 cases that met the criteria of congenital syphilis, with a frequency in the institution of one case per 69 births. There was one stillbirth and one neonatal death, four were premature, and five had growth restriction. Of the 28 live births, 15 were asymptomatic. There were two cases with neurosyphilis, representing 15% of symptomatic newborns. Follow-up was done on 18

#### Contribución de los autores:

Cristian Vallejo: elaboración del consentimiento informado y presentación ante el Comité de Ética de la Universidad Nacional; búsqueda de los casos en el hospital; recolección de la información; revisión de historias clínicas; primer contacto con las madres para consecución del consentimiento informado; examen físico de los recién nacidos y, posteriormente, de los lactantes en los controles; tabulación de los datos; búsqueda y contacto con las madres para el control.

Yolanda Cifuentes: generación de la propuesta de trabajo; trámite para la financiación del trabajo; análisis y seguimiento de los casos complejos; tabulación y análisis de los datos; asistencia en el control de los pacientes complejos.

Los dos autores participaron en la escritura del manuscrito.



out of 27 children (66.6%), including most symptomatic cases and the two cases of neurosyphilis. All cases showed the expected decrease in VDRL titers without clinical sequelae, meeting the criteria of being cured.

**Conclusions:** A high incidence of the disease, failure to prevent it, varied expression in its presentation, and the effectiveness of treatment in the neonatal period were evidenced in this study.

**Key words:** Syphilis, congenital; neurosyphilis; fetal growth retardation; infant mortality; stillbirth; follow-up studies.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2661>

La sífilis congénita es una enfermedad prevenible que representa un grave problema de salud pública en los países en desarrollo. Los índices de mortalidad, morbilidad y discapacidad infantil a corto y largo plazo, siguen siendo elevados, a pesar de la implementación de los programas de prevención, diagnóstico y tratamiento (1). En el 2008, se estimó que la sífilis de la mujer gestante a nivel mundial había originado 305.000 muertes fetales y neonatales y que 215.000 recién nacidos tuvieron peso bajo, prematuridad o complicaciones relacionadas con la enfermedad (2). Latinoamérica y el Caribe poseen la tasa más alta de sífilis en el mundo y se cree que cada año nacen 164.000 niños con la enfermedad (3). En el 2011 se estimó una incidencia de 3,28 casos por 1.000 nacidos vivos en Colombia, cifra que varió según la región y la calidad de los sistemas de notificación obligatoria, y estuvo muy lejana de la propuesta por la Organización Panamericana de la Salud de 0,5 casos por 1.000 recién nacidos (3,4).

La presencia de sífilis congénita se ha asociado a factores de riesgo materno, entre los que se destacan las prácticas sexuales riesgosas, el inicio temprano de actividad sexual, la promiscuidad, el consumo de alcohol o sustancias psicoactivas, la residencia en zonas de alta incidencia, el bajo nivel socioeconómico, la dificultad en el acceso a los servicios de salud, la ausencia o el inadecuado control prenatal, y la presencia de otras infecciones de transmisión sexual (5).

La sífilis congénita se presenta cuando la mujer con sífilis transmite la infección al feto durante la gestación por vía hematogénea a través de la placenta, o durante el parto por contacto directo con lesiones infecciosas. La probabilidad de infección vertical varía según el estadio de la infección en

la mujer gestante no tratada, siendo de 60 y hasta 100 % en los casos de sífilis primaria, de 67 % en los de sífilis secundaria, de 40 % en los de sífilis latente temprana y de 10 % en los de sífilis latente tardía (5,6).

El cuadro clínico en el recién nacido incluye desde casos asintomáticos hasta formas graves de la enfermedad, incluso hidropesía fetal; las manifestaciones tempranas se denominan así si aparecen en los primeros dos años de vida, y tardías, si aparecen después. Entre las manifestaciones tempranas puede darse el compromiso de diversos órganos y sistemas: el hígado, el bazo, el pulmón, la piel, el riñón, los ojos, el sistema hematológico y el sistema nervioso central (5,7,8); sin embargo, en la mayoría de los casos, los recién nacidos con sífilis congénita no presentan manifestaciones clínicas de la enfermedad (7).

La neurosífilis se presenta en aproximadamente 80 % de los neonatos con sífilis congénita diagnosticada clínicamente o confirmada por laboratorio, y en 8 % de los recién nacidos sin manifestaciones clínicas ni confirmación por laboratorio (9). Los hallazgos en el líquido cefalorraquídeo sugestivos de neurosífilis son la pleocitosis, con más de 25 leucocitos por mm<sup>3</sup>, la linfocitosis o la monocitosis, y la elevación de las proteínas a más de 150 mg/dl en el recién nacido a término y de 170 mg/dl en los prematuros. Una prueba de *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) reactiva en líquido cefalorraquídeo, es indicativa de neurosífilis; la infección del sistema nervioso central también puede presentarse sin que se registren cambios en el análisis citoquímico (7,9,10).

La confirmación diagnóstica se hace por el aislamiento de *Treponema pallidum* en la placenta, el cordón umbilical o en material de necropsia, o mediante la detección del microorganismo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), o con base en los resultados positivos en las pruebas serológicas de IgM específica para *T. pallidum* (*Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*, FTA-ABS; *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*,

Correspondencia:

Cristian Vallejo, Transversal 16 bis N° 45D-63, apartamento, 506, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (316) 734 9033; fax: (571) 233 8979

[cristian\\_gv@hotmail.com](mailto:cristian_gv@hotmail.com)

Recibido: 26/12/14; aceptado: 19/08/15

ELISA, o *Western Blot*, WB). Frecuentemente, la determinación de IgM específica es negativa (11) y esto hace muy difícil confirmar el diagnóstico, por lo que la definición de caso de sífilis congénita se basa en el diagnóstico de sífilis en la madre gestante, sumado a la ausencia de tratamiento o a la administración de uno inadecuado (12).

El tratamiento de elección de la sífilis congénita es la administración de penicilina cristalina durante 10 a 14 días por vía intravenosa, en dosis de 50.000 unidades por kilogramo de peso cada 12 horas durante la primera semana de vida y, a partir de la segunda semana y durante el primer mes, cada 8 horas; no se ha demostrado resistencia de *T. pallidum* a la penicilina (7,13).

El seguimiento de los recién nacidos se hace mediante revisión clínica y con estudios serológicos hasta que las pruebas dejen de ser reactivas; la disminución de los títulos de la VDRL debe ser de dos diluciones en tres meses, aunque es más lenta si el tratamiento se inicia después del primer mes de vida. En caso de neurosífilis, debe hacerse punción lumbar a los seis meses; para considerar que ha habido curación, la VDRL no debe resultar reactiva y los valores de proteínas y células deben ser normales (8).

Se ha observado que el seguimiento de estos pacientes no se realiza según la norma, por lo cual este trabajo pretendió caracterizar una cohorte de recién nacidos que cumplían con los criterios de caso de sífilis congénita y recibieron tratamiento en el Hospital La Victoria, sede Instituto Materno Infantil, con el fin de determinar a lo largo de seis meses de seguimiento el comportamiento clínico y los resultados en la prueba de VDRL.

### **Materiales y métodos**

Se hizo una investigación de tipo descriptivo prospectivo en la que se incluyeron todos los recién nacidos cuyas madres hubieran tenido una prueba no treponémica reactiva (VDRL) y una prueba treponémica positiva (FTA-ABS), y no hubieran recibido tratamiento o se les hubiera administrado uno inadecuado.

Se utilizaron las siguientes definiciones (11): el caso probable sería el de un recién nacido cuya madre hubiera tenido sífilis detectada en el momento del nacimiento y no hubiera sido tratada, o se hubiera sometido a un tratamiento inadecuado, sin tener en cuenta los signos de sífilis en el recién nacido, o un recién nacido con resultado reactivo en la prueba treponémica y, además, evidencia de sífilis

congénita en el examen físico, en la radiografía de huesos largos, o resultado reactivo de la VDRL en líquido cefalorraquídeo, elevación del conteo celular o de proteínas en el líquido cefalorraquídeo (sin otra causa), o resultados positivos para IgM en la FTA-ABS19S o en la ELISA.

El tratamiento materno inadecuado (modificado) se definió como la administración de un antibiótico diferente a la penicilina a la mujer gestante, cuando el intervalo entre la administración del esquema de tratamiento con penicilina benzatínica y el parto fuera menor de 30 días, o cuando no hubiera habido la disminución esperada de títulos en la VDRL en el momento del parto comparado con los resultados en el momento del diagnóstico.

La disminución de los títulos en la sífilis primaria debe ser de dos diluciones entre los tres y cuatro meses, y cuando se trata de sífilis secundaria, de dos diluciones en seis meses (14). Se excluyeron los hijos de mujeres gestantes con prueba no treponémica reactiva menor de 1:8 diluciones y sin prueba treponémica confirmatoria, así como los recién nacidos remitidos a otra institución.

Semanalmente se detectaron los recién nacidos que cumplían con la definición de caso reportados en el Comité de Infecciones del Hospital, y se verificó que las madres tuvieran prueba treponémica positiva. Después de obtener el consentimiento informado, se diligenció un formato donde se consignaron los datos de la historia clínica. A los recién nacidos se les practicó el examen físico, se les tomó una radiografía de huesos largos y se les hizo valoración por oftalmología, además de los siguientes análisis: prueba de VDRL en suero, hemograma, cuantificación de bilirrubinas diferenciadas y aminotransferasas, uroanálisis, punción lumbar a las 72 horas de vida para la VDRL y examen citoquímico en líquido cefalorraquídeo.

Todos los recién nacidos recibieron tratamiento con penicilina cristalina en la dosis estándar durante 10 días; a los neonatos con neurosífilis se les administró penicilina cristalina durante 14 días.

A los tres meses de edad, se les hizo un examen físico y se tomaron muestras para la prueba de VDRL en suero, así como control de los resultados de laboratorio que habían presentado alteraciones en el momento del nacimiento. En los casos de neurosífilis, el seguimiento serológico y en líquido cefalorraquídeo se hizo a los tres meses de edad en uno de los casos y, en el otro, a los siete meses. El seguimiento terminó cuando los pacientes cumplieron con los criterios de curación.

## Análisis de resultados

Todas las variables cualitativas se analizaron mediante el cálculo de frecuencias absolutas y relativas, y las cuantitativas, con el cálculo de frecuencias y medidas de dispersión o tendencia central según su naturaleza.

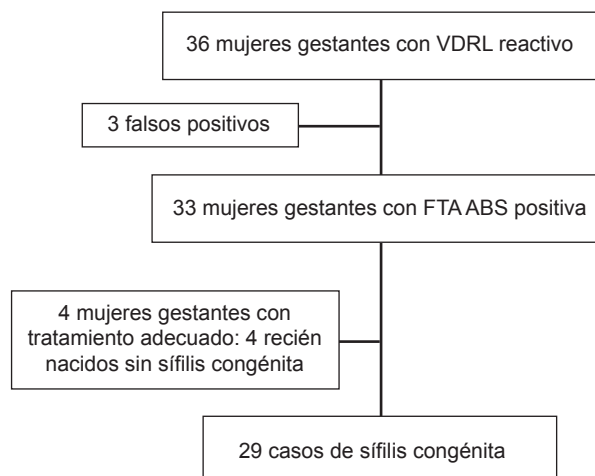
## Consideraciones éticas

El estudio fue autorizado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

## Resultados

Durante el periodo comprendido entre el 15 de agosto de 2011 y el 15 de febrero de 2012, hubo 2.007 nacimientos en el Hospital La Victoria, sede Instituto Materno Infantil, entre los cuales se detectaron 29 casos de sífilis congénita; de ellos, en uno hubo muerte fetal (3,5 %) y los otros 28 cumplieron con los criterios de la definición de caso de sífilis congénita (figura 1), con una razón de un caso por cada 69 recién nacidos y una incidencia de 14,5 por 1.000 nacimientos. De los 28 recién nacidos vivos, 13 tuvieron manifestaciones biológicas y clínicas (46,4 %) y 15 no las presentaron (53,6 %). Las características generales de los recién nacidos se describen en los cuadros 1 y 2.

Las 29 mujeres gestantes fueron negativas en las pruebas de HIV y de antígeno de superficie para hepatitis B. Veinte de ellas no asistieron a control prenatal y, por lo tanto, no recibieron tratamiento; de las nueve mujeres gestantes que asistieron a control prenatal, no se encontró registro de la



**Figura 1.** Mujeres gestantes con VDRL reactivo y casos de sífilis congénita

**Cuadro 1.** Características generales de los recién nacidos vivos diagnosticados con sífilis congénita

Variable	Categorías	n	%
Sexo	Masculino	12	42,9
	Femenino	16	57,1
Enfermedad materna asociada*	Sí	6	21,4
	No	22	78,6
Vía del nacimiento	Vaginal	20	71,4
	Abdominal	8	28,6
Tratamiento materno	No	20	71,4
	Inadecuado	8	28,6
Prematuridad	Sí	4	14,3
	No	24	85,7
Peso para la edad de gestación	Bajo	5	17,9
	Adecuado	23	82,1
Compromiso de órganos o sistemas	Sí	13	46,4
	No	15	53,6

\* Farmacodependencia: cuatro casos; obesidad: un caso; condilomatosis: un caso

**Cuadro 2.** Variables antropométricas de los recién nacidos vivos con diagnóstico de sífilis congénita

Variables	Promedio	Desviación estándar
Peso (g)	2.691,86	407,261
Talla (cm)	47,78	2,325
Perímetro cefálico (cm)	33,26	1,868

VDRL para una de ellas, cuyo hijo nació muerto; el diagnóstico de sífilis se hizo en el momento del parto, por lo que la madre no recibió tratamiento. Las otras ocho mujeres gestantes recibieron tratamiento inadecuado porque en tres de ellas este fue tardío (menos de 30 días antes del parto); otra madre recibió el tratamiento, pero tuvo un aumento de los títulos en la prueba de VDRL en el momento del parto comparada con los resultados de la VDRL de diagnóstico; y en cuatro de los casos no hubo disminución de los títulos en la VDRL en el momento del parto comparados con los registrados en la VDRL en el momento del diagnóstico.

Con respecto a los resultados de la VDRL materna, en siete casos no hubo diluciones, en cuatro, una dilución, en cinco, dos diluciones, en otros cinco, cuatro diluciones, en otros cinco se registraron ocho diluciones, en otro, 32 diluciones, y en dos casos, 64 diluciones; en uno de los casos hubo óbito fetal. Todas las mujeres gestantes fueron positivas en la prueba treponémica. No se encontró relación entre los elevados títulos maternos en la VDRL y los síntomas en el recién nacido ( $p=0,667$ ).

La condición más frecuentemente asociada en las madres fue la farmacodependencia (cuatro casos de 29; 13,8 %), pero la relación con la prematuridad,

el bajo peso al nacer o el compromiso de órganos y sistemas, no fue estadísticamente significativa ( $p=0,1048$ ). Hubo un caso con antecedente de sífilis en una gestación previa.

### **Manifestaciones biológicas y clínicas**

De los 28 recién nacidos, cuatro fueron prematuros (14,3 %), uno de ellos extremo, y cinco tuvieron peso bajo para la edad de gestación (17,9 %); en 13 se evidenció compromiso de órganos. Ningún paciente presentó compromiso óseo, ocular o hidropesía fetal; en dos recién nacidos hubo compromiso de la piel y, en otro, compromiso pulmonar. A todos los recién nacidos se les hicieron exámenes de cuadro hemático, parcial de orina, punción lumbar y radiografía de huesos largos, y se encontró alteración hematológica (trombocitopenia) en cuatro (14,3 %), alteración renal (hematuria, proteinuria, cilindruuria), en cinco (17,9 %), y del sistema nervioso central en dos (7,1 %), uno de ellos con VDRL reactiva en líquido cefalorraquídeo y examen citoquímico normal, y el otro con aumento de proteínas y VDRL no reactiva.

Se registró un aumento de aminotransferasas en siete pacientes de nueve que tenían reporte de función hepática, colestasis en tres de 16 con reporte de bilirrubinas e hipoalbuminemia, y prolongación de los tiempos de coagulación en uno de estos casos. En todos los siete casos de pacientes con compromiso hepático hubo aumento de la aspartato aminotransferasa (AST) y un caso presentó aumento de la alanino aminotransferasa (ALT).

En cuanto a los títulos en la prueba de VDRL en los recién nacidos, la distribución fue la siguiente: en nueve de ellos, la VDRL no fue reactiva; en tres no se registraron diluciones; en cinco se registró una dilución; en otros cinco, dos diluciones; en dos, cuatro diluciones, y en los otros cuatro, ocho diluciones; en un caso, los títulos en la VDRL fueron mayores por una dilución que los de la VDRL en la madre, caso este en el que se registraron síntomas graves de la enfermedad.

Hubo un caso de muerte neonatal (3,6 %) a los cuatro días del nacimiento; se trataba de un recién nacido prematuro de 24 semanas y 840 g de peso con compromiso pulmonar y hepático, que tuvo el valor más alto de AST en la serie.

### **Seguimiento**

Se citaron para seguimiento 27 pacientes (11 sintomáticos y 16 asintomáticos), pues un recién nacido sintomático falleció por compromiso multisistémico

y sepsis neonatal durante el tratamiento. Hubo una pérdida de nueve casos (33 %) durante el seguimiento; los otros 18 pacientes (67 %), de los cuales nueve fueron sintomáticos y nueve asintomáticos, se evaluaron a los tres meses y todos cumplieron con los criterios de curación: VDRL negativa o descenso de dos diluciones en el número inicial de títulos. A los seis meses, seis de los pacientes asistieron al control, incluidos dos casos con pruebas de VDRL ligeramente reactivas frente al control de los tres meses; todos registraron resultados negativos en los títulos de la VDRL. De los 11 pacientes sintomáticos vivos, los nueve que fueron llevados a control a los tres meses presentaban una adecuada evolución clínica y paraclínica.

De los tres pacientes con aumento de aminotransferasas y colestasis, uno de ellos, hijo de madre farmacodependiente, fue tomado en protección por el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar y no asistió al control; en el control a los tres meses, se encontró que uno de los otros pacientes registraba un nivel de aminotransferasas levemente elevado y en el otro los valores estaban normales.

De los pacientes con diagnóstico de neurosífilis, uno tuvo control de VDRL en líquido cefalorraquídeo a los tres meses y registró un resultado negativo, y en el otro caso, el control se hizo a los siete meses y se observó un valor normal de proteínas y un resultado negativo en la prueba de VDRL.

### **Discusión**

A nivel mundial hay un aumento de las enfermedades de transmisión sexual; a pesar de que existe una prueba diagnóstica y un tratamiento eficaz para la infección por *T. pallidum*, cada año se presentan 11 millones de infecciones nuevas y cerca de 1,5 millones de mujeres gestantes se infectan (15). Se considera que la mitad de las mujeres gestantes infectadas no recibe tratamiento, lo que ocasiona un incremento de los casos de sífilis congénita y, por ende, mortalidad fetal, neonatal, prematuridad, restricción del crecimiento y neonatos con manifestaciones de la infección.

En el 2014, año del presente estudio, se notificaron en Colombia 1.583 casos de sífilis congénita para una incidencia de 2,35 casos por 1.000 nacidos vivos; la mayor incidencia se registró en Chocó, con 12,8, seguido de Guainía, con 5,9, Guaviare, con 5,7, San Andrés, con 4,8, y Valle, con 4; Bogotá presentó una incidencia de 2 por 1.000 nacidos vivos (16).



Las fallas en el control prenatal son un factor fundamental para la presentación de la sífilis congénita; en ocasiones, las mujeres gestantes no asisten al control, situación que fue evidente en esta cohorte, en la que 20 de 29 (69 %) mujeres gestantes no asistieron a control prenatal, y el diagnóstico de sífilis solo se hizo en el momento del parto, condición también informada en un estudio en Buenaventura en el que 28 de 92 (30 %) mujeres gestantes no asistieron al control prenatal. Esta situación debe explorarse para conocer cuáles son los motivos por los cuales las mujeres gestantes no asisten al control, de manera que puedan establecerse estrategias para brindar cuidados prenatales a todas ellas.

Otra circunstancia igualmente preocupante es que el control prenatal es inadecuado, pues en ocasiones no se practica la prueba para sífilis a las madres y, en otras, no se les da tratamiento; en el presente estudio, el resultado de la prueba de VDRL en una de las nueve mujeres gestantes que asistió a control prenatal no se encontró, por lo que no fue diagnosticada ni recibió tratamiento, y la gestación terminó en el alumbramiento de un mortinato por sífilis. En el estudio en Buenaventura, 64 mujeres gestantes asistieron, por lo menos, a un control prenatal, a 59 de ellas se les practicó la prueba para sífilis, pero solo cinco recibieron el tratamiento adecuado (17).

Esta realidad podría modificarse con el uso de pruebas treponémicas rápidas durante la consulta prenatal, las cuales permiten la detección del riesgo y, en caso de resultar positivas, la administración de una dosis de 2'400.000 unidades de penicilina benzatínica, con el propósito de prevenir la sífilis congénita (15). Asimismo, deben solicitarse las pruebas no treponémicas para establecer si se trata de una sífilis activa y, en ese caso, completar el tratamiento. Hay suficiente evidencia de que esta estrategia sirve para prevenir la mortalidad fetal y neonatal ocasionada por la sífilis en la mujer gestante (18). La actual guía de práctica clínica para sífilis de la mujer gestante y sífilis congénita, incluye la recomendación del uso de pruebas treponémicas rápidas como tamización para sífilis durante la consulta prenatal.

La relación entre el consumo de sustancias psicoactivas, específicamente la cocaína, y la sífilis, se viene mencionando desde hace varias décadas (19), por lo que en la población de mujeres farmacodependientes debería hacerse detección temprana de la gestación y búsqueda

activa de infecciones asociadas, como el sida, la sífilis y la tuberculosis. Llama la atención que en una población de mujeres gestantes de alto riesgo de enfermedades de transmisión sexual, como la del presente estudio, no se encontrara ningún caso positivo de HIV; sin embargo, en una serie de casos de nuestra institución en el 2008, de 70 casos de mujeres gestantes con sífilis, dos de ellas (2,85 %) presentaban HIV (12).

La modificación en la definición del tratamiento inadecuado de las mujeres gestantes asumida en nuestra institución constituye una limitación del presente estudio, pero dicha modificación obedece a la alta prevalencia que se presenta en este hospital debido, fundamentalmente, a los factores de riesgo de la población que se atiende: inicio temprano de la actividad sexual, promiscuidad, consumo de alcohol o sustancias psicoactivas, bajo nivel socioeconómico, dificultad en el acceso a los servicios de salud, ausencia o inadecuado control prenatal, y ausencia de tratamiento a la pareja, lo que se suma al fracaso del tratamiento, sobre todo de la sífilis secundaria (14,19,20), cuando los títulos de la VDRL materna en el momento del diagnóstico y en el momento del parto son elevados o cuando no se sabe la duración de la infección, ya que el tratamiento durante la gestación puede modificar la gravedad de la enfermedad sin erradicar las manifestaciones clínicas en el neonato (21,22).

En ocho de los casos de esta cohorte, se consideró que el tratamiento materno había sido inadecuado: en tres casos por haber sido tardío, con el resultado de dos neonatos sin evidencia de compromiso de órganos, y un neonato con compromiso hepático y renal; en un caso, los títulos de la VDRL en el momento del parto ascendieron con respecto a los registrados en el momento del diagnóstico, y el neonato fue prematuro con restricción del crecimiento intrauterino y compromiso hepático; en cuatro casos no hubo disminución de los títulos, y el resultado fueron dos recién nacidos sin evidencia de compromiso de órganos, un prematuro y otro con neurosífilis y compromiso renal, lo que valida la recomendación de que los recién nacidos cuyas madres hayan sido tratadas durante la gestación deben ser evaluados clínica y serológicamente para la detección de una eventual sífilis congénita (19,20).

Los resultados de este estudio difieren de la estimación de que la sífilis de la mujer gestante sin tratamiento o con un tratamiento inadecuado, puede terminar en aborto o en mortinatos en 21 %

de los casos, en muerte neonatal en 9 % de los casos, en prematuridad o restricción del crecimiento intrauterino en 6 % y en neonatos sintomáticos en 16 % (15), y se asemejan, en cambio, a los encontrados en Buenaventura, ya que la mayoría de los neonatos infectados eran asintomáticos, aunque hay que resaltar que la búsqueda del compromiso de órganos no fue uniforme.

El órgano más frecuente y tempranamente comprometido suele ser el hígado (23). En la presente serie hubo tres casos de compromiso hepático grave: dos pacientes con hepatitis anictérica, y el otro con compromiso sistémico, incluida la restricción del crecimiento, hepato-esplenomegalia, y compromiso renal y del sistema nervioso central; en el seguimiento de este caso se encontró que persistía la elevación de las aminotransferasas indicativa de hepatitis crónica ya conocida y notificada desde hacía varios años (24).

La frecuencia de neurosífilis en los pacientes sintomáticos fue de 20 %, cuando en la literatura científica se reporta hasta en 60 % de los casos, aunque hay que recordar que algunos casos de neurosífilis se diagnostican solamente mediante PCR o el test de infección en conejo (9,25).

En cuanto al otro objetivo de este estudio, es decir, la descripción del seguimiento clínico y serológico, son pocos los estudios de seguimiento de los neonatos con sífilis congénita. En la serie de Singh (25) se registraron casos de persistencia de los títulos al final del seguimiento, solo en dos de los cinco se inició el tratamiento al nacer y la mayoría tenía títulos muy altos en el momento del diagnóstico, lo que difiere de la situación de los recién nacidos en este estudio, en quienes el diagnóstico y el tratamiento se hicieron al nacer y los títulos en la VDRL fueron bajos. El seguimiento a los tres meses se hizo en el 67 % de los casos y se encontraron resultados negativos o una disminución de dos diluciones en la prueba de VDRL, en tanto que, en el seguimiento de los tres casos de hepatitis, se encontró la resolución de uno de ellos, hepatitis crónica en otro y el tercer paciente no asistió a los controles de seguimiento. En los dos casos de neurosífilis se cumplieron los criterios de curación: a los tres meses en uno de ellos y a los siete meses en el otro.

El seguimiento es importante, pues pueden presentarse secuelas como anemia, hepatitis crónica, nariz en silla de montar, deficiencia de la hormona de crecimiento, compromiso del primero y octavo pares craneales, hidrocefalia, atrofia cerebral,

epilepsia, microcefalia y retardo del neurodesarrollo. Se recomienda, asimismo, que los recién nacidos cuyas madres hayan sido tratadas durante la gestación tengan control, pues se han encontrado secuelas de la infección en el largo plazo (26).

A pesar de que no se ha informado resistencia de *T. pallidum* a la penicilina, y que las pruebas para el diagnóstico y la penicilina son baratas, la morbilidad ocasionada por la infección transplacentaria es elevada y genera costos considerables para el sistema de salud, situación que puede modificarse con medidas sencillas, económicas e integrales que fomenten la asistencia de las mujeres gestantes al control prenatal, para administrarles el tratamiento en la misma consulta en la que se hace el diagnóstico.

La sífilis congénita es una enfermedad prevenible, y la implementación de los lineamientos de la actual guía de práctica clínica en todos los organismos de salud encargados de la atención de las mujeres gestantes y los recién nacidos permitiría disminuir la frecuencia de la infección y cumplir con uno de los objetivos del milenio, tarea en la que llevamos muchos años de retraso.

### Agradecimientos

Al Hospital La Victoria, sede Instituto Materno Infantil.

### Conflicto de intereses

No hay conflictos de intereses.

### Financiación

División de Investigación de la Universidad Nacional de Colombia.

### Referencias

1. Walker GJA, Walker DG. Congenital syphilis: A continuing but neglected problem. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2007;12:198-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.siny.2007.01.019>
2. World Health Organization. Investment case for eliminating mother-to-child transmission of syphilis: Promoting better maternal and child health and stronger health systems. 2012. Fecha de consulta: 23 de abril de 2014. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75480/1/9789241504348\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75480/1/9789241504348_eng.pdf).
3. Alonso M. Regional Initiative for the Elimination of Mother-to-Child Transmission of HIV and Congenital Syphilis in Latin America and the Caribbean: Regional Monitoring Strategy. PAHO, WHO, Unicef; 2010. Fecha de consulta: 23 de abril de 2014. Disponible en: [http://www.unicef.org/lac/Regional\\_Monitoring\\_Strategy.pdf](http://www.unicef.org/lac/Regional_Monitoring_Strategy.pdf).
4. Alzate-Granados JP, Sánchez-Bello NF, Amaya-Arias AC, Peralta-Pizza F, Eslava-Schmalbach J. Congenital syphilis incidence disparities in Colombia 2005 to 2011: An ecological study. *Rev Salud Pública.* 2012;14:71-80.

5. Casas RL, Rodríguez M, Rivas J. Syphilis and pregnancy: Early diagnosis and timely treatment. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2009;60:49-56.
6. Herremans T, Kortbeek L, Notermans DW. A review of diagnostic tests for congenital syphilis in newborns. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;29:495-501. <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-010-0900-8>.
7. Woods CR. Syphilis in children: Congenital and acquired. *Semin Pediatr Infect Dis.* 2005;16:245-57. <http://dx.doi.org/10.1053/j.spid.2005.06.005>
8. Wilson CB, Nizet V, Remington JS, Klein JO, Maldonado Y. Infectious diseases of the fetus and newborn. Philadelphia: Elsevier; 2010. p. 7085.
9. Sánchez PJ, Wendel GD, Grimpel E, Goldberg M, Hall M, Arencibia-Mireles O, et al. Evaluation of molecular methodologies and rabbit infectivity testing for the diagnosis of congenital syphilis and neonatal central nervous system invasion by *Treponema pallidum*. *J Infect Dis.* 1993;167:148-57. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/167.1.148>
10. Michelow IC, Wendel GD, Norgard MV, Zeray F, Leos NK, Alsaadi R, et al. Central nervous system infection in congenital syphilis. *N Engl J Med.* 2002;346:1792-8. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa012684>
11. Rawtron SA, Mehta S, Bromberg K. Evaluation of a *Treponema pallidum*-specific IgM enzyme immunoassay and *Treponema pallidum* western blot antibody detection in the diagnosis of maternal and congenital syphilis. *Sex Transm Dis.* 2004;31:123-6.
12. Cifuentes Y, Ojeda C. Sífilis congénita en el Instituto Materno Infantil-Hospital La Victoria durante el año 2008. *Rev Salud Pública.* 2013;15:434-45.
13. Saloojee H, Velaphi S, Goga Y, Afadapa N, Steen R, Lincetto O. The prevention and management of congenital syphilis: An overview and recommendations. *Bull World Health Organ.* 2004;82:424-30.
14. Alexander JM, Sheffield JS, Sánchez PJ, Mayfield J, Wendel GD. Efficacy of treatment for syphilis in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1999;93:5-8.
15. Instituto Nacional de Salud. Sífilis congénita. Semana epidemiológica número 53 de 2014 (28 de diciembre al 03 de enero de 2015). Fecha de consulta: 10 de abril de 2015. <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2014%20Boletin%20epidemiologico%20semana%2053.pdf>.
16. Cruz AR1, Castrillón MA, Minotta AY, Rubiano LC, Castaño MC, Salazar JC. Gestational and congenital syphilis epidemic in the Colombian Pacific Coast. *Sex Transm Dis.* 2013; 40:813-8. <http://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000020>
17. Jafari Y, Peeling RW, Shivkumar S, Claessens C, Joseph L, Pai NP. Are *Treponema pallidum* specific rapid and point-of-care tests for syphilis accurate enough for screening in resource limited settings? Evidence from a meta-analysis. *PloS One.* 2013;8:e54695. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0054695>.
18. Sison CG, Ostrea EM, Reyes MP, Salari V. The resurgence of congenital syphilis: A cocaine-related problem. *J Pediatr.* 1997;130:289-92. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(97\)70357-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(97)70357-3)
19. World Health Organization. Investment case for eliminating mother-to-child transmission of syphilis: Promoting better maternal and child health and stronger health systems. 2012. Fecha de consulta: 23 de abril de 2014. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75480/1/9789241504348\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75480/1/9789241504348_eng.pdf).
20. Rawstron SA, Bromberg K. Failure of recommended maternal therapy to prevent congenital syphilis. *Sex Transm Dis.* 1991;18:102-6.
21. Winscott M, Taylor MM, Kenney K. Identifying unreported and undiagnosed cases of congenital syphilis in Arizona using live birth and fetal death registries. *Sex Transm Dis.* 2010;37:244-7. <http://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181c37e2a>
22. McFarlin BL, Bottoms SF, Dock BS, Isada NB. Epidemic syphilis: Maternal factors associated with congenital infection. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170:535-40. [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9378\(94\)70223-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9378(94)70223-3)
23. Hollier LM, Harstad TW, Sánchez PJ, Twickler DM, Wendel GD. Fetal syphilis: Clinical and laboratory characteristics. *Obstet Gynecol.* 2001;97:947-53.
24. Anand NK, Chellani HK, Wadhwa A, Prasanna SB, Mohan M. Congenital syphilitic hepatitis. *Indian Pediatr.* 1991;28:157-9.
25. Singh AE, Guenette T, Gratrix J, Bergman J, Parker P, Anderson B, et al. Seroreversion of treponemal tests in infants meeting Canadian surveillance criteria for confirmed early congenital syphilis. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32:199-202. <http://dx.doi.org/10.1097/INF.0b013e318273599c>.
26. Lago EG, Vaccari A, Fiori RM. Clinical features and follow-up of congenital syphilis. *Sex Transm Dis.* 2013;40:85-94. <http://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0b013e31827bd688>

ARTÍCULO ORIGINAL

## La transición alimentaria y el exceso de peso en adultos evaluados con base en la Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010

Óscar F. Herrán<sup>1,2</sup>, Gonzalo A. Patiño<sup>2,3</sup>, Sara E. Del Castillo<sup>4</sup>

- <sup>1</sup> Escuela de Nutrición y Dietética, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia
- <sup>2</sup> Observatorio Epidemiológico de Enfermedades Cardiovasculares, Centro de Investigaciones Epidemiológicas, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia
- <sup>3</sup> Universidad Industrial de Santander, Escuela de Economía y Administración, Bucaramanga, Colombia
- <sup>4</sup> Observatorio de Seguridad Alimentaria y Nutricional (OBSAN), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** La transición alimentaria está determinada por las transiciones demográfica y nutricional. **Objetivos.** Establecer la prevalencia del exceso de peso en colombianos de 18 a 64 años de edad, determinar su patrón alimentario y su relación con el exceso de peso.

**Materiales y métodos.** Se analizó la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, 2010. Los patrones alimentarios se establecieron mediante un análisis de factores en 5.217 sujetos que contestaron un cuestionario de frecuencia de consumo. La relación entre el exceso de peso y la inclusión en los cuartiles de los patrones se estableció con regresión binomial.

**Resultados.** La prevalencia del exceso de peso en hombres fue de 47,4 % (IC<sub>95%</sub> 44,7-50,0) y en mujeres de 57,1 % (IC<sub>95%</sub> 54,9-59,3; p<0,0001). Se establecieron tres patrones alimentarios: proteína-fibra, bocadillo-*snack* y tradicional-almidón. Los modelos ajustados por edad, sexo y nivel de seguridad alimentaria del hogar, evidenciaron que los patrones de proteína-fibra y tradicional-almidón estaban asociados al exceso de peso (test de tendencia lineal para la inclusión en los cuartiles: p=0,007 y p=0,001, respectivamente). Ni la frecuencia del consumo de gaseosas y refrescos azucarados, con un sesgo relativo ajustado de 100 (IC<sub>95%</sub> 93-109; p=0,913), ni de comidas rápidas, con un sesgo de 102 (IC<sub>95%</sub> 89-117; p=0,759), se asociaron al exceso de peso.

**Conclusiones.** El exceso de peso aumentó de manera constante con la edad y más en las mujeres, y se asoció con los indicadores de estatus socioeconómico y con el cambio del patrón tradicional-almidón al de proteína-fibra.

**Palabras clave:** conducta alimentaria, hábitos alimenticios, obesidad, adulto, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2579>

### Dietary transition and excess weight in adults according to the *Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010*

**Introduction:** Dietary transition is codetermined by demographic and nutritional transitions.

**Objectives:** To establish the prevalence of overweight individuals among Colombians aged 18 to 64, identify their dietary patterns and establish the relationship between this and their excess weight.

**Materials and methods:** We analyzed the *Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010* (National Survey of the Nutritional Situation in Colombia, 2010). Dietary patterns were established with factor analysis in 5,217 subjects, who answered a questionnaire on food consumption frequency. The relationship between excess weight and adherence to quartiles in the patterns was established with binomial regression.

**Results:** The prevalence of excess weight was 47.4% in men (95% CI: 44.7; 50.0) and 57.1% in women (95% CI: 54.9; 59.3, p<0.0001). Three patterns were established: protein/fiber, sandwich/snack and traditional/starch. When the models were adjusted for age, sex and level of food security in the home, the protein/fiber and traditional/starch patterns were found to be associated with excess weight (test of linear trend for quartiles of adherence, p=0.007 and p=0.001, respectively). Neither the

#### Contribución de los autores:

Óscar F. Herrán y Gonzalo A. Patiño: análisis de datos

Sara E. Del Castillo: líder de la recolección de los datos

Todos los autores participaron en la concepción y el diseño del estudio, en el diseño de los instrumentos, en la organización del operativo de campo y en la escritura del manuscrito.



frequency of consumption of carbonated and sugary drinks, with an adjusted relative risk of 100 (95% CI: 93 - 109;  $p=0.913$ ), nor that of fast food with 102 (95% CI: 89; 117;  $p=0.759$ ) were associated with excess weight.

**Conclusions:** Excess weight increases constantly with age, particularly in women, and is associated positively with indicators of socioeconomic status and subjects changing from the traditional/starch pattern to the protein/fiber one.

**Key words:** Feeding behavior, food habits, obesity, adult, Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2579>

En Colombia, los conceptos de transición epidemiológica, demográfica y nutricional están ampliamente aceptados, y se cuenta con datos de diversas encuestas nacionales que se estudian cada vez con mayor frecuencia y confiabilidad (1,2). Sin embargo, debido a la dificultad técnica, logística y financiera que implican los estudios en los que se estima el consumo en la dieta (3), el concepto de transición alimentaria se ha estudiado poco. Dicha transición está íntimamente ligada a las otras tres, coexiste con ellas y se determinan mutuamente (1-5).

La transición alimentaria, según Popkin, corresponde al conjunto de cambios alimentarios relacionados con las diversas fases de desarrollo socioeconómico de las sociedades (4,5). Monteiro plantea que se trata de una consecuencia no deseada del desarrollo tecnológico en la industria de los alimentos (6-8); desde la perspectiva económica de Sen, dicha transición se plantea como un efecto particular del nivel de democracia de una sociedad (9) y otros investigadores proponen que es consecuencia del nivel de ingresos, de la oferta y la demanda de alimentos, del cambio en el patrón de consumo de alimentos, o de su desaparición o reemplazo por otros contrarios a la tradición alimentaria (10-13). La transición alimentaria también se asocia con el efecto no deseado del aumento en el consumo de algunos alimentos o grupos de alimentos, como las gaseosas y los refrescos azucarados, la denominada comida rápida y el azúcar, así como con el desequilibrio general en el consumo de grasas, carbohidratos y proteínas (11,14,15).

Correspondencia:

Óscar Fernando Herrán, Carrera 32 N° 29-31, oficina 304 (CIE), Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia  
Telefax: (577) 634 5781  
[herran@uis.edu.co](mailto:herran@uis.edu.co)

Recibido: 19/10/14; aceptado: 20/08/15

Además de sus implicaciones culturales, socio-políticas y económicas, la transición alimentaria cobra una mayor relevancia en una sociedad en la medida en que uno de sus principales efectos es el exceso de peso (1-15). En América Latina y en Colombia, el exceso de peso ha venido aumentando de manera sostenida en las últimas décadas (16-18). Entre 2005 y 2010, el exceso de peso en Colombia aumentó entre 4 y 7 %, y más rápidamente en las poblaciones pobres y las áreas urbanas (18): según la Encuesta Nacional de la Situación Alimentaria, 2010 (ENSIN-2010), uno de cada dos colombianos tenía exceso de peso (17). El exceso de peso es un indicador en la aparición de enfermedades crónicas no transmisibles, incluida la diabetes mellitus, todas las enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (19-21), y se sabe que, en general, las transiciones afectan significativamente la sostenibilidad financiera de los sistemas de salud (22).

En este sentido, la presente investigación se propuso establecer la prevalencia del exceso de peso en adultos colombianos entre los 18 y los 64 años de edad, identificar su patrón de consumo de alimentos y establecer la relación entre este y el exceso de peso.

## Materiales y métodos

### *Población de estudio*

El Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (ICBF) hizo la ENSIN-2010 con una metodología publicada oportunamente (17), mediante la cual se seleccionaron los participantes para que representaran el 99 % de la población con base en un muestreo estratificado en múltiples etapas. Todos los municipios de los 32 departamentos del país se agruparon en estratos con características sociodemográficas similares. Los estratos quedaron representados por municipios seleccionados aleatoriamente y se mantuvo la probabilidad proporcional del tamaño del estrato. En cada estrato se conformaron grupos de 10 hogares escogidos aleatoriamente, cuyos integrantes fueron invitados a participar. En la encuesta se incluyeron 50.670 hogares.

### **Medición de la frecuencia de consumo**

En la ENSIN-2010 se utilizó un cuestionario de frecuencia de consumo en el mes anterior con diez categorías de respuesta para estimar la frecuencia del consumo de 30 alimentos o grupos de alimentos y tres prácticas relacionadas. Los detalles del diseño del cuestionario, ya publicados (17), contemplaban una lista de verificación derivada de los resultados de la ENSIN-2005 y del perfil epidemiológico del país (16).

Para el análisis se excluyeron dos alimentos por ser de consumo exclusivo de algunos niños en los programas del ICBF ('bienestarina' y otras mezclas vegetales), así como las tres prácticas de interés en salud pública. El cuestionario se diligenció mediante una entrevista directa a cargo de nutricionistas dietistas y las respuestas se registraron directamente en computadoras portátiles.

El ICBF obtuvo el consentimiento informado de los participantes antes de su participación en la encuesta (17).

### **Determinación de los patrones de consumo**

Las categorías de respuestas del cuestionario se convirtieron en una variable continua (frecuencia diaria) utilizando divisores apropiados para expresar la frecuencia del consumo en unidades de tiempo correspondientes a "día" (3,23-25). Con base en el análisis de factores, se establecieron tres patrones de consumo a partir de los 28 ítems de alimentos y la frecuencia de su consumo diario (26); para cada factor se establecieron luego los puntajes de inclusión en dichos patrones (puntaje estandarizado) con base en las cargas factoriales y la frecuencia del consumo diario de los ítems que lo componían y, por último, cada patrón de consumo de alimentos se categorizó en cuartiles.

Los detalles del análisis factorial, así como la bondad de ajuste del modelo factorial, se pueden solicitar a los autores.

### **Muestra**

Las prácticas de interés en nutrición y salud pública se reflejaron en el cuestionario en una selección de la muestra compuesta por 17.897 sujetos entre los 5 y los 64 años de edad. Para el presente análisis se eligieron los adultos entre los 18 y los 64 años ( $n=7.138$ ), y se excluyeron las mujeres embarazadas ( $n=41$ ). Para garantizar datos plausibles del índice de masa corporal (IMC,  $\text{kg}/\text{m}^2$ ), el análisis se limitó a los sujetos con talla de

más de 100 cm y de menos de 200 cm, y con peso mayor de 40 kg y menor de 200 kg. La selección de la muestra analizada fue de 5.217 sujetos.

### **Mediciones antropométricas**

Las medidas antropométricas se obtuvieron mediante técnicas estandarizadas e instrumentos calibrados. La talla se midió con un estadiómetro con sensibilidad de un milímetro (Diseños Flores S.R., Ltda., Bogotá, Colombia) y, el peso, con básculas con sensibilidad de 100 g (SECA 872). El sobrepeso se definió como un IMC entre 25 y 29  $\text{kg}/\text{m}^2$ , y la obesidad como un IMC de más de 30  $\text{kg}/\text{m}^2$ . El exceso de peso correspondió a la suma del sobrepeso y la obesidad ( $\text{IMC} \geq 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ ).

### **Evaluación socioeconómica**

La seguridad alimentaria se determinó a partir de una versión modificada y validada en Colombia del *Community Childhood Hunger Identification Project* (27). La etnia se estableció con base en el propio reconocimiento del sujeto. El índice de riqueza se midió utilizando la Encuesta de Demografía y Salud (28). Este índice continuo se categorizó por quintiles y midió la riqueza del hogar con base en varios indicadores agrupados según el análisis de componentes principales (17,28).

### **Análisis estadístico**

Los principales resultados de interés fueron la prevalencia del exceso de peso (sobrepeso + obesidad), las razones de prevalencia ajustadas del riesgo de exceso dadas las características sociodemográficas, las razones de prevalencia ajustadas del consumo (sí o no) de los 28 ítems de la lista de verificación para tener exceso, y el sesgo relativo de la frecuencia de consumo diario de cada ítem del cuestionario de frecuencia de consumo entre quienes tenían exceso de peso y aquellos que no. Además, se estableció la relación entre los patrones de consumo y el exceso de peso. Para este análisis en particular, es decir, el de la influencia de los alimentos y los patrones de consumo de alimentos en el exceso de peso entre los 5.217 sujetos, se incluyeron solo 5.010 después de excluir a aquellos que estaban practicando alguna dieta prescrita por un profesional de la salud ( $n=207$ ).

Todos los estimados e intervalos de confianza de 95 % ( $\text{IC}_{95\%}$ ), se calcularon incorporando el diseño complejo de la muestra mediante el programa Stata®, versión 13 (Stata Corporation, College Station, TX) (29). Las razones de prevalencia y sus

intervalos de confianza de 95 %, se ajustaron en un modelo de regresión binomial tomando el exceso de peso como variable dependiente y algunas de las variables incluidas en la encuesta como factores predictores: el sexo, la edad, la etnia, la educación del jefe del hogar, el índice de riqueza, la inseguridad alimentaria del hogar, el consumo de los alimentos, el patrón de consumo de alimentos, el área y las regiones geográficas. Además, todos los valores de  $p$  se calcularon utilizando el test de tendencia lineal para los factores predictores nominales, ordinales o un análisis de varianza (ANOVA). Este estudio es complementario de otro llevado a cabo en menores entre los 5 y los 17 años de edad (30).

### Resultados

La edad de los hombres estudiados fue de 37,7 años + 0,01 (promedio + error estándar) y, la de las mujeres, de 38,5 + 0,01, con una diferencia por el sexo de  $p \leq 0,0001$ . La prevalencia de sobrepeso fue de 36,9 % y, la de obesidad, de 15,9 %. La prevalencia de exceso de peso en los hombres entre los 18 y los 24 años fue de 24,7 %, y en las mujeres, de 27,0 % (razón de prevalencia,  $RP=1,13$ ;  $IC_{95\%}$  0,80-1,54;  $p=0,503$ ). En los hombres y las mujeres entre los 60 y los 64 años, fue de 62,6 y 71,7 %, respectivamente ( $RP=1,51$ ;  $IC_{95\%}$  0,84-2,73;  $p < 0,0001$ ).

El riesgo de exceso de peso aumentó de manera sostenida con el aumento de la edad: entre los 30 y los 34 años el riesgo fue de más de 50 % y, entre los 60 y los 64 años, de 68 % (cuadro 1). En los participantes entre los 55 y los 59 años, el riesgo de exceso de peso con respecto a los de 18 a 24 años fue siete veces más alto ( $RP=6,83$ ;  $IC_{95\%}$  4,86-9,60) (cuadro 1). En las figuras 1 y 2 se resumen estos hallazgos. Los valores de los niños entre los 5 y los 17 años provienen de un estudio complementario (30).

### Factores sociodemográficos determinantes del exceso de peso en adultos

En el análisis bivariado, el sexo, la edad, el nivel de riqueza, la inseguridad alimentaria y el área geográfica se asociaron con el exceso de peso (cuadro 1). Después de ajustar mediante un análisis multivariado, las mujeres continuaron registrando más riesgo de exceso de peso ( $RP$  ajustada=1,42;  $IC_{95\%}$  1,23-1,64;  $p < 0,0001$ ). La edad, el nivel de riqueza del hogar y la residencia en áreas urbanas de grandes ciudades, se asociaron positivamente al exceso de peso ( $p < 0,0001$ ).

En los hogares con inseguridad alimentaria se presentó menos exceso de peso ( $p < 0,0001$ ). La población dispersa presentó menor riesgo de exceso de peso con relación a las áreas urbanas de las grandes ciudades ( $RP$  ajustada=0,66;  $IC_{95\%}$  0,50-0,88;  $p=0,017$ ).

### Alimentos asociados al exceso de peso

La proporción y las cargas factoriales de cada alimento o grupo de alimentos se presentan en el cuadro 2. Los alimentos bajos en calorías fueron los de menor consumo (9,4 %) y el arroz o la pasta registraron el mayor (99,5 %). La proporción del consumo de carnes rojas ( $RP$  ajustada=1,94;  $IC_{95\%}$  1,30-2,90;  $p=0,001$ ), de alimentos integrales ( $RP$  ajustada=1,29;  $IC_{95\%}$  1,05-1,59;  $p=0,016$ ) y de verduras crudas ( $RP$  ajustada=1,21;  $IC_{95\%}$  1,00-1,47;  $p=0,047$ ) fue mayor en los adultos con exceso de peso. La proporción de alimentos de paquete ( $RP$  ajustada=0,83;  $IC_{95\%}$  0,71-0,98;  $p=0,031$ ) se asoció de manera inversa con el exceso de peso (cuadro 2).

Al explorar la asociación entre la frecuencia diaria del consumo y el exceso de peso, se encontró que la frecuencia del consumo de pollo o gallina y de pescados o mariscos, se asociaba positivamente al exceso de peso. La frecuencia del consumo diario de pan, galletas o arepa, de arroz o pasta y de granos secos, se asoció inversamente con el exceso de peso. La frecuencia del consumo de gaseosas y refrescos azucarados o de comidas rápidas, se asoció al exceso de peso (cuadro 2).

### Patrón de consumo de alimentos y exceso de peso

Se establecieron tres patrones de consumo: proteína-fibra (12 ítems), bocadillo-*snack* (siete ítems) y tradicional-almidón (nueve ítems). En el análisis bivariado y al ajustar por edad y sexo, el patrón de consumo de proteína-fibra presentó una asociación positiva con el exceso de peso (test de tendencia lineal para la inclusión en los cuartiles,  $p < 0,0001$ ). Para el patrón de consumo tradicional-almidón, la asociación fue inversa tanto en el análisis bivariado como al ajustar por edad y sexo (test de tendencia lineal para la inclusión en los cuartiles,  $p < 0,0001$ ). Al ajustar los modelos por la edad, el sexo y el nivel de seguridad alimentaria del hogar, los patrones de consumo de proteína-fibra y tradicional-almidón mantuvieron la asociación (test de tendencia lineal para la inclusión en los cuartiles,  $p=0,007$  y  $p=0,001$ , respectivamente) (cuadro 3).

**Cuadro 1.** Asociación entre las variables sociodemográficas y el exceso de peso y la obesidad en adultos entre los 18 y los 64 años de edad en Colombia

Característica	n <sup>b</sup>	Adultos con sobrepeso u obesidad <sup>c</sup>		Razón de prevalencia ajustada (IC <sub>95%</sub> ) <sup>e</sup>	p <sup>f</sup>
		%	p <sup>d</sup>		
Sexo			<0,0001		<0,0001
Hombre	2.309	47,4		1	
Mujer	2.908	57,1		1,42 (1,23-1,64)	
Edad (años)			<0,0001		<0,0001
18 a 24	1.070	25,9		1	
25 a 29	662	40,1		1,93 (1,48-2,51)	
30 a 34	628	53,8		3,31 (2,52-4,35)	
35 a 39	588	58,7		4,23 (3,21-5,59)	
40 a 44	588	64,0		5,20 (3,91-6,90)	
45 a 49	543	64,3		5,50 (4,16-7,27)	
50 a 54	458	66,9		5,98 (4,41-8,11)	
55 a 59	364	70,6		6,83 (4,86-9,60)	
60 a 64	316	67,6		6,31 (4,41-9,03)	
Etnia			0,497		0,733
Indígena	487	51,7		1,12 (0,88-1,51)	
Rom, raizal, palenquero	71	49,2		0,57 (0,16-2,01)	
Negro, mulato, afro	561	51,0		0,98 (0,77-1,25)	
Ninguna de las anteriores	4.098	53,1		1	
Activo físicamente			0,038		0,022
No	101	63,7		1,85 (1,09-3,13)	
Sí	241	52,3		1	
Educación del jefe del hogar			0,127		0,249
Preescolar o menos	375	52,2		1	
Primaria	2.293	51,6		1,04 (0,76-1,42)	
Secundaria	1.777	53,0		1,12 (0,81-1,55)	
Tecnológica o universitaria	725	56,2		1,17 (0,81-1,69)	
Índice de riqueza			<0,0001		0,258
Q1	1.382	42,9		1	
Q2	1.207	49,8		1,27 (1,00-1,61)	
Q3	1.064	53,3		1,33 (1,00-1,76)	
Q4	857	57,6		1,55 (1,15-2,10)	
Q5	707	58,2		1,54 (1,12-2,12)	
Inseguridad alimentaria del hogar			<0,0001		<0,0001
No	2.011	56,4		1	
Leve	1.951	51,2		0,80 (0,68-0,95)	
Moderada	758	52,3		0,82 (0,64-1,04)	
Grave	495	42,1		0,54 (0,41-0,72)	
Área geográfica			<0,0001		0,017
Área urbana de ciudades	3.712	55,4		1	
Ciudades intermedias, poblados	893	47,9		0,89 (0,66-1,18)	
Población dispersa	612	41,9		0,66 (0,50-0,88)	
Región del país			0,130		0,444
Bogotá	355	56,3		1,07 (0,81-1,41)	
Central	1.360	50,8		1	
Atlántica (norte)	1.145	51,9		1,12 (0,90-1,40)	
Territorios nacionales (sur)	838	55,2		1,33 (1,02-1,72)	
Oriental	703	52,5		1,10 (0,87-1,38)	
Pacífica (occidente)	816	53,3		1,15 (0,92-1,43)	

Todos los análisis incorporaron el diseño complejo de la muestra.

<sup>a</sup> Encuesta Nacional de la Situación Alimentaria y Nutricional (ENSIN-2010) (17)

<sup>b</sup> El número (n) puede ser menor de 5.217 debido a pérdidas.

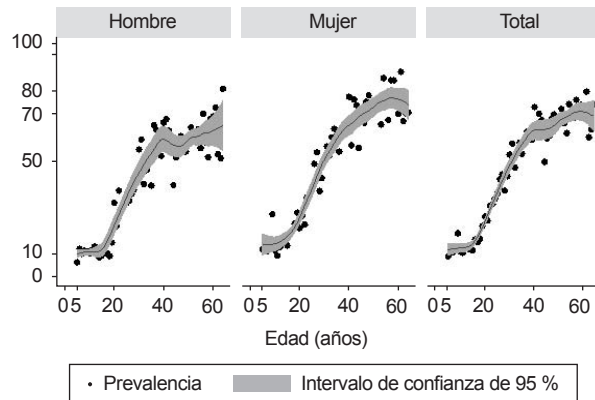
<sup>c</sup> De acuerdo con el índice de masa corporal

<sup>d</sup> Test de tendencia lineal

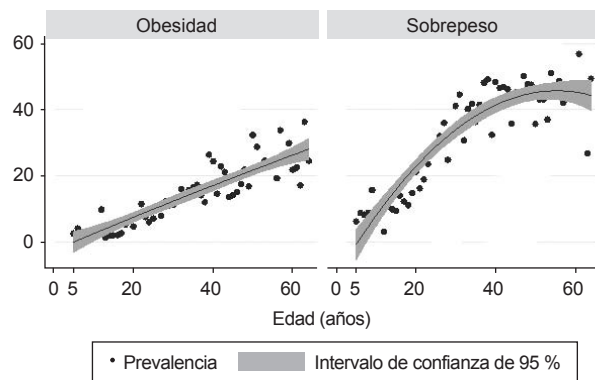
<sup>e</sup> Razones de prevalencia. El intervalo de confianza de 95 % (IC<sub>95%</sub>) se obtuvo a partir de un modelo de regresión binomial con el sobrepeso o la obesidad como variable dependiente. En las estimaciones correspondientes a la educación, se excluyeron el índice de riqueza y la seguridad alimentaria porque pueden ser parte de las causas. En las estimaciones del índice de riqueza, se excluyó la seguridad alimentaria y, en las de esta, el primero.

<sup>f</sup> Test de tendencia lineal en los predictores ordinales. En cuanto al área geográfica, la región y la etnia, el valor de p se calculó mediante un análisis de varianza (ANOVA).





**Figura 1.** Prevalencia (%) de exceso de peso. ENSIN-2010, Colombia. Nota: Prevalencia total: hombres y mujeres de 5 a 64 años. Exceso de peso en los participantes de 18 años de edad o más:  $IMC \geq 25$ ; en menores de 18 años establecido con base en el *International Obesity Task Force* (30)



**Figura 2.** Prevalencia (%) de obesidad y sobrepeso ENSIN-2010, Colombia. Nota: Prevalencia total: hombres y mujeres de 5 a 64 años. Sobrepeso:  $IMC \geq 25$ ; obesidad:  $IMC \geq 30$ ; en menores de 18 años el sobrepeso se estableció con base en el *International Obesity Task Force* (30).

## Discusión

Dado que cuando responden a un cuestionario de frecuencia de consumo, los sujetos obesos tienden a no reportar todos los alimentos que consideran como “no saludables”, y a reportar de forma exagerada aquellos valorados como “saludables” (3,23), se exploró la relación del exceso de peso con los alimentos de dos formas diferentes.

En la primera, se estableció la relación con la proporción del consumo del alimento (sí o no) y se encontró que el reporte exagerado explicaba las relaciones positivas entre el exceso de peso y el consumo de verduras crudas, los alimentos integrales y las carnes rojas, en tanto que el subregistro reflejaba la relación inversa con el consumo de alimentos de paquete.

En la segunda, al explorar la relación con la frecuencia diaria del consumo, apareció el sesgo de reporte exagerado frente al consumo de pollo o gallina y de pescados o mariscos. El sesgo del subregistro apareció para el consumo de arroz o pasta y de granos secos.

En los adultos, el registro menor o mayor al real sobre el tamaño de las porciones y la frecuencia de consumo, se relacionaron estrechamente con el peso corporal (3,23,31,32). El estudio de los sesgos en el informe que los propios participantes daban sobre su dieta es relevante, en la medida en que el exceso de peso es la variable más determinante del subregistro; el sesgo es, además, sistemático y diferencial, y diluye el efecto del consumo en la dieta sobre las variables de interés.

La frecuencia diaria de consumo de arroz o pasta y de granos secos se asoció de manera inversa con el exceso de peso; sin embargo, no es fácil afirmar si esto obedeció a un sesgo de información u a otra razón. Las personas que más frecuentemente consumían granos secos, arroz o pasta, eran los más pobres, por lo que su dieta era monótona y dependía de este tipo de alimentos. Además, estos alimentos hacían parte del patrón tradicional-almidón, que protege contra el exceso de peso.

Otra explicación plausible es que los sujetos obesos realmente consumieran más verduras cocidas, alimentos integrales, pollo y carnes rojas, y menos pan, arroz o pasta y granos secos, como una forma de combatir su exceso de peso, lo que constituye una práctica común documentada empíricamente en adultos colombianos, quienes como legado de la dieta de Atkins (33) dejan de consumir o disminuyen la frecuencia del consumo de lo que se denomina “harinas” y aumentan el consumo de alimentos que son fuente de proteínas.

En este estudio se examinó el exceso de peso en adultos entre los 18 y los 64 años y su relación con algunas variables sociodemográficas, y los alimentos y grupos de alimentos incluidos en tres patrones de consumo. El riesgo de exceso de peso fue de 42 % y fue mayor en las mujeres. Según la ENSIN-2005, en Colombia el riesgo de exceso de peso era entonces de 24 %, sobre todo en las mujeres (16). En la encuesta nacional de salud y nutrición de México en 2012, el exceso de peso en adultos de 20 y más años fue de 71,4 %, con predominio en las mujeres (34). Según datos del periodo de 2005 a 2009, el exceso de peso en adultos argentinos era de 53,4 % (35). En Perú, entre 2009 y 2010, el exceso de peso en hombres

**Cuadro 2.** Alimentos que componen los tres patrones de consumo establecidos para adultos de los 18 a los 64 años, en Colombia<sup>a</sup>, con su carga factorial y la asociación con el exceso de peso<sup>b</sup>

Alimento o grupo de alimentos	Porcentaje de consumo	Carga factorial <sup>c</sup>	Razón de prevalencia ajustada <sup>d</sup> (IC <sub>95%</sub> ) <sup>d</sup>	p <sup>e</sup>	Sesgo relativo (%) ajustado Frecuencia/día <sup>f</sup> (IC <sub>95%</sub> ) <sup>g</sup>	p <sup>h</sup>
<b>Patrón de consumo de proteína-fibra</b>						
Frutas en jugo	88,8	0,53	1,04 (0,82-1,33)	0,731	103 (94-112)	0,527
Leche (líquida o en polvo) sola o en preparación	90,8	0,41	0,67 (0,70-1,13)	0,288	98 (91-106)	0,651
Queso, kumis, yogur, queso crema o suero costeño	82,2	0,41	0,99 (0,81-1,20)	0,883	102 (94-111)	0,521
Verduras crudas (tomate, lechuga, repollo, zanahoria, etc.)	83,1	0,46	1,21 (1,00-1,47)	0,047	108 (98-119)	0,132
Verduras cocidas (ahuyama, acelga, zanahoria, espinaca, habichuela, brócoli, coliflor, etc.)	72,7	0,41	1,09 (0,93-1,29)	0,613	97 (88-107)	0,551
Frutas enteras	82,4	0,43	1,05 (0,85-1,28)	0,655	106 (98-114)	0,166
Pan, arepa o galleta	98,6	0,25	1,41 (0,92-2,18)	0,117	87 (79-97)	0,011
Alimentos integrales (pan, arroz, galletas, etc.)	22,5	0,35	1,29 (1,05-1,59)	0,016	102 (87-119)	0,838
Pollo o gallina	94,2	0,25	1,18 (0,85-1,64)	0,314	111 (101-122)	0,031
Morcilla o vísceras de res (hígado, pajarilla, riñón, etc.)	46,5	0,17	1,01 (0,87-1,18)	0,887	98 (86-112)	0,808
Alimentos bajos en calorías	9,4	0,25	1,19 (0,90-1,57)	0,233	119 (95-149)	0,139
Atún o sardinas	65,7	0,13	1,05 (0,90-1,24)	0,519	95 (84-108)	0,448
<b>Patrón de consumo de bocadillo-snack</b>						
Alimentos de paquete (papas, chitos, patacones, tocineta, etc.)	43,3	0,46	0,83 (0,71-0,98)	0,031	98 (87-110)	0,668
Golosinas o dulces	53,6	0,40	0,87 (0,74-1,02)	0,084	104 (95-114)	0,383
Gaseosas o refrescos (en polvo, caja, botella)	72,3	0,47	0,99 (0,76-1,19)	0,914	100 (93-109)	0,913
Alimentos de comida rápida (hamburguesa, perro, pizza, tacos, etc.)	42,6	0,42	1,06 (0,89-1,26)	0,535	102 (89-117)	0,759
Mantequilla, crema de leche, manteca de cerdo	28,2	0,11	0,81 (0,68-0,97)	0,019	92 (80-105)	0,221
Menudencias de pollo	44,1	0,08	0,87 (0,74-1,01)	0,072	96 (84-108)	0,493
Embutidos (salchichas, jamón, mortadela, butifarra)	64,1	0,44	1,13 (0,96-1,34)	0,139	97 (88-107)	0,572
<b>Patrón de consumo tradicional-almidón</b>						
Panela, azúcar, miel	97,3	0,47	1,03 (0,59-1,80)	0,928	97 (83-113)	0,710
Arroz o pasta	99,5	0,46	1,33 (0,55-3,18)	0,527	73 (63-85)	<0,0001
Alimentos fritos (papa frita, carne frita, plátano frito, etc.)	92,6	0,43	1,10 (0,83-1,47)	0,499	96 (88-105)	0,358
Granos secos (frijol, arveja, garbanzo, lenteja, soya, habas)	94,9	0,33	0,72 (0,51-1,00)	0,053	83 (76-92)	<0,0001
Tubérculos o plátano	98,9	0,27	0,73 (0,35-1,51)	0,393	100 (90-110)	0,936
Huevos	95,6	0,33	1,38 (0,97-1,96)	0,076	90 (82-100)	0,051
Carne de res, ternera, cerdo, chigüiro, conejo, cabro, curí	96,1	0,31	1,94 (1,30-2,90)	0,001	102 (93-112)	0,676
Pescados o mariscos	65,0	-0,17	1,13 (0,97-1,33)	0,123	115 (105-126)	0,002
Café o té	80,5	0,21	1,20 (0,99-1,45)	0,064	98 (89-108)	0,700

Todos los análisis incorporaron el diseño complejo de la muestra.

<sup>a</sup> Encuesta Nacional de la Situación Alimentaria y Nutricional (ENSIN-2010) (17); 5.010 (n) adultos que respondieron la encuesta sobre prácticas alimentarias de interés en salud pública y que no estaban haciendo dieta.

<sup>b</sup> De acuerdo con el índice de masa corporal

<sup>c</sup> Con base en el análisis de factores con rotación Promax

<sup>d</sup> Razones de prevalencia ajustadas e intervalo de confianza de 95 % (IC<sub>95%</sub>) obtenidas con base en un modelo de regresión binomial en el que el sobrepeso o la obesidad fue la variable dependiente para explicar el consumo del alimento o grupo de alimentos (sí o no), y el sexo, la edad y el nivel de riqueza fueron las covariables.

<sup>e</sup> Test para la diferencia de proporciones del consumo (sí o no)

<sup>f</sup> Sesgo ajustado de la diferencia media de la frecuencia diaria de consumo (media de los sujetos con exceso de peso - media de los sujetos sin exceso), estimado con base en los valores logarítmicos de la frecuencia diaria del consumo

<sup>g</sup> El intervalo de confianza de 95 % (IC<sub>95%</sub>) equivalió a los límites de acuerdo para el sesgo de la diferencia media de la frecuencia diaria del consumo, con base en un modelo de regresión binomial en el cual el sobrepeso o la obesidad fue la variable dependiente, la frecuencia diaria del consumo del alimento o grupo de alimentos, la variable explicativa, y el sexo, la edad y el índice de riqueza fueron las covariables utilizando valores logarítmicos de la frecuencia diaria del consumo.

<sup>h</sup> Test para la diferencia de medias

**Cuadro 3.** Asociación entre los tres patrones alimentarios y el exceso de peso y la obesidad en adultos entre los 18 y los 64 años de edad en Colombia<sup>a</sup>

Inclusión en el patrón de dieta	n	Adultos con sobrepeso u obesidad <sup>b</sup> % (n)	Razón de prevalencia sin ajustar (IC <sub>95%</sub> ) <sup>c</sup>	p <sup>d</sup>	Razón de prevalencia ajustada Modelo 1 (IC <sub>95%</sub> ) <sup>e</sup>	p <sup>d</sup>	Razón de prevalencia ajustada Modelo 2 (IC <sub>95%</sub> ) <sup>e</sup>	p <sup>d</sup>
Patrón proteína-fibra				<0,0001		<0,0001		0,007
Q1	1.115	45,5 (507)	1,00		1,00		1,00	
Q2	1.312	50,5 (663)	1,11 (0,98-1,25)		1,14 (1,02-1,27)		1,23 (0,97-1,57)	
Q3	1.305	52,5 (685)	1,15 (1,02-1,30)		1,18 (1,06-1,31)		1,31 (1,03-1,67)	
Q4	1.278	57,2 (731)	1,26 (1,12-1,41)		1,20 (1,09-1,33)		1,41 (1,11-1,79)	
Patrón bocadillo- <i>snack</i>				<0,0001		0,170		0,300
Q1	2.097	60,8 (1275)	1,00		1,00		1,00	
Q2	1.376	50,1 (689)	0,82 (0,76-0,89)		0,99 (0,90-1,09)		0,86 (0,71-1,03)	
Q3	884	48,3 (427)	0,79 (0,72-0,88)		0,88 (0,76-1,01)		0,97 (0,77-1,22)	
Q4	653	37,3 (244)	0,61 (0,53-0,71)		0,88 (0,76-1,01)		0,84 (0,65-1,09)	
Patrón tradicional				<0,0001		<0,002		0,001
Q1	1.229	58,3 (717)	1,00		1,00		1,00	
Q2	1.262	55,2 (697)	0,95 (0,87-1,04)		0,97 (0,90-1,05)		0,97 (0,78-1,21)	
Q3	1.226	51,0 (625)	0,88 (0,80-0,96)		0,93 (0,85-1,00)		0,82 (0,66-1,02)	
Q4	1.293	50,0 (647)	0,77 (0,70-0,86)		0,87 (0,79-0,96)		0,71 (0,57-0,89)	

Q1: menor número de participantes incluidos

Todos los análisis incorporaron el diseño complejo de la muestra.

<sup>a</sup> Encuesta Nacional de la Situación Alimentaria y Nutricional (ENSIN-2010); número (n) = 5.010 adultos que respondieron la encuesta de prácticas alimentarias de interés en salud pública y que no estaban en dieta (17)

<sup>b</sup> De acuerdo con el índice de masa corporal

<sup>c</sup> Razón de prevalencia sin ajustar. El intervalo de confianza de 95 % (IC<sub>95%</sub>) se obtuvo a partir de un modelo de regresión binomial en el que el sobrepeso o la obesidad fue la variable dependiente.

<sup>d</sup> Test para la tendencia lineal

<sup>e</sup> Razón de prevalencia ajustada. El intervalo de confianza de 95 % se obtuvo a partir de un modelo de regresión binomial en el cual el sobrepeso o la obesidad fue la variable dependiente. En el Modelo 1 las covariables fueron el sexo y la edad, y en el Modelo 2, el sexo, la edad y la seguridad alimentaria del hogar.

y mujeres entre los 20 y los 29 años era de 37,6 y 41,7 %, respectivamente, y entre los 30 y los 59 años, de 58,8 % en los hombres y de 65,8 % en las mujeres (36). En 2012 en Brasil, el exceso de peso entre los hombres era de 54 % y de 48 % en las mujeres (37). En Estados Unidos, según datos del periodo 2009-2010, la prevalencia de exceso de peso en adultos de 20 y más años fue de 68,8 %, con mayor riesgo en los hombres, quienes igualaron el riesgo de las mujeres en una década (38). En Chile, entre 2009 y 2010, en el grupo de 15 y más años el exceso de peso era de 64,5 %, sin diferencias por sexo (13,39). La asociación positiva con indicadores socioeconómicos como el índice de riqueza y la escolaridad del jefe del hogar, se reportó en las encuestas de estos países (34-40) y en Colombia, en los estudios de Villamor, *et al.* (41,42), Kasper, *et al.* (18), y Ocampo, *et al.* (18,30).

Se ha establecido que la prevalencia de exceso de peso es mayor en las áreas urbanas que en las rurales (5,18 30,34-42), diferencia que también se encontró en este estudio y coincide con los hallazgos reportados recientemente para otros grupos poblacionales en Colombia (43), así como

con lo descrito por Popkin (4,5). La información señala que, a diferencia de lo que ocurre en los países desarrollados, en los países de ingreso bajo y medio el exceso de peso se evidencia en las personas con menor nivel de crecimiento económico e independientemente del nivel de urbanización del país (12,44). En Colombia se ha encontrado que el exceso de peso aumenta más rápido en las zonas pobres y en las áreas urbanas (18,30,41-44), y en este estudio, se evidenció la homogeneización del riesgo del exceso de peso en las áreas urbanas de las grandes ciudades y su generalización en las ciudades intermedias y centros poblados.

Un interés particular de este estudio fue establecer la asociación de las bebidas gaseosas y los refrescos azucarados con el exceso de peso. Los numerosos estudios que se han llevado a cabo presentan resultados contradictorios sobre si el azúcar que se agrega a estas bebidas produce ganancia de peso. La mayoría de los estudios se han hecho en niños y adolescentes, pero, al igual que en los estudios en adultos, los resultados no son concluyentes (11).

En el presente estudio no se encontró una diferencia en la frecuencia media ni en la prevalencia del consumo de gaseosas y refrescos azucarados entre los sujetos con exceso de peso y los que no lo tenían. Sin embargo, en el estudio complementario hecho en menores entre los 5 y los 17 años de edad, se encontró que aquellos con exceso de peso consumían más frecuentemente estas bebidas (30). La valoración del efecto del consumo de bebidas adicionadas con azúcar en el IMC, requiere del control de múltiples variables de confusión (más de las estimadas en la ENSIN-2010), que pueden contribuir a la obesidad. Además, no puede olvidarse el papel determinante que tiene el tamaño de la porción para profundizar en el análisis con base en la ecuación ingestión-gasto-necesidad. Lo reportado aquí apunta en sentido contrario a lo informado en otros estudios en los cuales se ha establecido un aumento en el riesgo del exceso de peso por el consumo de gaseosas y refrescos azucarados (14,45). Como ya se advirtió, los resultados son contradictorios y algunos estudios en países desarrollados no han evidenciado la relación entre el exceso de peso en adultos y el consumo de gaseosas y bebidas azucaradas (14). En niños escolares estudiados en una cohorte en Bogotá, tampoco se encontró una asociación entre la frecuencia de la ingestión de gaseosa y la prevalencia de exceso de peso (41,42).

La prevalencia de exceso de peso se asoció positivamente con el patrón de consumo de proteína-fibra e, inversamente, con el tradicional-almidón. Contrario a lo esperado, el exceso de peso no se asoció al patrón de consumo del patrón de bocadillo-*snack*. En países como Estado Unidos y el Reino Unido, los *snack* contribuyen con 20 a 25 % del total de la energía consumida en un día, pero no se ha podido establecer si su consumo está asociado a la ganancia de peso (11). En Colombia no se sabe qué porcentaje de la energía diaria es aportado por el consumo de los *snack*. Existen, además, otras dificultades metodológicas, ya que no hay una definición de *snack*, por lo que no se estudian los alimentos sino sus componentes por separado, por ejemplo, el azúcar, las grasas, la densidad energética, los almidones, etc. La ENSIN-2010 inquirió sobre los alimentos y se sabe que en estudios de corte transversal, como este, existe la posibilidad de que el bajo consumo de *snacks* aparezca como factor protector debido al sesgo de información, o porque en verdad su bajo consumo es la respuesta a la obesidad y no la causa (11).

En países desarrollados, como Estados Unidos y Japón, se han reportado dos patrones de consumo, uno “prudente” y otro denominado “occidental” (3). En Corea, recientemente se ha encontrado, además del patrón tradicional o “dieta coreana” y del patrón occidental, uno nuevo caracterizado por el bajo consumo de azúcar y el mayor consumo de frutas y de productos lácteos (46), en tanto que, en países menos desarrollados, se ha reportado el patrón “tradicional” (30,47).

En este estudio se encontraron tres patrones de consumo, de los cuales el patrón tradicional-almidón constituía un factor protector frente al exceso de peso; al parecer, las personas que abandonan este patrón comienzan a consumir proteínas y fibra, y dado que los alimentos que conforman el patrón tradicional-almidón son un poco más económico que los del patrón de proteína-fibra, este cambio reflejaría la transición alimentaria de los países cuando alcanzan mejores niveles de ingreso y de desarrollo (40), lo que quedaría ratificado por la asociación positiva entre el exceso de peso y el nivel de riqueza, y la asociación inversa entre el exceso de peso y la seguridad alimentaria del hogar. La relación directa entre la frecuencia diaria de consumo de carne y el exceso de peso, es otra forma de expresar la asociación positiva entre el exceso de peso y el nivel socioeconómico de la población.

La tesis planteada por Monteiro afirma que el problema no son los alimentos, ni los nutrientes, sino su nivel de procesamiento (6-8). El patrón de consumo de alimentos tradicional-almidón está constituido exclusivamente por alimentos sin procesar o con muy poco procesamiento, mientras que, en el de proteína-fibra, 50 % de los alimentos tiene altos niveles de procesamiento. Así, en el caso de Colombia surgen varias preguntas en torno al problema del exceso de peso: ¿es el resultado de la transición de la alimentación natural a una dieta que incluye alimentos muy procesados?, ¿cuál es el aporte energético diario de los *snacks* a la dieta de la población colombiana?, ¿cuál es el efecto del desarrollo económico en el exceso de peso cuando persisten condiciones de desigualdades como las de Colombia?, y ¿cómo incorporar hallazgos como los de este estudio y otros anteriores en la política pública? (30). En México, por ejemplo, desde una perspectiva antropológica los cambios en la alimentación de la población indígena para hacerla “saludable” han desembocado en contradicciones fisiológicas y psicológicas que se expresan en contradicciones dietéticas y en la práctica alimentaria (48).



La inclusión de los adultos en los patrones de consumo de alimentos contemplados en este estudio, puede utilizarse como un indicador de seguridad e inseguridad alimentaria frente al riesgo del exceso de peso, y del impacto de las intervenciones orientadas al control del exceso de peso en la población.

En cuanto a los alcances y limitaciones del estudio, los datos que le sirvieron de base son representativos de la población colombiana en el marco de una encuesta nacional (ENSIN-2010). Sin embargo, por ser esta una encuesta transversal, no fue posible establecer relaciones causales entre el exceso de peso y los factores predictores sociodemográficos o los patrones de consumo de alimentos establecidos. El cuestionario de frecuencia de consumo fue respondido por los adultos mediante una entrevista, lo que pudo llevar a sesgos en la información y, consecuentemente, a una clasificación errónea de los sujetos. La ENSIN-2010 no midió la actividad física ni el consumo de energía en la población de estudio, dos variables que pueden ser parte de las causas del exceso de peso, así como factores de confusión que podrían haber justificado el ajuste de las asociaciones reportadas.

En conclusión, el exceso de peso aumentó de manera constante con la edad y más en las mujeres, y se asoció positivamente con los indicadores de estatus socioeconómico y con el cambio del patrón de consumo de alimentos tradicional-almidón al de proteína-fibra, así como con la frecuencia de consumo de verduras cocidas, pan, arepas o galletas, alimentos integrales, pollo o gallina, alimentos de paquete, arroz o pasta, alimentos fritos, granos secos, carnes rojas y pescados o mariscos. Al sesgar sus respuestas para algunos ítems, los sujetos evidenciaron que eran concientes de cuáles alimentos podían contarse entre las causas de su exceso de peso. Todo lo aquí reportado explica cómo la transición alimentaria que experimenta Colombia tiene efectos negativos sobre el estado nutricional de los adultos entre los 18 y los 64 años de edad.

### Agradecimientos

Las bases de datos de la ENSIN-2010 fueron suministradas por el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar de Colombia.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en torno al contenido de este manuscrito.

### Financiación

La preparación de las bases de datos y su análisis, así como a la elaboración del manuscrito, fueron cofinanciados por el Centro de Investigaciones Epidemiológicas de la Universidad Industrial de Santander (CIE-UIS), el Grupo de Investigación Observatorio Epidemiológico de Enfermedades Cardiovasculares, y el Observatorio de Seguridad Alimentaria y Nutricional de la Universidad Nacional de Colombia.

### Referencias

1. **Ramos-Clason C.** Transición epidemiológica en Colombia: de las enfermedades infecciosas a las no transmisibles. *Rev Cienc Biomed.* 2012;2:282-90.
2. **Martínez F, Fernández A.** Modelo de análisis de impacto social y económico de la desnutrición infantil en América Latina. Santiago de Chile: CEPAL-PMA; 2006. p. 17-30.
3. **Willet WC.** *Nutritional epidemiology.* Third edition. New York: Oxford University Press; 2013.
4. **Popkin BM.** The nutrition transition in low-income countries: An emerging crisis. *Nutr Rev.* 1994;52:285-98. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.1994.tb01460.x>
5. **Popkin BM, Adair LS, Ng SW.** Now and then: The global nutrition transition: The pandemic of obesity in developing countries. *Nutr Rev.* 2012;70:3-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00456.x>
6. **Monteiro CA.** Nutrition and health. The issue is not food, nor nutrients, so much as processing. *Public Health Nutr.* 2009;12:729-31. <http://dx.doi.org/10.1017/S1368980009005291>
7. **Monteiro CA.** All the harmful effects of ultra-processed foods are not captured by nutrient profiling. *Public Health Nutr.* 2009;12:1968. <http://dx.doi.org/10.1017/S1368980009005291>
8. **Monteiro CA, Levy RB, Claro RM, Ribeiro IR, Cannon G.** Increasing consumption of ultra-processed foods and likely impact on human health: Evidence from Brazil. *Public Health Nutr.* 2010;14:5-13. <http://dx.doi.org/doi:10.1017/S1368980010003241>
9. **Sen A.** Población, alimentos y libertad. En: *Desarrollo y libertad.* Bogotá: Editorial Planeta; 2001. p. 251-75.
10. **Hernández LO, Delgado-Sánchez G, Hernández-Briones A.** Cambios en factores relacionados con la transición alimentaria y nutricional en México. *Gac Méd Méx.* 2006;142:181-93.
11. **Swinburn BA, Caterson I, Seidell JC, James WP.** Diet, nutrition and the prevention of excess weight gain and obesity. *Public Health Nutr.* 2004;7:123-46.
12. **Drewnowski A, Popkin BM.** The nutrition transition: New trends in the global diet. *Nutr Rev.* 1997;55:31-43. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1753-4887.1997.tb01593.x>
13. **Vio F, Albala C, Kain J.** Nutrition transition in Chile revisited: Mid-term evaluation of obesity goals for the period 2000-2010. *Public Health Nutr.* 2008;11:405-12. <http://dx.doi.org/10.1017/S136898000700050X>

14. **Malik VS, Schulze MB, Hu FB.** Intake of sugar sweetened beverages and weight gain: A systematic review. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:274-88.
15. **Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD.** Effects of soft drink consumption on nutrition and health: A systematic review and meta-analysis. *Am J Public Health.* 2007;97:667-75. <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.2005.083782>
16. **Profamilia, Instituto Nacional de Salud, Universidad de Antioquía, Organización Panamericana de la Salud, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, ENSIN-2005. Fecha de consulta: 1 de octubre de 2013. Disponible en: <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortalICBF/NormatividadGestion/ENSIN1/ENSIN2005>.
17. **Profamilia, Instituto Nacional de Salud, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, ENSIN-2010. Fecha de consulta: 1 de octubre de 2013. Disponible en: <http://www.icbf.gov.co/portal/page/portal/PortalICBF/NormatividadGestion/ENSIN1/ENSIN2010>.
18. **Kasper NM, Herrán OF, Villamor E.** Obesity prevalence in Colombian adults is increasing fastest in lower socio-economic status groups and urban residents: Results from two nationally representative surveys. *Public Health Nutr.* 2014;11:2398-406. <http://dx.doi.org/10.1017/S1368980013003418>
19. **Ballard-Barbash R, Berrigan D, Potischman N, Dowling E.** Obesity and cancer epidemiology. In: Berger NA, editor. *Cancer and Energy Balance, Epidemiology and Overview.* New York: Springer; 2010.
20. **Polednak AP.** Estimating the number of U.S. incident cancers attributable to obesity and the impact on temporal trends in incidence rates for obesity-related cancers. *Cancer Detec Prev.* 2008;32:190-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cdp.2008.08.004>
21. **Nahhas GJ, Daguise V, Ortaglia A, Merchant AT.** Determinants of major cardiovascular risk factors among participants of the South Carolina WISEWOMAN Program, 2009–2012. *Prev Chronic Dis.* 2014;11:E153. <http://dx.doi.org/10.5888/pcd11.140044>
22. **Wang YC, McPherson K, Marsh T, Gortmaker SL, Brown M.** Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *Lancet.* 2011;378:815-25. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60814-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60814-3)
23. **Margetts BM, Nelson M.** Design concepts in nutritional epidemiology. Second edition. Oxford: Oxford University Press; 1996.
24. **Ardila MF, Herrán OF.** Desarrollo de un instrumento para medir la dieta en niños y adolescentes en la investigación epidemiológica. *Rev Bras Saúde Mater Infant.* 2012;12:365-74. <http://dx.doi.org/10.1590/S1519-38292012000400003>
25. **Herrán OF, Ardila MF, Rojas MP, Hernández GA.** Diseño de cuestionarios de frecuencia de consumo para estudiar la relación dieta-cáncer en Colombia. *Biomédica.* 2010;30:116-25. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v30i1.159>
26. **Hamilton LC.** Regression with graphics. A second course in applied statistics. California: DuxburyPress; 1991.
27. **Álvarez MC, Estrada A, Montoya EC, Melgar-Quiñonez H.** Validación de la escala de seguridad alimentaria doméstica en Antioquia, Colombia. *Salud Pública Mex.* 2006;48:474-81.
28. **Rutstein SO, Johnson K.** DHS comparative reports No. 6: The DHS Wealth Index. Maryland: ORC Macro; 2004.
29. **Stata Corp.** Stata Statistical Software: Release 13. College Station, TX: StataCorp LP; 2013.
30. **Ocampo PR, Prada GE, Herrán OF.** Patrones de consumo alimentario y exceso de peso infantil. Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010. *Rev Chil Nutr.* 2014;41:351-9. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182014000400002>
31. **Goris HC, Westerterp-Plantenga MS, Westerterp KR.** Underreporting and underrecording of habitual food intake in obese men: Selective underreporting of fat intake. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:130-4.
32. **Bedard D, Shatenstein B, Nadon S.** Underreporting of energy intake from a self-administered food-frequency questionnaire completed by adults in Montreal. *Public Health Nutr.* 2004;7:675-81. <http://dx.doi.org/10.1079/PHN2003578>
33. **Atkins RC.** Dr. Atkins diet revolution. New York: David McKay Company; 1972.
34. **Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, Pedroza-Tobías A, Rivera-Dommarco JA.** Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. *Salud Pública Mex.* 2013;55:S151-60.
35. **Ferrante D, Linetzky B, Konfino J, King A, Virgolini M, Laspiur S.** Encuesta Nacional de Factores de Riesgo 2009: evolución de la epidemia de enfermedades crónicas no transmisibles en Argentina. Estudio de corte transversal. *Rev Argent Salud Pública.* 2011;2:34-41.
36. **Álvarez-Dongo D, Sánchez-Abanto J, Gómez-Guizado G, Tarqui-Mamani C.** Sobrepeso y obesidad: prevalencia y determinantes sociales del exceso de peso en la población peruana (2009-2010). *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2012;29:303-13.
37. **Da Silva VS, Petroski EL, Souza I, Santos DG.** Prevalência e fatores associados ao excesso de peso em adultos do Brasil: Um estudo de base populacional em todo território nacional. *ver Bras Ciênc Esporte.* 2012;34:713-26. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-32892012000300013>
38. **Shields M, Carroll MD, Ogden CL.** Adult obesity prevalence in Canada and the United States. NCHS data brief, no 56. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics. 2011.
39. **Ministerio de Salud.** Encuesta Nacional de la Salud (ENS), Chile 2009-2010. Resumen ejecutivo, Tomo I. Santiago de Chile, 2010. Fecha de consulta: 1 de octubre de 2013. Disponible en: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/bcb03d7bc28b64dfe040010165012d23.pdf>.
40. **Hernández B, Gortmaker SL, Colditz GA, Peterson KE, Laid NM, Parra-Cabrera S.** Association of obesity with physical activity, television programs, and others forms of video viewing among children in Mexico city. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999;23:845-54.
41. **McDonald CM, Baylin A, Arsenault JE, Mora-Plazas M, Villamor E.** Overweight is more prevalent than stunting

- and is associated with socioeconomic status, maternal obesity, and a snacking dietary pattern in school children from Bogotá, Colombia. *J Nutr.* 2009;139:370-6. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.108.098111>
42. **Isanaka S, Mora-Plazas M, López-Arana S, Baylin A, Villamor E.** Food insecurity is highly prevalent and predicts underweight but not overweight in adults and school children from Bogotá, Colombia. *J Nutr.* 2007;137:2747-55.
43. **Fonseca ZY, Patiño GA, Herrán OF.** Malnutrición y seguridad alimentaria: un estudio multinivel. *Rev Chil Nutr.* 2013;40:206-15. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182013000300001>
44. **Popkin BM.** Urbanization, lifestyle changes and the nutrition transition. *World Dev.* 1999;27:1905-16. [http://dx.doi.org/10.1016/S0305-750X\(99\)00094-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0305-750X(99)00094-7)
45. **Vartanian LR, Schwartz MB, Brownell KD.** Effects of soft drink consumption on nutrition and health: A systematic review and meta-analysis. *Am J Public Health.* 2007;97:667-75. <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.2005.083782>
46. **Lim H, Kim SY, Wang Y, Lee SJ, Oh K, Sohn CY, et al.** Preservation of a traditional Korean dietary pattern and emergence of a fruit and dairy dietary pattern among adults in South Korea: Secular transitions in dietary patterns of a prospective study from 1998 to 2010. *Nutr Res.* 2014;34:760-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nutres.2014.08.002>
47. **Esmailzadeh A, Kimiagar M, Mehrabi Y, Azadbakht L, Hu FB, Willett WC.** Dietary patterns and markers of systemic among Iranian women. *J Nutr.* 2007;137:992-8.
48. **Bertram MV.** Cambio alimentario e identidad de los pueblos mexicanos. México: Programa México Nación Multicultural. UNAM; 2006.

ARTÍCULO ORIGINAL

## Epidemiología de las infecciones bacterianas en pacientes con cirrosis hepática, experiencia de un centro español de atención terciaria

Katerina Klímová, Camilo Padilla, Juan Carlos Ávila, Gerardo Clemente, Alejandra Ochoa

Servicio Aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

**Introducción.** Las infecciones bacterianas representan una complicación grave de la cirrosis. En los últimos años se han observado cambios en el espectro microbiológico de estas infecciones, fundamentalmente, el aumento de infecciones por gérmenes multirresistentes.

**Objetivo.** Establecer la proporción de infecciones por microorganismos multirresistentes en pacientes cirróticos ingresados en un centro de atención de Madrid, y analizar su epidemiología, factores de riesgo e impacto clínico.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio retrospectivo en el cual se evaluaron 294 pacientes hospitalizados por infección bacteriana en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid, entre junio de 2011 y junio de 2013.

**Resultados.** Se aislaron 310 microorganismos de 223 pacientes; 109 (35,2 %) eran Gram positivos, 167 (53,9 %), Gram negativos, y 34 (11 %), hongos. El agente etiológico más frecuente fue *Escherichia coli* (98 aislamientos). Las infecciones se habían adquirido en la comunidad en 22,9 % de los casos, se asociaron con la atención de salud en 38,1 % y se adquirieron durante la estancia hospitalaria en 39 %. Los pacientes con aislamientos multirresistentes desarrollaron con más frecuencia choque séptico ( $p=0,05$ ), y presentaron peor función hepática y alta mortalidad durante la estancia hospitalaria ( $p=0,017$ ). El ingreso previo, el uso de antibióticos en los 60 días anteriores, la adquisición de la infección en el hospital o asociada a un ingreso reciente y el aislamiento de bacterias en los cultivos de control, se determinaron como posibles factores de riesgo para el desarrollo de la infección multirresistente.

**Discusión.** Los resultados del estudio confirmaron que el espectro microbiológico de las infecciones bacterianas en pacientes con cirrosis ha sufrido importantes cambios. Las infecciones por gérmenes multirresistentes causan infecciones con gran morbimortalidad y el fracaso del tratamiento antibiótico habitual. Para controlarlas de forma eficaz, es imprescindible detectar precozmente a aquellos pacientes con factores de riesgo.

**Palabras clave:** infecciones bacterianas/epidemiología, cirrosis hepática, farmacorresistencia bacteriana múltiple, antibacterianos, factores de riesgo.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2600>

### Epidemiology of bacterial infections in patients with liver cirrhosis. Experience in a Spanish tertiary health center

**Introduction:** Bacterial infections represent a serious complication of liver cirrhosis. Traditionally, Gram negative bacteria have been described as the microorganisms responsible for the majority of the infections. However, in the past few years, changes in the microbiological spectrum have been described, and multiresistant bacteria are observed more frequently.

**Objective:** To assess the proportion of patients with infections caused by multiresistant bacteria admitted to our hospital, and to obtain information about their epidemiology, risk factors and clinical impact.

**Materials and methods:** We performed a retrospective evaluation of 294 cirrhotic patients admitted to our unit due to infection between June, 2011, and June, 2013.

**Results:** We isolated 310 microorganisms from 294 patients; 109 (35.2%) were Gram positive, 167 (53.9%), Gram negative, and 34, fungi (11%). As for the microbiological agents, the most frequent was *Escherichia coli* (98 isolations). The infection was community-acquired in 22.9% of cases, healthcare-associated in 38.1% and nosocomial in 39%. Worse liver infections and septic shock were more frequent

#### Contribución de los autores:

Katerina Klímová, Alejandra Ochoa, Gerardo Clemente: diseño y metodología del proyecto

Katerina Klímová: recolección de los datos

Katerina Klímová, Camilo Padilla, Juan Carlos Ávila: análisis de los datos

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.



among patients with multiresistant isolates ( $p=0.05$ ); and intrahospital mortality was also higher among them ( $p=0.017$ ). Previous hospital admission, antibiotic treatment 60 days before, nosocomial or healthcare-associated acquisition and bacterial isolation in control cultures were identified as possible risk factors for the development of multiresistant infection.

**Discussion:** The results of our study confirm that important changes have occurred in the microbiological spectrum of bacterial infections in patients with liver cirrhosis. Multiresistant bacteria are associated with high morbidity and mortality, as well as failure of traditional antibiotic treatment. Successful control of the infection requires an early identification of patients at risk.

**Key words:** Bacterial infections/epidemiology; liver cirrhosis; drug resistance, multiple, bacterial; anti-bacterial agents; risk factors.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2600>

Las infecciones bacterianas representan una complicación grave y frecuente de la cirrosis hepática con una alta morbimortalidad y, además, tienen una incidencia elevada comparada con la población general (1). De hecho, son una de las causas más frecuentes de hospitalización y, también, una de las principales razones de la progresión y las complicaciones de esta enfermedad (2).

En estudios recientes se ha demostrado que entre 32 y 34 % de los pacientes cirróticos desarrollan una infección al ingreso o durante su hospitalización, mientras que la incidencia de infecciones en la población general es de 5 a 7 %, lo que corrobora que la cirrosis es una enfermedad que determina un estado de inmunodeficiencia adquirida (3). Además, se han establecido otros mecanismos patogénicos responsables del aumento del riesgo de infección en estos enfermos, como son la disbiosis de la flora intestinal y la proliferación bacteriana excesiva (4). Se estima que la mortalidad de los pacientes hospitalizados con cirrosis que desarrollan una infección bacteriana, es hasta cinco veces superior a la de los pacientes cirróticos no infectados (5). La mortalidad acumulada después de cualquier infección en pacientes con cirrosis es de 43,5 % (6).

Las infecciones más frecuentes son la peritonitis bacteriana espontánea (25 %), la infección urinaria (20 %), las infecciones pulmonares consolidadas (15 %), la celulitis y la bacteriemia espontánea (7).

Los gérmenes aerobios Gram negativos, principalmente *Escherichia coli*, se han descrito como los responsables de la mayoría de las infecciones. No

obstante, en los últimos años la epidemiología de las infecciones bacterianas en pacientes con cirrosis ha cambiado. Existe un aumento de la incidencia de infecciones causadas por microorganismos Gram negativos resistentes a cefalosporinas de tercera generación y quinolonas, y por cocos Gram positivos, sobre todo en las infecciones hospitalarias o de pacientes que han estado recientemente en contacto con el ambiente hospitalario (8,9).

En la práctica clínica, las cefalosporinas de tercera generación se han establecido como el tratamiento estándar de la peritonitis bacteriana y la bacteriemia espontánea (10). Sin embargo, la eficacia de este tratamiento antibiótico empírico en las infecciones hospitalarias es muy baja en el contexto de las infecciones por bacterias multirresistentes que, además, se asocian más frecuentemente a la descompensación de la cirrosis y el aumento de la mortalidad.

La administración correcta y temprana de los antibióticos resulta en una mejoría de la supervivencia. Por ello, se ha sugerido que las infecciones hospitalarias deberían tratarse con antibióticos de amplio espectro, como los carbapenems y la tigeciclina (8).

Es importante tener en cuenta que la presentación clínica de la infección en enfermos de cirrosis, puede ser diferente a la de la población general. Muchas veces los enfermos no presentan síntomas típicos de infección como la fiebre, pero sí signos de encefalopatía hepática o, incluso, deterioro de la función renal o hepática comprobado por los análisis.

El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de las infecciones por gérmenes multirresistentes, los factores de riesgo y su impacto clínico en el pronóstico de los pacientes con cirrosis hepática, así como la prevalencia, la epidemiología, los factores de riesgo y el impacto clínico de las infecciones por bacterias multirresistentes en pacientes cirróticos ingresados en nuestro centro.

Correspondencia:

Katerina Klímová, Servicio Aparato Digestivo, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Calle Dr. Esquerdo 46, 280 07, Madrid, España

Teléfono: (34) 915 86 80 00

[katerina\\_klimova@yahoo.com](mailto:katerina_klimova@yahoo.com)

Recibido: 05/11/14; aceptado: 21/08/15

**Materiales y métodos**

Se llevó a cabo un estudio retrospectivo en el cual se evaluaron 329 pacientes con cirrosis hepática de diferentes etiologías y con sospecha de infección bacteriana, que ingresaron al Servicio Aparato Digestivo del Hospital Gregorio Marañón, entre junio de 2011 y junio de 2013. Los pacientes con trasplante hepático o con infección por HIV, con CD4+ de menos de 500 células/dl u otro tipo de inmunodeficiencia (35 casos), se excluyeron del estudio, por lo que finalmente se analizaron 294 pacientes. Para el análisis estadístico se incluyeron únicamente los 223 enfermos con infección confirmada mediante cultivos microbiológicos positivos, en los que se aisló un total de 310 microorganismos. Los pacientes con varios episodios de infección durante una misma estancia, solo se valoraron en el primero. En la figura 1 se muestra un diagrama de flujo que explica la selección de pacientes para el estudio.

El diagnóstico de cirrosis se estableció histológicamente o por la combinación de hallazgos clínicos, de laboratorio y radiológicos.

El diagnóstico de infección se basó en los siguientes criterios:

1) *peritonitis bacteriana espontánea o empiema espontáneo*: recuento de leucocitos polimorfonucleares en líquido ascítico o pleural de 250/mm<sup>3</sup> o más, independientemente del resultado de los cultivos correspondientes;

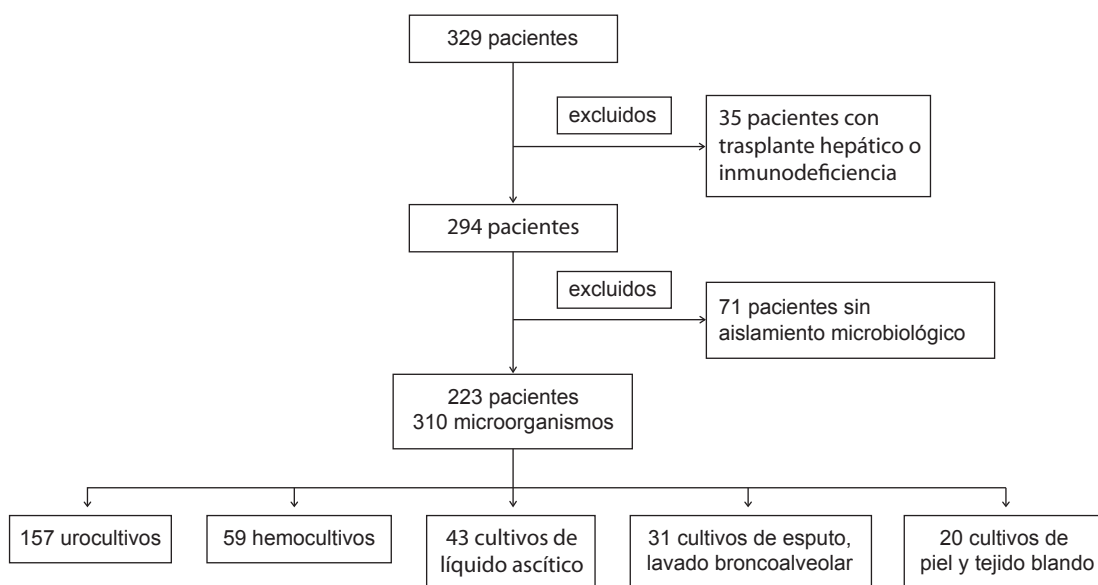
2) *bacteriemia espontánea del paciente cirrótico*: hemocultivos positivos en ausencia de foco primario de la infección;

3) *infección urinaria*: síntomas urinarios asociados a más de 10 leucocitos por campo en sedimento urinario o urocultivo positivo, o

4) *neumonía*: síntomas y signos de infección respiratoria leve, como fiebre, disnea y dolor torácico, con auscultación pulmonar también sugestiva, así como infiltrado o consolidación en la radiografía de tórax. El diagnóstico de otros tipos de infección se hizo según los criterios convencionales (11).

Las infecciones diagnosticadas en el momento del ingreso o durante los primeros dos días de hospitalización, se clasificaron como relacionadas con la atención de salud en aquellos pacientes que habían estado previamente hospitalizados (ingreso reciente, ingreso durante al menos 48 horas en los 90 días anteriores, ingreso en residencia de rehabilitación, o larga estancia). Las infecciones diagnosticadas a partir de las primeras 48 horas de ingreso, se consideraron como hospitalarias. Las infecciones presentes al ingreso o en el curso de las primeras 48 horas de hospitalización, se definieron como adquiridas en la comunidad.

Las siguientes bacterias se consideraron multirresistentes: productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) (por ejemplo, *E. coli* o *Klebsiella pneumoniae*), enterobacterias sin



**Figura 1.** Diagrama de flujo de la selección de los pacientes para el estudio

represión de la AmpC cromosómica (*Enterobacter* spp. o *Citrobacter* spp.), *Pseudomonas aeruginosa* resistente a más de tres grupos de antibióticos, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Enterococcus faecium*.

Se consideró que la infección había remitido cuando se cumplía alguno de los siguientes criterios:

- 1) ausencia de manifestaciones clínicas de infección;
- 2) en caso de peritonitis bacteriana espontánea o empiema espontáneo, reducción del recuento de polimorfonucleares a menos de 250/mm<sup>3</sup>;
- 3) en caso de peritonitis bacteriana espontánea o empiema espontáneo, infección urinaria o bacteriemia, resultado negativo en cultivos previamente positivos, o
- 4) en neumonía, resolución de la imagen radiológica.

La presencia de insuficiencia renal, sepsis y choque séptico se definieron según los criterios convencionales. Independientemente del número de aislamientos bacterianos obtenidos, en cada episodio de infección se valoró la presencia de estas variables una vez.

En todos los pacientes con aislamiento microbiológico, se evaluó la información epidemiológica, clínica y la de los análisis: sexo, edad, etiología de la cirrosis, presencia de diabetes mellitus, insuficiencia renal crónica, bilirrubina total, creatinina y la *International Normalized Ratio* (INR) al ingreso y al alta, la escala de Child-Pugh, los modelos de enfermedad hepática terminal sola (*Model for End-stage Liver Disease, MELD*) y con sodio sérico (MELD-Na) al ingreso y al alta, antecedente de ingreso reciente, profilaxis antibiótica con norfloxacino, uso de rifaximina y sintomatología al ingreso, así como el tratamiento antibiótico administrado, la dosis diaria definitiva, la duración del tratamiento, los motivos de su cambio y la idoneidad del tratamiento antibiótico según el antibiograma final.

### Análisis estadístico

El análisis estadístico se hizo empleando la prueba t de Student para muestras independientes con variables continuas de distribución paramétrica, la prueba U de Mann-Whitney para variables cuantitativas con distribución no paramétrica y la de ji al cuadrado de Pearson para las variables

cualitativas. Se consideró estadísticamente significativo todo valor de p menor de 0,05. Se hizo un análisis de regresión logística univariado con las variables consideradas como potenciales factores de riesgo de mortalidad y, posteriormente, un análisis multivariado con las variables que resultaron estadísticamente significativas en el primer análisis. El análisis estadístico se hizo con el programa SPSS Statistics 19.0® (SPSS Inc, Chicago, IL).

## Resultados

### Características basales de los pacientes

Las características basales de los pacientes se resumen en el cuadro 1. Se destaca el hecho de que 149 de los 223 pacientes incluidos eran hombres (66,8 %), con una edad media de 64,77 años (desviación estándar, DE=12,65). En cuanto

Cuadro 1. Características básicas de los pacientes

Característica	Número de pacientes n (%) Media (rango)
Sexo	n=223
Mujer	54 (24,2)
Hombre	149 (66,8)
Edad (años)	64,77 (32-91)
Etiología de la cirrosis	
Alcohol	110 (49,3)
VHC	90 (40,3)
VHB	11 (4,9)
Autoinmunitaria	3 (1,3)
Betabloqueadores	
Sí	126 (56,5)
Hepatocarcinoma	
Sí	42 (18,8)
Estadio A-B	32 (76,2)
Estadio C-D	10 (23,8)
Insuficiencia renal crónica	
Sí	45 (20,2)
Diabetes mellitus	
Sí	71 (31,8)
Ingreso reciente (90 días)	
Sí	114 (51,1)
Tratamiento antibiótico previo	
Sí	95 (42,6)
Norfloxacina	
Sí	65 (29,1)
Rifaximina	
Sí	41 (18,4)
Análisis de sangre al ingreso	
Bilirrubina (mg/ml)	3,52 (0,2-33,3)
Creatinina (mg/ml)	1,37 (0,3-6,6)
MELD	14,64 (6-36)
Puntuación en la escala de Child Pugh	7,88 (5-13)
Análisis de sangre	
Bilirrubina (mg/ml)	3,19 (0,2-36,7)
Creatinina (mg/ml)	1,23 (0,38-5,36)
MELD	14,50 (6-38)

MELD: *Model for End-stage Liver Disease*; VHC: virus de la hepatitis C; VHB: virus de la hepatitis B

a la etiología, la causa más frecuente de la cirrosis fue el alcoholismo crónico en 110 pacientes y la hepatitis C en 90 casos. Al ingreso, la media del MELD fue de 14,6 (DE=5,9), con bilirrubina media de 3,5 (DE=4,9), y creatinina media de 1,6 (DE=4,0).

El signo clínico de infección que predominó en el momento del ingreso fue la fiebre en 99 pacientes (44,4 %), seguido por la encefalopatía hepática en 61 pacientes (27,4 %).

**Infecciones bacterianas**

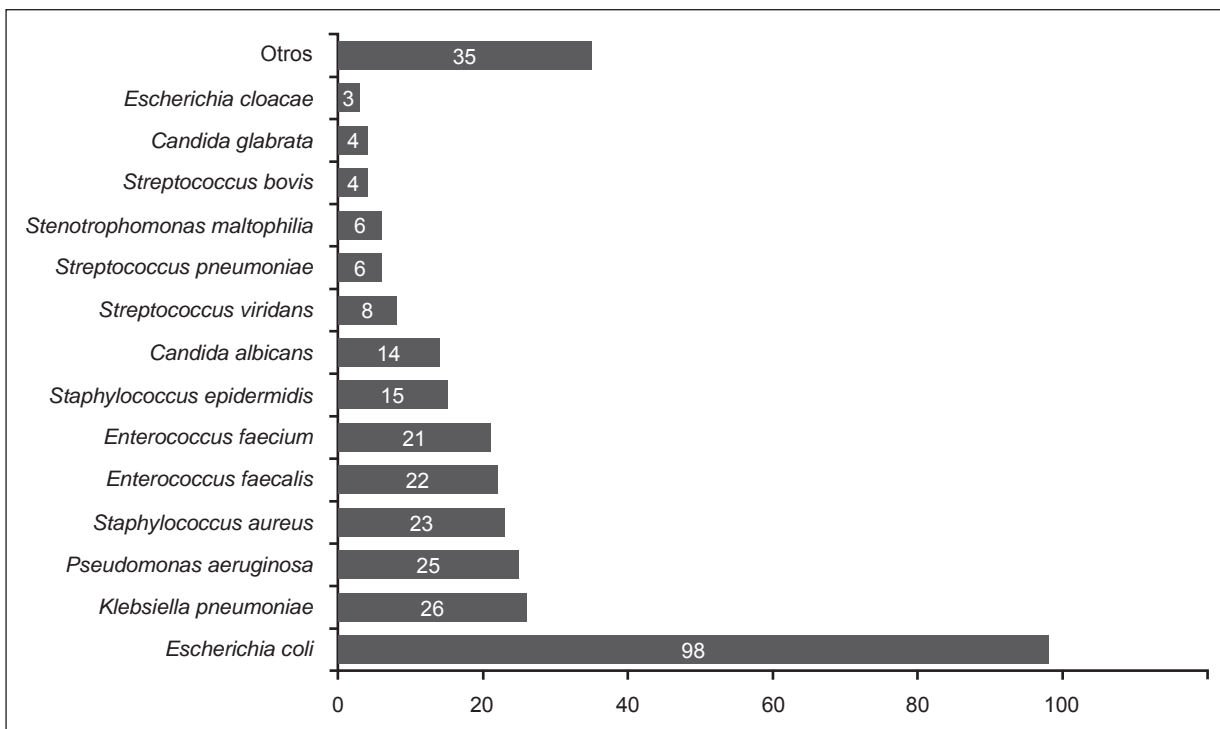
De los 310 aislamientos, 109 gérmenes (35,2 %) eran Gram positivos, 167 (53,9 %) eran Gram negativos, y 34 eran hongos (11 %). Se obtuvo aislamiento de 157 urocultivos (50,6 % de todos los aislamientos), 59 hemocultivos (19 %), 43 líquidos ascíticos (13,9 %), 31 muestras de esputo o broncoaspirado (10 %), y 20 muestras de piel o tejidos blandos (6,5 %). En cuanto a los agentes etiológicos, el más frecuente fue *E. coli*. La información sobre los aislamientos se resume en la figura 2.

Al excluir las infecciones fúngicas, se observó resistencia clínicamente significativa en 101 bacterias (36,2 % del total). Se determinó la

resistencia a la amoxicilina-ácido clavulánico en 98 bacterias de las 196 potencialmente sensibles (50,0 %), a piperacilina-tazobactam en 54 de 159 (34,0 %), a quinolonas en 148 de 240 (61,7 %), a carbapenems en 17 de 197 (8,6 %) y a vancomicina en uno de 100 (1,0 %) y a enterobacterias productoras de BLEE en 41 de 163 (25,2 %), así como presencia de AmpC en 11 de 162 (6,8 %) y resistencia a meticilina en 12 de 23 aislamientos de *Streptococcus aureus* (52,2 %).

Las infecciones habían sido adquiridas en la comunidad en 22,9 % de los casos, se asociaron con la atención de salud en 38,1 %, y se debieron a infección hospitalaria en 39 %. Más de la mitad de los pacientes refirió haber tenido una hospitalización en los 90 días anteriores, y 42,6 % había recibido antibióticos en los 60 días previos (figura 3); asimismo, 18,8 % de los pacientes con aislamiento microbiológico había estado tomando rifaximina para contrarrestar la encefalopatía hepática recurrente durante más de seis semanas.

Las cefalosporinas de tercera generación se emplearon como tratamiento empírico inicial en 35% de los pacientes, seguidas por los carbapenems en 28,3 %. En 78 enfermos fue necesario cambiar



**Figura 2.** Todos los aislamientos microbiológicos, incluidos los aislamientos fúngicos (se expresan en números absolutos en el eje de las X)



el tratamiento debido a una mala evolución clínica durante las primeras 48 horas después del ingreso o ajustarlo según el antibiograma. Se añadió un carbapenem en 25,6 % de los casos y, vancomicina, en 23,8%, en tanto que 28 pacientes recibieron un tercer antibiótico, sobre todo debido a la evolución clínica desfavorable a pesar de un primer cambio de antibiótico.

Al ingreso, en 20,2 % de los pacientes se describió insuficiencia renal aguda, en 28,4 % la información era indicativa de sepsis, y en 10,2 % se determinó la presencia de choque séptico. La mortalidad global por infección hospitalaria fue de 12,9 %. En la figura 4 se compara el efecto clínico de las diferentes infecciones.

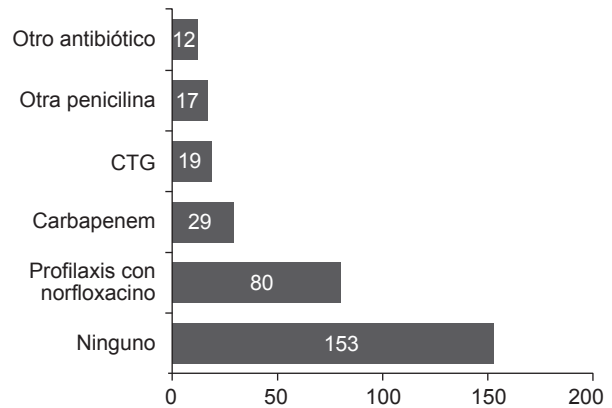
**Aislamientos bacterianos y focos de infección**

**Infeción urinaria.** Hubo 153 casos con sospecha de infección urinaria. Se aislaron 141 bacterias en 115 pacientes; 103 microorganismos eran Gram negativos y 38 eran Gram positivos. *Escherichia coli* fue la bacteria más frecuentemente aislada (61 pacientes; 52 %); 55 gérmenes (38,5 %) cumplían con los criterios de multirresistencia; 22 enterobacterias eran productoras de BLEE (22/103; 21,4 %), y se detectó resistencia a quinolonas en 89 de 138 pacientes (64,5 %), y, a amoxicilina-ácido clavulánico, en 51 de 107 (47,7 %).

En 40,0 % de los casos el antibiótico inicial fue una cefalosporina de tercera generación y en 22,0 % se emplearon carbapenems. Cuarenta pacientes necesitaron cambio de antibiótico: en 50 % de ellos, por mala evolución clínica durante las primeras 48 horas después del ingreso y, en 35 %, por ajuste del tratamiento con base en los resultados del antibiograma.

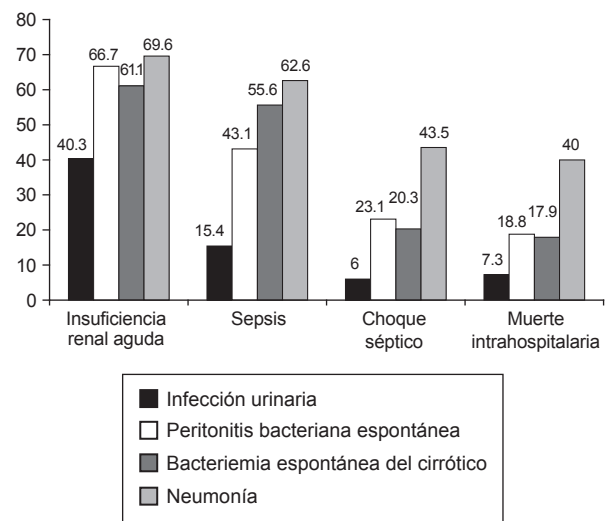
**Peritonitis bacteriana espontánea.** Se obtuvo el aislamiento microbiológico en 31 episodios de peritonitis bacteriana espontánea de 84 casos con recuento irregular de polimorfonucleares (tasa de aislamiento microbiológico de 36,9 %). Se aislaron 43 bacterias, 27 de ellas Gram positivas (62,8 %) y, nuevamente, *E. coli* fue la más frecuente (14 casos; 32,6 %), seguida por *S. aureus* (7; 16,3 %). Llama la atención que también hubo un caso de infección por *Listeria monocitogenes* y otro por *Streptococcus bovis*.

El 34,8 % de las bacterias cumplía con los criterios de multirresistencia. Más de la mitad de las enterobacterias eran productoras de BLEE (9/16; 56,3 %) y tres de los siete aislamientos de *S. aureus* eran resistentes a meticilina.



CTG: Cefalosporinas de tercera generación

**Figura 3.** Antibióticos administrados con mayor frecuencia durante los 60 días previos al ingreso (expresados en números absolutos en el eje de las X)



**Figura 4.** Impacto clínico de los diferentes tipos de infección. La proporción de pacientes con insuficiencia renal aguda, sepsis, choque séptico o muerte durante la estancia hospitalaria se expresa en porcentajes en el eje de las Y.

Los antibióticos empleados inicialmente en este grupo de pacientes fueron los carbapenems en 14 pacientes y las cefalosporinas de tercera generación en nueve, medicamentos que no fueron efectivos en 12 pacientes, los cuales recibieron un segundo antimicrobiano con base en los resultados del antibiograma.

**Bacteriemia.** Se hicieron hemocultivos en 112 pacientes (55,2 %), con aislamiento microbiológico en 43 de ellos. Se detectaron 52 bacterias, 50,9 % de las cuales eran Gram positivas; *E. coli* fue la más frecuente (18 casos). En nueve hemocultivos se aisló *Staphylococcus epidermidis* y, en seis, *S. aureus*. Dieciocho microorganismos (30,5 %)

cumplían con los criterios de multirresistencia; ocho de 24 enterobacterias eran productoras de BLEE y cuatro *S. aureus* tenían resistencia a metilina (66,7 %).

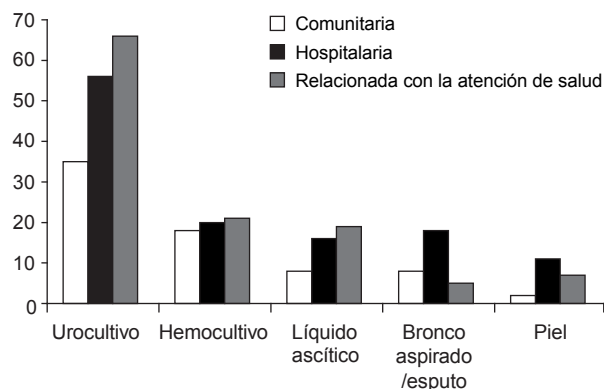
Al igual que en la peritonitis bacteriana espontánea, los carbapenems y las cefalosporinas de tercera generación fueron el tratamiento inicial de elección en 16 de los casos de bacteriemia, en tanto que en 22 pacientes tuvo que añadirse otro antibiótico al tratamiento.

**Neumonía.** Con respecto a las infecciones pulmonares consolidadas (con empiema asociado en cuatro casos), que fueron el motivo de ingreso de 67 pacientes, se obtuvieron 30 aislamientos microbiológicos en 19 de ellos, 12 Gram positivos, 10 Gram negativos y 8 hongos; los microorganismos más frecuentes fueron *S. aureus* (8 casos), *P. aeruginosa* (5 casos) y *E. coli* (3 casos). Se clasificaron 11 bacterias como multirresistentes (36,67 %); cuatro de ocho fueron SARM y, cuatro de 13, Gram negativas con carbapenemasas.

Llamó la atención que en 58,1 % de los casos la adquisición fue hospitalaria. Los antimicrobianos habitualmente administrados de forma empírica fueron los carbapenems (seis casos) y las cefalosporinas de tercera generación (5). También, cabe destacar que se presentó insuficiencia renal asociada en 69,6 % de los casos, sepsis en 82,6 % y choque séptico en 43,5 %. La mortalidad durante la estancia hospitalaria alcanzó el 40,0 %.

### Análisis según la forma de adquisición

Las formas de adquisición de los diferentes tipos de infección se resumen en la figura 5.



**Figura 5.** Proporción de infecciones adquiridas en la comunidad, infecciones relacionadas con la atención de salud y hospitalarias en cada tipo de infección (expresada en porcentaje en el eje de las Y)

**Infecciones de adquisición comunitaria.** En 67 de los pacientes la infección había sido adquirida en la comunidad, en la mayoría de ellos, causada por bacilos Gram negativos (64,2 % del total; 43 gérmenes). La mayoría de los microorganismos se aislaron en urocultivos (49,3 %) y en sangre (26,9 %). Los aislamientos fueron multirresistentes en 16,4 % de los casos; solo cuatro de 40 enterobacterias eran productoras de BLEE y uno de cuatro aislamientos de *S. Aureus* fue resistente a metilina. Hubo mortalidad durante la estancia hospitalaria en 14,6 % de los casos.

**Infecciones hospitalarias.** Ciento tres microorganismos se adquirieron durante la estancia hospitalaria. Los microorganismos Gram negativos representaron 49,7 % del total, los Gram positivos, 33,8 %, y los hongos, 16,5 %; 46 se aislaron de urocultivos, 18 de hemocultivos, 15 de muestras de las vías respiratorias, 16 de líquido ascítico y ocho de piel. Cuarenta y siete bacterias eran multirresistentes (45,6 %): la resistencia a quinolonas se observó en 45,0 % de las bacterias potencialmente sensibles, las BLEE, en 24,1 %, y los SARM, en 54,5 %; 21,4 % de los pacientes con infección hospitalaria fallecieron durante la estancia.

**Infecciones relacionadas con la atención de salud.** La adquisición de 118 microorganismos se relacionó con el contacto con el medio hospitalario. Los organismos Gram negativos fueron las bacterias más frecuentes (64,2 %). Los aislamientos bacterianos se obtuvieron de urocultivos (64 casos), de hemocultivos (21 casos), de líquido ascítico (19 casos) y de broncoaspirado o cultivo de esputo (4 casos); 39,4 % de las bacterias eran multirresistentes: 69,47 % tenía resistencia a quinolonas, 34,8 % de las enterobacterias eran productoras de BLEE y 62,5 % de los aislamientos de *S. aureus* fueron resistentes a la metilina. La mortalidad global durante la estancia hospitalaria fue de 19,3 % (cuadro 2).

### Impacto clínico de las infecciones multirresistentes

**Aislamientos multirresistentes.** En el subgrupo de pacientes con aislamientos multirresistentes (91), se aislaron 101 microorganismos; 34,7 % de las bacterias eran Gram positivas y, 65,3 %, Gram negativas. En 23,8 % se trató del aislamiento de control; 55 bacterias se aislaron en urocultivo, 18 en hemocultivos, 13 en líquido ascítico y 11 en esputo o broncoaspirado (figura 6).

La adquisición de la infección se relacionó con el ámbito hospitalario (durante la estancia en estudio o relacionada con un ingreso reciente) en 75,3 % de los pacientes, y 59,0 % de ellos había recibido tratamiento con antibióticos en los 60 días previos al ingreso.

El patrón de resistencia a los antibióticos se resume en el cuadro 2. Se destaca que 86,0 % de los microorganismos fueron resistentes a quinolonas, todos los aislamientos de *S. aureus* fueron resistentes a meticilina, y 61,5 % de las enterobacterias eran productoras de BLEE.

Se inició el tratamiento empírico con antibiótico de amplio espectro (carbapenems o vancomicina) en 53,9 % de los pacientes (46,2 y 7,7 %, respectivamente). En 40 pacientes hubo que añadir un segundo antibiótico por los motivos

anotados previamente, siendo la vancomicina y los carbapenems los más usados (12 y 9 casos, respectivamente). Por último, en 10 pacientes se añadió un tercer antimicrobiano; 42,3 % de los pacientes desarrolló sepsis y, 28,3 %, choque séptico, en tanto que 27 pacientes fallecieron durante la estancia en el hospital (26,7 %).

*Aislamientos sin multiresistencia.* En 132 pacientes se aislaron 178 bacterias que no cumplían con los criterios de multiresistencia: 88 se aislaron en urocultivos, 39 en hemocultivos, 30 en líquido ascítico, 14 en esputo o broncoaspirado y 7 en muestras cutáneas. En la figura 7 se muestran las bacterias aisladas con mayor frecuencia.

En 28,7 % de los casos la infección se había adquirido en la comunidad, 35,9 % se relacionó con la atención de salud y 35,4 % se adquirió en el

**Cuadro 2.** Proporción de bacterias multiresistentes en los aislamientos bacterianos en todas las infecciones y según el tipo de infección, y comparación de las diferentes formas de adquisición

Tipo de infección	Comunitaria n (%)	Relacionada con la atención de salud n (%)	Hospitalaria n (%)	Total n (%)	p
Todas	11 (15,5)	43 (36,4)	47 (38,8)	101 (32,6)	<b>0,002</b>
BLEE	4 (11,4)	24 (40)	13 (43,3)	41 (32,8)	<b>0,006</b>
AmpC	0 (0)	6 (10)	3 (10)	9 (7,2)	NS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros	4 (66,7)	5 (62,5)	14 (66,7)	23 (67,6)	NS
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (100)	8 (100)	17 (100)	27 (100)	<b>0,04</b>
SARM	1 (20)	6 (66,7)	11 (73,3)	18 (62,1)	NS
Infección urinaria	5 (14,3)	26 (39,4)	24 (42,9)	55 (35,0)	<b>0,013</b>
BLEE	1 (4,3)	14 (36,8)	7 (43,8)	22 (28,6)	<b>0,008</b>
AmpC	0	5 (15,2)	2 (11,8)	7 (9,0)	NS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros	1 (50)	3 (60)	8 (66,7)	12 (63,2)	NS
<i>Enterococcus faecium</i>	2	7	7	16	-
SARM	0	1 (50)	0	1 (50)	-
Peritonitis bacteriana espontánea	1 (12,5)	6 (31,6)	6 (37,5)	13 (30,2)	NS
BLEE					
AmpC	1 (50)	5 (55,6)	3 (75)	9 (60)	NS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros	0	1 (12,5)	0	1 (6,7)	NS
<i>Enterococcus faecium</i>	0	0	0	0	NS
SARM	0	0	1	1	-
Bacteriemia	0	1 (50)	2 (50)	3 (42,9)	NS
BLEE	3 (20)	10 (47,6)	5 (33,3)	18 (30,5)	NS
AmpC	2 (25)	5 (50)	1 (20)	8 (34,8)	NS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros	0	0	0	0	-
<i>Enterococcus faecium</i>	1 (100)	2 (100)	0	3 (75)	NS
SARM	0	0	3	3	-
Neumonía	0	4 (80)	1 (100)	5 (71,4)	NS
BLEE	2 (25)	1 (20)	8 (44,4)	11 (35,5)	NS
AmpC	0	0	1 (50)	1 (33,3)	NS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> y otros	0	0	0	0	-
<i>Enterococcus faecium</i>	2 (66,7)	0	3 (75)	5 (71,4)	NS
SARM	0	0	1	1	-
	0	1 (50)	3 (60)	4 (50)	NS

p<0.05 se considera significativo (números en negrilla); SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; BLEE: betalactamasas de espectro extendido; AmpC: betalactamasas de tipo AmpC; NS: no significativo; n: número absoluto de bacterias multiresistentes; %: número sobre valor total de las bacterias aisladas que pueden tener este mecanismo de resistencia

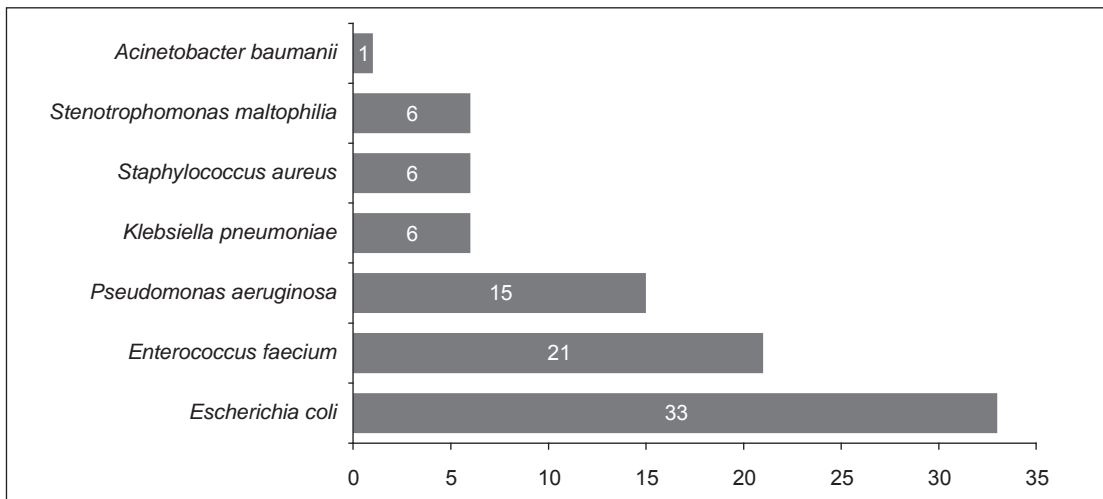


Figura 6. Aislamientos multirresistentes más frecuentes (expresados en números absolutos en el eje de las X).

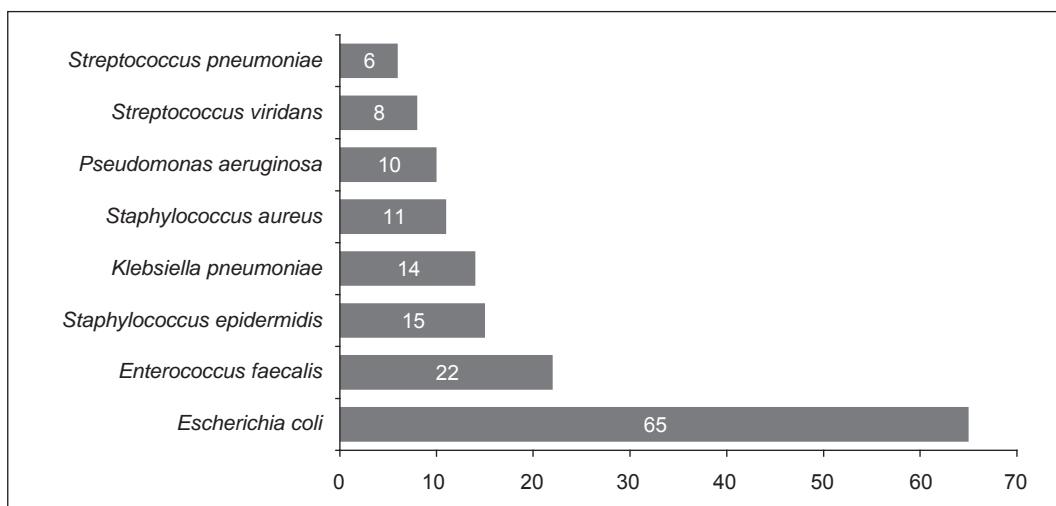


Figura 7. Aislamientos más frecuentes que no cumplían con los criterios de multirresistencia (expresados en números absolutos)

ámbito hospitalario; 47,1 % de los pacientes había recibido al menos un antibiótico en los dos meses previos al ingreso y 18,4 % tomaba rifaximina como tratamiento de la encefalopatía hepática crónica.

En 51 enfermos se administró tratamiento antibiótico empírico con cefalosporinas de tercera generación, en 34, con carbapenemas, y en 15, con amoxicilina-ácido clavulánico. En 38 pacientes hubo que ampliar la cobertura antibiótica debido a una mala evolución clínica (18 pacientes) o con base en el resultado del antibiograma (20 pacientes). La sepsis asociada con el ingreso se observó en 32,3 % de los pacientes y, el choque séptico, en 9,3 %. La mortalidad durante la estancia hospitalaria fue de 15,2 %.

**Impacto clínico y mortalidad durante la estancia hospitalaria**

Los pacientes con aislamientos multirresistentes desarrollaron choque séptico en 28,3 % de los casos, es decir, con mayor frecuencia que aquellos con aislamientos sin multirresistencia (p=0,045), y la mortalidad por infección hospitalaria fue mayor (p=0,017). Además, la proporción de pacientes con insuficiencia renal y sepsis fue más alta (56,5 y 53,3 % Vs. 51,8 y 37,8 %).

Los pacientes cuyos aislamientos fueron multirresistentes, presentaron peor función hepática, con niveles mayores de bilirrubina, creatinina y MELD (p=0,04, p=0,03 y p=0,01, respectivamente).



La duración del tratamiento antibiótico fue mayor en el grupo con multirresistencia (20,37 días frente a 15,34 días), aunque la diferencia no alcanzó a ser significativa. Además, fue necesario cambiar el tratamiento antibiótico empírico con mayor frecuencia en el grupo de pacientes con multirresistencia ( $p=0,049$ ), quienes, además, recibieron mayor número de antibióticos ( $p=0,04$ ).

### **Factores de riesgo para la multirresistencia**

En el análisis univariado, el ingreso previo, el uso de antibióticos en los 60 días anteriores, la adquisición de infección hospitalaria o asociada a un ingreso reciente y el aislamiento microbiológico en el cultivo de control, se determinaron como posibles factores de riesgo para el desarrollo de infecciones multirresistentes. En el análisis multivariado se confirmó que el ingreso previo y los resultados positivos en los cultivos de control eran factores de riesgo ( $p=0,032$  y  $0,04$ , con una razón de probabilidades de 2,46 y 1,93, y un intervalo de confianza de 1,02-7,84 y de 1,72-6,24, respectivamente). La administración continua de rifaximina no resultó ser factor de riesgo para el desarrollo de infección multirresistente.

### **Discusión**

Las infecciones bacterianas son una causa importante de morbilidad y mortalidad en pacientes con cirrosis hepática (12). En los últimos años se han observado importantes cambios en la epidemiología de las infecciones bacterianas en este grupo de pacientes.

En primer lugar, ha habido un aumento de las infecciones por microorganismos resistentes a quinolonas como consecuencia directa del uso prolongado de norfloxacina en la peritonitis bacteriana espontánea. A pesar de ello, estas infecciones en pacientes con cirrosis se tratan exitosamente con cefalosporinas de tercera generación. Sin embargo, últimamente ha aumentado la resistencia a estos antibióticos, lo que dificulta el tratamiento empírico inicial.

Otro cambio importante ha sido el aumento de infecciones por gérmenes Gram positivos, asociado sobre todo al uso de dispositivos intravasculares y pruebas invasivas.

El tercer cambio consiste en un aumento de la incidencia de infecciones por bacterias multirresistentes, en este caso, por *S. aureus* resistente a meticilina, enterobacterias productoras de BLEE, *P. aeruginosa* y *E. faecium* (8). Es importante

saber que estos microorganismos se encuentran en el ámbito hospitalario y que su aislamiento en la población general es cada vez más frecuente (13,14).

En el presente estudio se demostró un importante porcentaje de infecciones por gérmenes multirresistentes (36,2 %), lo cual concuerda con los datos encontrados en la literatura científica (15).

En cuanto a la eficacia del tratamiento antibiótico empírico, debe mencionarse que las cefalosporinas de tercera generación siguen siendo el tratamiento más utilizado, sobre todo en las infecciones urinarias. En 48,3 % de los pacientes con peritonitis bacteriana espontánea, se administraron empíricamente carbapenems antes de obtener el resultado del antibiograma, lo cual demuestra que, ante la sospecha de un microorganismo multirresistente o de infección grave, se considera el uso empírico de un antimicrobiano de amplio espectro.

Se identificaron los siguientes factores de riesgo para el desarrollo de infecciones por microorganismos multirresistentes: ingreso hospitalario durante los 90 días previos; uso de antibióticos en los 60 días anteriores al ingreso; adquisición en el ámbito hospitalario o relacionada con este o con el aislamiento de control. Estos hallazgos concuerdan con los de otros estudios publicados (16,17) y respalda la aparición de un nuevo tipo de adquisición de la infección asociada con la atención de salud, ya que el perfil microbiológico en este grupo se superpone al de la adquisición en el ámbito hospitalario, por lo que deberían considerarse de la misma forma.

Con base en los resultados del presente estudio, se introdujeron cambios en el tratamiento empírico en el grupo de enfermos con alto riesgo de infección por las bacterias multirresistentes encontradas, reservándose las cefalosporinas de tercera generación para las infecciones adquiridas en el ámbito comunitario o para aquellas sin signos de gravedad clínica o respaldadas por los análisis (función hepática y renal normales, estabilidad hemodinámica y ausencia de síntomas como encefalopatía hepática o hemorragia digestiva).

En los pacientes con una infección reciente (en los 60 días anteriores), se podría administrar el tratamiento antimicrobiano con base en el antibiograma previo. En aquellos enfermos con ingreso reciente o contacto con el ámbito hospitalario y uso de antibiótico profiláctico, que además presenten un deterioro de la función hepática o alteración de

la situación hemodinámica o clínica, se debería recurrir al tratamiento empírico con antibióticos de amplio espectro: un carbapenem y, en caso de ausencia de mejoría en las siguientes 24 o 48 horas o de sospecha de bacteriemia asociada, se añadiría un glucopéptido.

Este cambio del tratamiento establecido debería resultar en mejoría clínica en las infecciones por bacterias multirresistentes, con la consecuente disminución de la mortalidad y de la sepsis asociadas. Se necesitan estudios prospectivos para evaluar si efectivamente se producen tales resultados.

Otro hallazgo significativo fue la disminución de la incidencia de las infecciones por bacterias Gram positivas, lo que podría explicarse por un mayor uso de la profilaxis antibiótica antes de acudir a pruebas invasivas y un empleo más racional de los dispositivos intravasculares.

Las infecciones por bacterias multirresistentes se asociaron a una mayor tasa de sepsis, choque séptico y mortalidad durante la estancia hospitalaria. Además, la duración de la estancia y del tratamiento antibiótico, y el número de antibióticos administrados, fueron significativamente mayores en este grupo de pacientes. Cabe destacar que, a menudo, en nuestro centro se inicia el tratamiento empírico con antibióticos de amplio espectro (carbapenems o glucopéptidos) en pacientes con infecciones adquiridas en el ámbito hospitalario o con una mala evolución clínica tras las primeras 48 horas del ingreso.

Con base en los resultados del estudio, con una incidencia de gérmenes multirresistentes en las infecciones adquiridas en el medio hospitalario de 45,6 %, se recomienda introducir cambios en el manejo de este tipo de infecciones o de las relacionadas con la atención de salud. Además, una vez obtenido el aislamiento de los cultivos, debe cambiarse el tratamiento según la sensibilidad demostrada en el antibiograma.

En cuanto a las limitaciones del estudio, cabe mencionar, en primer lugar, que se trató de un estudio retrospectivo en un único centro de atención, lo que significa que los resultados no se pueden generalizar, pues el ambiente de cada centro presenta características microbiológicas diferentes. Sin embargo, se han publicado datos similares de otros centros y países (9,10).

El uso, y en muchas ocasiones el abuso, de los antibióticos sistémicos y la profilaxis a largo plazo con norfloxacina, así como la adquisición de

infecciones hospitalarias o relacionadas con la atención de salud, probablemente son los factores de riesgo más importantes de la multirresistencia.

Llama la atención que no se haya encontrado una asociación entre las infecciones multirresistentes y la administración de rifaximina, un antibiótico bactericida de muy baja absorción intestinal que, de acuerdo con otro estudio publicado recientemente, se utiliza cada vez más para tratar la encefalopatía hepática recurrente (10). Se trata de un dato prometedor y se está valorando la posibilidad de usar dicho bactericida para la profilaxis primaria o secundaria de la peritonitis bacteriana espontánea, o para tratar otras complicaciones de la cirrosis (18,19) en reemplazo de la norfloxacina. No obstante, hay que confirmar estos datos en futuros trabajos prospectivos.

En resumen, los resultados confirman que han ocurrido cambios importantes en el espectro microbiológico de las infecciones bacterianas en pacientes con cirrosis hepática, principalmente por la emergencia cada vez más frecuente de gérmenes multirresistentes, como *E. coli* productor de BLEE o *E. faecium*. Es importante determinar potenciales factores predictores de la multirresistencia y reconocer precozmente el tipo de pacientes que presenta mayor riesgo, con el fin de iniciar un tratamiento antibiótico adecuado para el control eficaz de la infección. Asimismo, es importante evitar el uso indiscriminado de antibióticos para contrarrestar el desarrollo de bacterias multirresistentes.

### Conflicto de intereses

Declaramos que ningún autor tiene ningún conflicto de intereses.

### Financiación

Los autores no recibieron financiación para este estudio.

### Referencias

1. **Gustot T, Durand F, Lebrec D, Vincent JL, Moreau R.** Severe sepsis in cirrhosis. *Hepatology*. 2009;50:2022-33. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.23264>
2. **Jalan R, Fernández J, Wiest R, Schnabl B, Moreau R, Angeli P, et al.** Bacterial infections in cirrhosis: A position statement based on the EASL Special Conference 2013. *Hepatology*. 2014;60:1310-24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2014.08.010>
3. **Borzio M, Salerno F, Piantoni L, Cazzaniga M, Angeli P, Bissoli F, et al.** Bacterial infection in patients with advanced cirrhosis: A multicentre prospective study. *Dig Liver Dis*. 2001;33:41-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S1590-8658\(01\)80134-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1590-8658(01)80134-1)

4. **Bauer TM, Steinbrückner B, Brinkmann FE, Ditzen AK, Schwacha H, Aponte JJ, et al.** Small intestinal bacterial overgrowth in patients with cirrhosis: Prevalence and relation with spontaneous bacterial peritonitis. *Am J Gastroenterol.* 2001;96:2962-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.04668>
5. **Caly WR, Strauss E.** A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol.* 1993;18:353-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278\(05\)80280-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-8278(05)80280-6)
6. **Pleguezuelo M, Benítez JM, Jurado J, Montero JL, De la Mata M.** Diagnosis and management of bacterial infections in decompensated cirrhosis. *World J Hepatol.* 2013;5:16-25. <http://dx.doi.org/10.4254/wjh.v5.i1.16>
7. **Fernández J, Navasa M, Gómez J, Colmenero J, Vila J, Arroyo V, et al.** Bacterial infections in cirrhosis: Epidemiological changes with invasive procedures and norfloxacin prophylaxis. *Hepatology.* 2002;35:140-8. <http://dx.doi.org/10/S0270913902984429>
8. **Fernández J, Acevedo J, Castro M, García O, Rodríguez-de Lope C, Roca D, et al.** Prevalence and risk factors of infections by multiresistant bacteria in cirrhosis: A prospective study. *Hepatology.* 2012;55:1551-61. <http://dx.doi.org/10.1002/hep.25532>
9. **Tandon P, Delisle A, Topal JE, García-Tsao G.** High prevalence of antibiotic-resistant bacterial infections among patients with cirrhosis at a US Liver Center. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10:1291-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.08.017>
10. **European Association for the Study of the Liver.** EASL clinical practice guidelines on the management of ascites, spontaneous bacterial peritonitis, and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *J Hepatol.* 2010;53:397-417. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2010.05.004>
11. **Mandell GL, Bennet JE, Dolin R.** Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th edition. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone Elsevier; 2010.
12. **Tandon P, García-Tsao G.** Bacterial infections, sepsis, and multiorgan failure in cirrhosis. *Semin Liver Dis.* 2008;28:26-42. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2008-1040319>
13. **Hawkey PM, Jones AM.** The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(Suppl.1):i3-10. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkp256>
14. **Rodríguez-Baño J, Alcalá J, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP.** *Escherichia coli* producing SHV-type extended-spectrum beta-lactamase is a significant cause of community-acquired infection. *J Antimicrob Chemother.* 2009;63:781-4. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkp028>
15. **Umgeleiter A, Reindl W, Miedanes M, Schmid RM, Huber W.** Failure of current antibiotic first-line regimens and mortality in hospitalized patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Infection.* 2009;37:2-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s15010-008-8060-9>
16. **Rodríguez-Baño J, Pascual A.** Clinical significance of extended-spectrum-beta-lactamases. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2008;6:671-83. <http://dx.doi.org/10.1586/14787210.6.5.671>
17. **Martínez-Martínez L, Calvo J.** El problema creciente de la resistencia antibiótica en bacilos gramnegativos: situación actual. *Infec Microbiol Clin.* 2010;28(Supl.2):25-31. [http://dx.doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70027-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70027-6)
18. **Kalambokis GN, Mouzaki A, Tsianos EV.** Rifaximin for the prevention of spontaneous bacterial peritonitis. *World J Gastroenterol.* 2012;18:1700-2. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.v18.i14.1700>
19. **Kalambokis GN, Mouzaki A, Rodi M, Pappas K, Fotopoulos A, Xourgia X, et al.** Rifaximin improves systemic hemodynamic and renal function in patients with alcohol related cirrhosis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012;10:815-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.02.025>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Caracterización clínica de pacientes que consultaron por dengue en un hospital de tercer nivel en Cali, Colombia, 2013

Lorena Matta<sup>1,2</sup>, Mario M. Barbosa<sup>3</sup>, Cristhian D. Morales-Plaza<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Interna, Universidad del Valle, Cali, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Clínicas Médicas, Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia

<sup>3</sup> Oficina de Epidemiología Hospitalaria, Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe, Cali, Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

**Introducción.** La infección por el virus del dengue es una de las arbovirosis más importantes en el país y es un grave problema de salud pública.

**Objetivo.** Determinar las características clínicas y los resultados de los exámenes de laboratorio de los pacientes que consultaron por dengue en la Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe de Cali, y analizar la tendencia del número de casos por semanas epidemiológicas durante el 2013.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio observacional retrospectivo de los pacientes que ingresaron con sospecha de dengue a la Clínica Rafael Uribe Uribe de Cali durante el 2013. Los pacientes con diagnóstico confirmado de infección por dengue se clasificaron de acuerdo con las definiciones de la Organización Mundial de la Salud y, posteriormente, se describieron los parámetros clínicos que presentaban.

**Resultados.** Se notificaron 1.173 casos sospechosos, de los cuales 287 (24,5 %) fueron confirmados por serología; 152 (53,0 %) eran mujeres y 135 (47,0 %), hombres; 40,1 % no presentaba signos de alarma, 34,8 % sí y 25,1 % tuvo manifestaciones graves. Los síntomas más frecuentes fueron la fiebre (287; 100 %), las mialgias (223; 78,0 %), y la cefalea (183; 64,0 %). Las manifestaciones hemorrágicas se presentaron en 100 (34,8 %) de los pacientes. Cuatro pacientes (1,4 %) presentaron manifestaciones neurológicas. Se reportaron tres muertes (0,7 %), dos de las cuales se asociaron a la drepanocitosis.

**Conclusiones.** La forma grave de la infección y la mortalidad que causó durante el periodo de estudio fueron más frecuentes en la población pediátrica. Se sugiere la implementación de estrategias que garanticen la atención específica de los pacientes con enfermedades concomitantes, como la drepanocitosis.

**Palabras clave:** dengue/clasificación, dengue grave, signos y síntomas, epidemiología, anemia de células falciformes.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2627>

### Clinical profile of dengue in patients consulting a tertiary hospital in the city of Cali, Colombia, 2013

**Introduction:** Dengue virus infection is amongst the most important arboviral diseases in the country and has become a major global public health concern.

**Objective:** To describe the clinical profile of patients with dengue virus infection hospitalized in a tertiary hospital in the city of Cali, Colombia. We also describe the trend analysis of the number of cases by epidemiological weeks in 2013.

**Materials and methods:** We conducted a retrospective study of admitted patients suspected to have dengue infection in the Rafael Uribe Uribe Clinic in the year 2013. Patients with serological confirmation of dengue infection were classified according to the World Health Organization classification. Subsequently, the clinical parameters of the patients with dengue were described.

**Results:** Of the 1,173 patients with suspected dengue, 287 (24.5%) were confirmed serologically; 152 (53%) were women and 135 (47%) males; 40.1% had no warning signs, 3.8% had warning signs and 25.1% had severe manifestations. The most common symptoms were fever (287;100%), myalgia (223;78%), and headache (183;64%). Hemorrhagic manifestations were recorded in 100 (34.8%)

#### Contribución de los autores:

Lorena Matta: diseño del estudio, escritura del proyecto, revisión del artículo

Mario Miguel Barbosa: recolección de la información, análisis y presentación de resultados

Cristhian David Morales-Plaza: metodología, concepción de los fundamentos teóricos, búsqueda bibliográfica y escritura del artículo



patients; 4 (1.4%) had neurological manifestations. Three deaths (0.7%) were reported, two of which were associated with sickle cell disease.

**Conclusions:** The severe form of the infection and mortality from dengue reported during the outbreak was more frequent in the pediatric population. It is suggested to implement strategies to ensure specific attention to patients with comorbidities such as sickle cell disease.

**Key words:** Dengue/classification; severe dengue; signs and symptoms; epidemiology; anemia, sickle cell.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2627>

El dengue constituye un serio problema de salud pública que afecta los países en desarrollo, principalmente de África, Asia y América Latina (1,2). Es una de las enfermedades virales transmitidas por mosquitos más prevalentes y graves (3) y anualmente el virus causante afecta a 400 millones de personas alrededor del mundo, aproximadamente, de las cuales cerca de 100 millones presentan signos clínicamente evidentes (2).

En años recientes, la investigación sobre esta enfermedad se ha orientado principalmente a determinar los factores clínicos y epidemiológicos en diversas partes del mundo (4,5). En Colombia se presenta una transmisión elevada, ya que 90 % de la población vive por debajo de los 2.200 msnm, lo cual favorece el aumento de los casos, que se presentan por ciclos epidémicos cada dos o tres años (6), y pasaron de 5,2 por 100.000 habitantes en la década de 1990 a 18,1 por 100.000 habitantes durante el último lustro (6). En el 2012 se presentaron alrededor de 54.722 casos, de los cuales 1.464 se consideraron graves. Por otro lado, el departamento del Valle del Cauca se considera mesoendémico y, la ciudad de Cali, hiperendémica (7).

La presentación clínica del dengue varía ampliamente, especialmente los primeros síntomas, que no son específicos y se pueden confundir con los de otras condiciones febriles prevalentes en la zona, por lo cual el diagnóstico de laboratorio es fundamental para la posterior vigilancia de los pacientes y para garantizar el tratamiento adecuado de quienes presentan otros síndromes febriles que, mal atendidos, pueden conducir a la muerte (8-10).

Correspondencia:

Lorena Matta, Departamento de Medicina Interna, Universidad del Valle, Calle 5 N° 36-08, edificio 112, segundo piso, Cali, Colombia

Teléfono: (572) 554 3227; fax: (572) 556 9215  
lorenadilo@yahoo.com

Recibido: 03/12/14; aceptado: 08/09/15

El procedimiento ideal para el diagnóstico se basa en el aislamiento del virus o la utilización de una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real (10); sin embargo, en el país esto se dificulta debido a los costos, por lo que en la mayoría de los casos el diagnóstico se basa en el cuadro clínico y en la detección de anticuerpos o del antígeno NS1 específico del dengue (11). Según las guías nacionales para el manejo de la infección por dengue, la detección de anticuerpos IgM es la prueba diagnóstica para la infección (6). Por otro lado, algunas instituciones de salud de escasos recursos tienen en cuenta el recuento de plaquetas (100.000 por  $\mu$ l) para establecer el diagnóstico (11).

El objetivo de este trabajo consistió en determinar las características clínicas y de los resultados de los exámenes de laboratorio, de los pacientes que consultaron por dengue en la Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe de Cali, así como analizar la tendencia del número de casos por semanas epidemiológicas durante el 2013.

### Materiales y métodos

Se hizo un estudio retrospectivo, descriptivo y observacional sobre las características clínicas de los pacientes febriles con sospecha de dengue, que consultaron en la Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe, institución de tercer nivel que atiende a personas pertenecientes a los regímenes contributivo y subsidiado, principalmente del Valle del Cauca, y cuyas fichas epidemiológicas fueron reportadas al Sistema de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila) entre el 1° de enero y el 31 de diciembre de 2013 con resultados de IgM para dengue positivos en el inmunoensayo ELISA.

Además, muestras de estos pacientes fueron sometidas a la prueba ELISA para IgG y a la prueba de inmunocromatografía para NS1. Las pruebas diagnósticas se hicieron en los laboratorios Ángel, S.A., y la información de los resultados fue confirmada y validada en el departamento de estadística de la institución, el cual

cotejó la información del sistema de vigilancia con los resultados positivos para IgM de dengue obtenidos en la ELISA.

Los pacientes se clasificaron de acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en las categorías de dengue sin signos de alarma, dengue con signos de alarma y dengue grave (12).

**Análisis estadístico**

En el análisis de la información se tuvieron en cuenta las siguientes variables: edad y sexo (sociodemográficas); presencia de fiebre, mialgias, artralgias, cefalea, emesis, dolor abdominal y manifestaciones hemorrágicas (clínicas), y presencia de anticuerpos IgM en la prueba confirmatoria ELISA, y de IgG y antígeno NS1 para dengue, recuento de leucocitos, plaquetas, hemoglobina, hematocrito, transaminasas, creatinina y albúmina (de laboratorio).

En el análisis de los datos se utilizó el paquete de Microsoft Excel® 2010. Las medidas de frecuencia relativa y absoluta de las variables categóricas se expresaron como porcentajes, y para las variables continuas se emplearon el promedio como medida de tendencia central y la desviación estándar como medida de dispersión. Con base en el número de casos notificados en los tres años anteriores, se estableció el canal endémico con el recuento de casos sospechosos durante el año de la epidemia y empleando la mediana y los percentiles 25 y 75 para definir las diferentes áreas del canal.

**Consideraciones éticas**

El protocolo se sometió a la aprobación del Comité de Ética Médica de la Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe en la categoría de investigación sin riesgo, según la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia, que establece las

normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud.

**Resultados**

Se revisaron 1.173 fichas de notificación de casos probables de dengue. A 539 pacientes se les hizo la prueba ELISA para la detección de IgM, de los cuales 287 fueron positivos. La edad promedio de los pacientes confirmados fue de 28,94±1,34, con una relación hombre mujer de de 1:12; 251 (87,5 %) pacientes procedían de Cali y 36 (12,5 %) de otros municipios del Valle del Cauca; 84 (30,0 %) eran menores de 13 años y los restantes 203 (70,0 %) eran mayores de 13 años; 257 (90,0 %) pacientes pertenecían al régimen contributivo y, 30 (10,0 %), al régimen subsidiado; 17 (5,9 %) de los pacientes eran afrocolombianos.

El aumento de casos se registró desde la primera semana epidemiológica de 2013, con un pico en la semana epidemiológica 17, luego de la cual se observó un progresivo descenso hasta registrar un periodo no epidémico en la semana 52 de 2013 (figura 1).

De los pacientes que resultaron positivos para IgM, 106 (36,0 %) fueron positivos para el antígeno NS1 y, 237 (82,0 %), para IgG, dato este que tendría relación con posibles infecciones previas. Las manifestaciones de ingreso más frecuentes fueron la fiebre, las mialgias y las artralgias. Las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes fueron las petequias y la epistaxis, y los signos más frecuentes de extravasación fueron el dolor abdominal y la hipotensión, cuya frecuencia no varió al estratificar por sexo y edad (cuadro 1).

Según la gravedad, los pacientes con dengue sin signos de alarma fueron la mayoría, seguidos por aquellos con signos de alarma y con dengue grave. Al estratificar por sexo no se presentó variación en este orden, pero, al estratificar por edad, la población

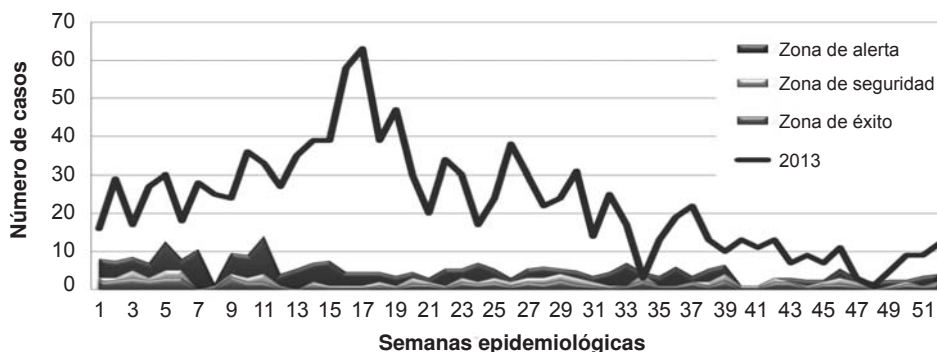


Figura 1. Canal endémico de dengue, Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe, 2010-2013

**Cuadro 1.** Síntomas y hallazgos en el examen físico de ingreso a la institución

	Pacientes febriles IgM (-)	Pacientes febriles IgM (+)	<13 años	>13 años	Mujeres	Hombres
Manifestaciones en el examen de ingreso						
Fiebre	262 (100,0)	287 (100,0)	84 (100,0)	203 (100,0)	152 (100,0)	135 (100,0)
Mialgias	218 (83,2)	223 (77,7)	N/A	181 (89,2)	118 (77,6)	105 (77,8)
Vómito	83 (31,7)	108 (37,6)	47 (55,6)	61 (30,1)	64 (42,1)	44 (32,6)
Ictericia	1 (0,4)	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,5)	0 (0)	1 (0,7)
Dolor retroocular	65 (24,8)	80 (27,9)	20 (23,8)	60 (29,7)	42 (27,6)	38 (28,2)
Artralgias	127 (48,5)	142 (49,5)	N/A	118 (58,1)	72 (47,4)	70 (51,9)
Exantema	43 (16,4)	75 (26,1)	31 (36,9)	44 (21,6)	47 (30,9)	28 (20,7)
Diarrea	38 (14,5)	52 (18,1)	15 (17,9)	37 (18,2)	25 (16,5)	27 (20,0)
Prueba de torniquete positiva	5 (1,9) <sup>1</sup>	20 (7,9) <sup>2</sup>	6 (9,0) <sup>3</sup>	14 (8,0) <sup>4</sup>	13 (10,0) <sup>5</sup>	7 (6,0) <sup>6</sup>
Cefalea	181 (69,1)	183 (63,8)	N/A	138 (67,9)	99 (65,2)	84 (62,2)
Manifestaciones hemorrágicas						
Epistaxis	19 (7,3)	26 (9,1)	13 (15,5)	13 (6,4)	10 (6,6)	16 (11,9)
Hemoptisis	1 (0,4)	2 (0,7)	1 (1,2)	1 (0,5)	0 (0,0)	2 (1,5)
Hematemesis	5 (1,9)	7 (2,4)	4 (4,8)	3 (1,5)	5 (3,3)	2 (1,5)
Gingivorragia	12 (4,6)	11 (3,8)	4 (4,8)	7 (3,5)	1 (0,7)	10 (7,4)
Petequias	21 (8)	36 (12,5)	18 (21,5)	18 (8,9)	22 (14,5)	14 (10,4)
Metrorragia <sup>7</sup>	3 (1,3) <sup>8</sup>	2 (2,5)	N/A	2 (2,5)	2 (2,5)	N/A
Choque	7 (2,7)	9 (3,1)	8 (9,5)	1 (0,5)	7 (4,6)	2 (1,5)
Melenas	4 (1,5)	5 (1,7)	0 (0)	5 (2,5)	3 (1,9)	2 (1,5)
Hematuria	3 (1,1)	1 (0,3)	1 (1,2)	0 (0)	0 (0)	1 (0,7)
Derrame pleural	6 (2,3)	8 (2,8)	4 (4,8)	4 (1,9)	4 (2,6)	4 (2,9)
Manifestaciones de extravasación						
Ascitis	4 (1,5)	4 (1,4)	2 (2,4)	2 (0,9)	1 (0,6)	3 (2,2)
Dolor abdominal	76 (29)	100 (34,8)	43 (51,2)	57 (28,1)	54 (35,5)	46 (34,1)
Alteración del estado de conciencia	1 (0,4)	3 (1,0)	1 (1,2)	2 (0,9)	1 (0,6)	2 (1,5)
Convulsiones	1 (0,4)	1 (0,3)	1 (1,2)	0 (0)	1 (0,6)	0 (0,0)
Hipotensión	8 (3,1)	15 (5,2)	8 (9,5)	7 (3,5)	10 (6,5)	5 (3,7)
Hepatomegalia	10 (3,8)	24 (8,4)	19 (22,6)	5 (2,4)	10 (6,5)	14 (10,4)
Edema agudo de pulmón	0 (0,0)	1 (0,3)	0 (0)	1 (0,5)	1 (0,6)	0 (0,0)
Oliguria	3 (1,1)	4 (1,4)	3 (3,6)	1 (0,5)	2 (1,3)	2 (1,5)
Total	262	287	84	203	152	135

Los datos se muestran como frecuencia absoluta (porcentaje).

<sup>1</sup>El denominador excluye a pacientes con manifestaciones hemorrágicas (n=243).

<sup>2</sup>El denominador excluye a pacientes con manifestaciones hemorrágicas (n=251).

<sup>3</sup>El denominador excluye a pacientes con manifestaciones hemorrágicas (n=66).

<sup>4</sup>El denominador excluye a pacientes con manifestaciones hemorrágicas (n=185).

<sup>5</sup>El denominador excluye a pacientes con manifestaciones hemorrágicas (n=130).

<sup>6</sup>El denominador excluye a pacientes con manifestaciones hemorrágicas (n=119).

<sup>7</sup>El denominador incluye a mujeres en edad fértil (n=80).

<sup>8</sup>El denominador incluye a mujeres en edad fértil (n=224).

N/A: no aplica

pediátrica fue la más afectada por el dengue grave (cuadro 2). Los pacientes fueron atendidos de acuerdo con los lineamientos de la guía clínica, los cuales estipulan que los pacientes sin signos de alarma deben atenderse ambulatoriamente, aquellos con signos de alarma deben hospitalizarse y los pacientes con dengue grave deben permanecer en la unidad de cuidados intensivos. En cuanto a las alteraciones reflejadas en los exámenes de laboratorio, se pudo observar que en la mayoría el recuento plaquetario estuvo en el rango de la trombocitopenia leve y que esta tendencia se mantuvo en el recuento de control. En cuanto al recuento leucocitario, se registró una tendencia hacia la leucopenia (cuadro 3).

Se presentaron tres muertes durante el periodo de estudio, dos en menores de 13 años y una en una paciente de 65 años. La primera muerte fue la de una niña afrocolombiana de 10 años procedente del municipio de Palmira, sin manifestaciones previas de crisis dolorosas pero con anemia normocítica normocromica manejada con ácido fólico, que había estado hospitalizada en una clínica de segundo nivel durante los cinco días en que presentó el estado febril del cuadro. En el sexto día de defervescencia, presentó choque y signos de coagulación intravascular diseminada, por lo que fue remitida a nuestra institución en donde sufrió una hemorragia alveolar y falleció.

**Cuadro 2.** Clasificación según la gravedad\*

	Total	Mujeres	Hombres	<13 años	>13 años
Dengue sin signos de alarma	115 (40,1)	59 (38,8)	56 (41,5)	18 (21,4)	97 (47,8)
Dengue con signos de alarma	100 (34,8)	60 (39,5)	40 (29,6)	30 (35,7)	70 (34,5)
Dengue grave	72 (25,1)	33 (21,7)	39 (28,9)	36 (42,9)	36 (17,7)
Total	287 (100)	152 (100)	135 (100)	84 (100)	203 (100)

\* Se incluyeron pacientes positivos para IgM de dengue; los datos se presentan como frecuencia (porcentaje).

**Cuadro 3.** Resultados de los exámenes de laboratorio

	Media	Desviación estándar	Máximo	Mínimo	n
Alanino aminotransferasa (U/l)	150	31	353	23	12
Aspartato aminotransferasa (U/l)	236	60	631	26	12
Creatinina (mg/dl)	1,0	0,1	2	1	9
Albúmina (mg/dl)	3,0	0,2	4	2	6
Recuento plaquetario inicial (mm <sup>3</sup> )	122.000	13.203	147.000	7.500	287
Recuento plaquetario de control (mm <sup>3</sup> )*	148.000	16.270	349.000	20.000	147
Hematocrito inicial (%)	45,2	0,3	51,0	28,0	287
Hematocrito de control (%)*	38,1	19	53,0	34	147
Recuento leucocitario (mm <sup>3</sup> )	5.495	412	76.000	1.052	287

\* Valor a las 48 horas (control) del examen inicial

El segundo caso se trató de un niño afrocolombiano de 5 años procedente del municipio de Cali, que no había presentado manifestaciones previas diferentes a la anemia normocítica normocrómica tratada con ácido fólico y que fue llevado a consulta después de tres días de fiebre alta no cuantificada; el niño fue internado inicialmente en una institución de segundo nivel de atención donde se le suministró hidratación según el esquema hasta el sexto día, en el que presentó defervescencia y choque resistente a inotrópicos y líquidos isotónicos, razón por la cual fue remitido a nuestra institución. En el momento del ingreso, se le hizo intubación orotraqueal y presentó hemorragia alveolar con signos de coagulación intravascular diseminada. En estos dos casos se hizo electroforesis de hemoglobina, en la cual se confirmó la presencia del rasgo de células falciformes.

La tercera muerte ocurrió en una paciente de 65 años procedente de Cali, que tenía antecedentes de falla cardíaca y renal, y consultó después de tres días con fiebre alta no cuantificada, astenia, adinamia, pero sin evidencia de sangrados y con tolerancia de la vía oral. La paciente fue hospitalizada de inmediato y respondió adecuadamente a la hidratación. Durante el quinto día de hospitalización presentó choque y, aunque su curva térmica se normalizó, tuvo oliguria que no mejoró con líquidos, estertores basales en ambos campos pulmonares y signos de hipoperfusión, ante lo cual se le dio soporte

inotrópico. Posteriormente, la paciente presentó paro cardíaco y falleció a pesar de las maniobras avanzadas de reanimación.

### Discusión

En este trabajo se reportan cifras similares de casos en hombres y mujeres, lo que puede deberse a que en las epidemias de dengue no suelen presentarse diferencias en este sentido (13-15), aunque en algunos estudios se ha registrado un mayor número de casos en hombres (16-18). Asimismo, en diversas series en varias zonas del mundo se ha reportado que la mayoría de los casos de dengue grave y de otros tipos se ha presentado en menores de edad (19,20), lo cual no coincide con lo reportado en Bucaramanga, donde solo 25,0 % de la población afectada era menor de 13 años (15).

En este estudio el aumento del número de casos reportados en el mes de abril concordó con un mayor volumen de precipitaciones en el departamento del Valle del Cauca. Esta tendencia se ha documentado en diversos estudios, en los que se encontró que la mayoría de los casos coincidía con la temporada de lluvias debido a la disminución de las temperaturas, el aumento de la humedad relativa y la disminución de la tasa de evaporación, lo que facilita que se mantengan los criaderos y se acelere el ciclo de vida del mosquito (21,22).



Los síntomas y signos, como la fiebre, las mialgias y las artralgiás, reportados en este trabajo, fueron similares a los reportados por otros autores (13-18). Sin embargo, el derrame pleural y la hepatomegalia, que fueron características inusuales en los pacientes estudiados y constituyen signos de choque, se han reportado en más de un tercio de los casos en otros estudios (14,16). Cabe destacar que estos signos se presentaron con frecuencia similar en los distintos grupos de edad, en contraste con otras series en las que se ha reportado un mayor número de casos en la población pediátrica (15).

También, debe considerarse que, al igual que en Bucaramanga, la gravedad del dengue y las manifestaciones hemorrágicas fueron más frecuentes en niños, y que dichas manifestaciones pueden llevar a choque e incluso a la muerte (15). En este estudio se reportó el antecedente de drepanocitosis en dos de los pacientes fallecidos, condición que, infortunadamente, es una enfermedad huérfana cuyo tratamiento no se contempla en las normas. En este sentido debe anotarse que la distribución de hemoglobinopatías en el Valle del Cauca puede llegar a 8,3 % (23), por lo que la tamización activa debería implementarse en este departamento tal como se hace en algunas otras regiones con menor prevalencia de la enfermedad (24).

La clasificación de la OMS no incluye las manifestaciones inusuales y las enfermedades concomitantes, sobre cuyo manejo no hay claridad suficiente y que pueden ser mortales en los pacientes que las presentan (18). Sin embargo, en algunos estudios en la India se han reportado cifras de manifestaciones inusuales similares a las de este estudio, aunque en el estudio de Sahana, *et al.* (16), la observación se hizo en población pediátrica mientras que, en este, el universo de la muestra fue más amplio.

Se debe insistir en el diagnóstico y el tratamiento oportunos, así como en diferenciar el dengue de otras arbovirosis e infecciones bacterianas o parasitarias, como la fiebre de chikunguña, la leptospirosis o la malaria, las cuales presentan un cuadro clínico inicial de características similares, pero cuyo manejo médico posterior es completamente distinto (25). Es de gran importancia conocer las cifras de mortalidad, así como las enfermedades concomitantes que puedan empeorar el cuadro clínico (como la drepanocitosis) y la edad de los pacientes (menores de 13 años)

con signos de mayor gravedad y manifestaciones hemorrágicas, ya que estas se consideran un factor de riesgo para el dengue grave. Por esta razón, deben elaborarse guías de práctica clínica específicas para el manejo de estos pacientes en las regiones de gran prevalencia de la enfermedad (15,26,27). Se recomiendan también estrategias de prevención primaria en salud que tengan en cuenta a la comunidad para el empoderamiento de las medidas de prevención y control, entre ellas, la inspección semanal y la eliminación de criaderos en los hogares y en sus alrededores antes de los periodos de lluvias (28).

Entre las limitaciones de este estudio cabe destacar la falta de información más precisa sobre la gravedad del dengue, puesto que no se tenía información sobre el volumen de líquidos administrados, sobre los valores de la presión venosa central y otros parámetros propios del manejo en las unidades de cuidados intensivos, ya que dichos registros no son captados por el programa de computador que se usa en la institución. Tampoco se sabía si los casos se trataban de infecciones primarias o secundarias, y además, hicieron falta más exámenes de laboratorio.

### Agradecimientos

A la enfermera Anyela Mancilla Lucumí, jefe de salud pública de la Clínica Universitaria Rafael Uribe Uribe, por su colaboración en la elaboración de la base de datos.

### Conflicto de intereses

Los autores no manifiestan ningún conflicto de intereses.

### Financiación

No se recibió financiación alguna.

### Referencias

1. **Kulkarni RD, Patil SS, Ajantha GS, Upadhyaya AK, Kalabhavi AS, Shubhada RM, et al.** Association of platelet count and serological markers of dengue infection - importance of NS1 antigen. *Indian J Med Microbiol.* 2011;29:359-62. <http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.90159>
2. **Hermann LL, Thaisomboonsuk B, Poolpanichupatam Y, Jarman RG, Kalayanarooj S, Nisalak A, et al.** Evaluation of a dengue NS1 antigen detection assay sensitivity and specificity for the diagnosis of acute dengue virus infection. *PloS Negl Trop Dis.* 2014;8:e3193. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003193>
3. **Datta S, Wattal C.** Dengue NS1 antigen detection: A useful tool in early diagnosis of dengue virus infection. *Indian J Med Microbiol.* 2010;28:107-10. <http://dx.doi.org/10.4103/0255-0857.62484>

4. **Cavalcanti LP, Coelho IC, Vilar DC, Holanda SG, Escóssia KN, Souza-Santos R.** Clinical and epidemiological characterization of dengue hemorrhagic fever cases in northeastern, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43:355-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822010000400003>
5. **Cordeiro MT, Silva AM, Brito CA, Nascimento EJ, Magalhães MC, Guimarães GF, et al.** Characterization of a dengue patient cohort in Recife, Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:1128-34.
6. **Ministerio de la Protección Social.** Guía de atención integral del paciente con dengue, 2010. Fecha de consulta: 20 de octubre de 2014. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/Gu%C3%ADa%20para%20la%20atenci%C3%B3n%20cl%C3%ADnica%20integral%20del%20paciente%20con%20dengue.pdf>.
7. **Ministerio de Salud.** Situación actual de dengue a semana 12 de 2013. Periodo de análisis: 2008-2013. Fecha de consulta: 10 de noviembre de 2014. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/INFORME%20SITUACION%20DE%20DENGUE.pdf>.
8. **Capeding MR, Chua MN, Hadinegoro SR, Hussain II, Nallusamy R, Pitisuttithum P, et al.** Dengue and other common causes of acute febrile illness in Asia: An active surveillance study in children. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e2331. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002331>
9. **Simmons CP, Farrar JJ, Nguyenv V, Wills B.** Dengue. *N Engl J Med.* 2012;366:1423-32. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1110265>
10. **Hsieh CJ, Chen MJ.** The commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA may be superior to IgM detection, virus isolation and RT-PCR for rapid laboratory diagnosis of acute dengue infection based on a single serum sample. *J Clin Virol.* 2009;44:102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2008.10.003>
11. **World Health Organization.** Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd edition. Geneva: WHO; 1997. p. 12-23.
12. **Organización Panamericana de la Salud.** Dengue: guías de atención para enfermos en la región de las Américas 2010. Fecha de consulta: 4 de mayo de 2015. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=11239&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=11239&Itemid).
13. **Chakravarti A, Arora R, Luxemburger C.** Fifty years of dengue in India. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2012;106:273-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.12.007>
14. **Pires Neto R da J, de Sá SL, Pinho SC, Pucci FH, Teófilo CR, Evangelista PD, et al.** Dengue infection in children and adolescents: Clinical profile in a reference hospital in northeast Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46:765-8. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-1716-2013>.
15. **González AL, Martínez RA, Villar LA.** Evolución clínica de pacientes hospitalizados por dengue en una institución de salud de Bucaramanga, Colombia. *Biomédica.* 2008;28:531-43. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v28i4.58>
16. **Sahana KS, Sujatha R.** Clinical profile of dengue among children according to revised WHO classification: Analysis of a 2012 outbreak from southern India. *Indian J Pediatr.* 2015;82:109-13. <http://dx.doi.org/10.1007/s12098-014-1523-3>
17. **Khan NA, Azhar EI, El-Fiky S, Madani HH, Abuljadial MA, Ashshi AM, et al.** Clinical profile and outcome of hospitalized patients during first outbreak of dengue in Makkah, Saudi Arabia. *Acta Trop* 2008;105:39-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.09.005>
18. **Karoli R, Fatima J, Siddigi Z, Kazmi KI, Sultania AR.** Clinical profile of dengue infection at teaching hospital in North India. *J Infect Dev Ctries.* 2012;6:551-4. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.2010>
19. **Gunasekaran P, Kaveri K, Mohana S, Arunagiri K, Babu BV, PriyaPP, et al.** Dengue disease status in Chennai (2006-2008): A retrospective analysis. *Indian J Med Res.* 2011;133:322-5.
20. **Kabilan L, Balasubramanian S, Keshava S, Satyanarayana K.** The 2001 dengue epidemic in Chennai. *Indian J Pediatr.* 2005;72:919-23.
21. **Chakravarti A, Kumaria R.** Eco-epidemiological analysis of dengue infection during an outbreak of dengue fever, India. *Virol J.* 2005;2:32. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-2-32>
22. **Mattar S, Morales V, Cassab A, Rodríguez-Morales AJ.** Effect of climate variables on dengue incidence in a tropical Caribbean municipality of Colombia, Cereté, 2003-2008. *Int J Infect Dis.* 2013;17:e358-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2012.11.021>.
23. **Rosero MJ, Bermúdez AJ.** Análisis de hemoglobinas en regiones afrocolombianas usando muestras de sangre seca de cordón umbilical. *Acta Med Colomb.* 2012;37:117-26.
24. **Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas.** Guía de práctica clínica sobre la enfermedad de células falciformes pediátrica 2010. Fecha de consulta: 25 de noviembre de 2014. Disponible en: <http://www.madrid.org/cs/Satellite?blobcol=urldata&blobheader=application%2Fpdf&blobheadername1=Content-disposition&blobheadername2=cadena&blobheadervalue1=filename%3DG+FALCIF+SEHOP+2010+pdf.pdf&blobheadervalue2=language%3Des%26site%3DPortalSalud&blobkey=id&blobtable=MungoBlobs&blobwhere=1272009829651&ssbinary=true>.
25. **Arroyave E, Londoño AF, Quintero JC, Agudelo-Flórez P, Arboleda M, Díaz FJ, et al.** Etiología y caracterización epidemiológica del síndrome febril no palúdico en tres municipios del Urabá antioqueño, Colombia. *Biomédica.* 2013;33(Supl.1):99-107. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.734>
26. **Moesker FM, Muskiet FD, Koeijers JJ, Fraaij PL, Gerstenbluth I, van Gorp EC, et al.** Fatal dengue in patients with sickle cell disease or sickle cell anemia in Curaçao: Two case reports. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e2203. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002203>
27. **Mosnier E, Demar M, Bernit E, Rousset D, Epelboin L, Nacher M, et al.** Dengue infection in sickle cell patients in French Guiana. *J Virol Retrovirol.* 2015;2:106.
28. **Cáceres-Manrique FM, Vesga-Gómez C, Angulo-Silva ML.** Empowerment for dengue prevention and control. *Rev Salud Pública (Bogotá).* 2010;12:798-806. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642010000500010>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Manejo de las redes sociales electrónicas por parte de los estudiantes de medicina: el caso de la publicación de fotografías de los pacientes y el profesionalismo médico

Pedro José Villamizar, Sandra Milena Moreno, Freddy Moreno

Facultad de Ciencias de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia

**Introducción.** Se hizo la caracterización sociodemográfica de los estudiantes de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana en Cali, Colombia, y se recolectó información sobre el acceso a internet, el manejo de redes sociales electrónicas y la difusión de fotografías con los pacientes durante las prácticas de docencia asistencial, lo cual es una práctica inapropiada y contraria al profesionalismo médico.

**Objetivo.** Determinar el manejo de las redes sociales electrónicas por parte de los estudiantes de medicina, en cuanto a la publicación de fotografías con los pacientes.

**Materiales y métodos.** Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal que caracterizó a los estudiantes de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali. De los 423 estudiantes matriculados en enero de 2013, 299 diligenciaron una encuesta diseñada con el programa Cardiff TELEform®, versión 10.0. Asimismo, se constituyó un grupo focal con 20 estudiantes escogidos aleatoriamente para discutir sobre la publicación de fotografías en las redes sociales electrónicas.

**Resultados.** El 97,6 % de los estudiantes encuestados manifestó ser usuario activo de, por lo menos, una de las principales redes sociales electrónicas (96,2 % de Facebook, 70,5 % de Instagram y 44,1 % de Twitter). El 17,6 % (52) manifestó haber publicado, por lo menos, en una ocasión una fotografía tomada durante la atención a los pacientes.

**Conclusión.** La gran mayoría de los estudiantes tenía teléfonos inteligentes y había publicado su perfil de usuario en las principales redes sociales electrónicas, a través de las cuales difundían fotografías de los pacientes durante la atención médica asistencial, así como durante diversas actividades, lo que podría tener implicaciones éticas y legales, e ir en contra del profesionalismo médico.

**Palabras clave:** educación de pregrado en medicina, estudiantes de medicina, red social, profesionalismo médico, ética médica.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2646>

### Management of electronic social networks by students of medicine: The case of publication of photographs with patients and professional medical conduct

**Introduction:** The socio-demographic characterization of medical students at the *Pontificia Universidad Javeriana* in Cali, Colombia, was made using a survey and focus group discussion to collect information on access to the Internet, management of electronic social networks and the dissemination of photographs with patients taken during medical teaching rounds, a practice that constitutes a breach of professional medical conduct.

**Objective:** To identify the management of social electronic networks by students of medicine with respect to the publication of photographs with patients.

**Materials and methods:** A descriptive cross-sectional study was undertaken to characterize students of medicine at the *Pontificia Universidad Javeriana* in Cali. Of the 423 students enrolled in January 2013, 299 participated in a survey designed with the software Cardiff TELEform®, version 10.0. Twenty students were also selected at random for a focus group discussion on the publication of photographs with patients on electronic social networks.

**Results:** Of the students surveyed, 97.6% claimed to be active users of at least one of the main electronic social networks (96.2% Facebook, 70.5% Instagram and 44.1% Twitter). Of these, 52 (17.6%) admitted having published a photograph showing patient care on at least one occasion.

#### Contribución de los autores:

Todos los autores participaron en la revisión sistemática de la bibliografía, el diseño del proyecto de investigación, la obtención, el análisis y la discusión de los resultados, y la elaboración y revisión del manuscrito.

**Conclusion:** Most of the students had smartphones and user profiles on the main social electronic networks, on which they disseminated photographs of patients taken during teaching rounds, as well as images of various activities which could have ethical and legal implications and contravene standards of professional medical conduct.

**Key words:** Education, medical, undergraduate; students, medical; social networking; ethics, medical.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2646>

En la primera década del siglo XXI, el uso de las redes sociales a través de internet transformó las prácticas sociales de las personas e instituciones. Las redes sociales constituyen un medio social virtual que permite a los seres humanos establecer relaciones por medio de un conjunto de redes de comunicación interconectadas entre sí (1,2).

Entre las redes sociales electrónicas más reconocidas se encuentran Facebook, Instagram, Twitter, MySpace, YouTube y LinkedIn, en cuyas plataformas virtuales los usuarios pueden compartir mensajes de texto, fotografías, videos y accesos directos a diversas fuentes de información disponibles en internet (3,4), en una red compleja que cuenta con cerca de mil millones de personas, lo que ha transformado la forma en que las personas interpretan la ética de sus relaciones con amigos, compañeros de trabajo, padres, hijos, empleadores, empleados, profesores, estudiantes, vendedores, compradores e, inclusive, las relaciones entre médicos y pacientes (5,6).

Si bien el propósito inicial de cada red social electrónica era funcionar como una herramienta de conexión de los seres humanos con sus conocidos y con otras personas de su mismo entorno, los usuarios comenzaron a expresarse en ámbitos psicológicos y afectivos que pueden tener implicaciones éticas y legales. En este sentido cabe mencionar la publicación de datos, fotos y videos que violan la privacidad de otras personas y las suplantan creando perfiles falsos y violando los derechos de autor con descargas ilegales y la obtención o intercambio de contenidos (7-9).

El estudio de las implicaciones éticas y legales del emergente fenómeno de las redes sociales electrónicas, se centra en los patrones y efectos del uso y la integración de los dispositivos

electrónicos y de las llamadas nuevas tecnologías de la información y la comunicación en muchas esferas de la vida cotidiana, lo que afecta significativamente las relaciones humanas en la familia, en la comunidad, en las instituciones educativas y en las empresas prestadoras de servicios en salud, por citar las de mayor impacto sociológico. Dicho estudio constituye hoy una rama de la ética aplicada denominada "ética informática" o "ciberética", la cual evalúa y analiza el impacto social y ético de las citadas tecnologías (10).

La discusión se ha centrado en el manejo de la privacidad en las redes sociales electrónicas a partir de las buenas prácticas de control de la información en términos de acceso e integridad contextual (11,12). Si bien es cierto que los administradores de estas redes manifiestan explícitamente que el material publicado es de total responsabilidad de los usuarios, los mecanismos para verificar si se ha vulnerado el derecho a la privacidad, o se ha incurrido en prácticas inadecuadas desde el punto de vista ético, no resultan contundentes. Además, ante lo atractivo y útil que puede resultar el libre acceso a toda la información, los usuarios no comprenden o minimizan las consecuencias de compartir e intercambiar información en las redes sociales, lo cual se ha interpretado como la aceptación social de la pérdida de intimidad y la ausencia de límites que determinen qué tan público o privado debe ser un perfil de usuario en los entornos virtuales y cómo se debe enlazar con la vida real (13,14).

Con respecto al uso de las redes sociales electrónicas por parte de los estudiantes, residentes y profesionales de la medicina, las aplicaciones en los teléfonos móviles inteligentes y el acceso permanente a internet se han convertido en el mecanismo más rápido de intercambio de información personal y profesional mediante la publicación de comentarios y fotografías, lo cual puede catalogarse como una conducta inapropiada que compromete el profesionalismo y la ética médica, principalmente cuando se vulnera la privacidad y la confidencialidad de la información sobre los pacientes (15-17).

Correspondencia:

Freddy Moreno, Facultad de Ciencias de la Salud, Pontificia Universidad Javeriana, Calle 18 N° 118-250, Cali, Colombia  
Teléfono: (052) 321 8200, extensión 8927  
[fmorenog@javerianacali.edu.co](mailto:fmorenog@javerianacali.edu.co)

Recibido: 15/12/14; aceptado: 08/09/15



Este tipo de divulgación genera una serie de inconvenientes médicos y legales por mala práctica y responsabilidad profesional para las personas, las instituciones educativas y las empresas prestadoras de servicios de salud con las cuales se establecen convenios docente-asistenciales. Tales inconvenientes se inscriben en el ámbito de la vulneración de la confidencialidad de la historia clínica en lo legal, la identificación de los pacientes en lo ético y la violación del secreto médico en lo profesional (18-20). Así pues, si bien el desarrollo y el uso de las redes han generado un cambio de paradigma en la comunicación entre médico y paciente, médico e institución, y paciente e institución, también pueden vulnerar los principios del profesionalismo en la práctica médica (21).

El profesionalismo, que incluye entre otros aspectos el respeto por la privacidad de los pacientes (22-24), constituye una de las seis competencias básicas que deben desarrollar y mantener los estudiantes de Medicina durante el pregrado y la residencia, y los médicos en su ejercicio profesional. Hoy el uso masivo y poco controlado de las redes sociales electrónicas ha provocado un debate ético en este campo (25,26), pues los estudiantes y los profesionales de la Medicina utilizan estas redes para relacionarse con sus colegas y con sus pacientes, y como una herramienta médica que trasciende su uso exclusivo en el sitio de trabajo, lo cual si bien resulta beneficioso, los expone al riesgo constante de cruzar el límite entre lo que se considera un comportamiento profesional y lo que no. Al igual que cualquier ciudadano, los profesionales de la Medicina tienen la libertad y el derecho de usar las redes sociales, pero deben tener especial cuidado para no transgredir las normas éticas que rigen la profesión médica (27).

En este sentido, las asociaciones médicas y los colegios de médicos en diversos países han propuesto guías y manuales para reglamentar el comportamiento de los médicos en las redes sociales electrónicas (28-31). Entre las normas adoptadas, se ha planteado que la publicación de información y de fotografías de los pacientes tomadas durante la consulta, constituye una franca vulneración del derecho a la intimidad y a la confidencialidad de la información contenida en la historia clínica, lo cual tiene implicaciones éticas y legales y afecta negativamente la confianza de las personas en la profesión médica (19).

En este contexto, en el presente estudio se propuso analizar el manejo que los estudiantes de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali hacen de las redes sociales, específicamente en lo relacionado con la publicación de fotografías de los pacientes y el profesionalismo médico.

### **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal para analizar el manejo de las redes sociales electrónicas, específicamente la publicación de fotografías con los pacientes y el profesionalismo médico, a partir de la caracterización socio-demográfica de los estudiantes de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali (Colombia). No se tuvieron en cuenta los estudiantes de primer semestre, ya que este no había comenzado.

Los datos se recolectaron mediante una encuesta diligenciada por los participantes y estructurada con base en los siguientes dominios: 1) sociodemográfico y cultural; 2) académico y cognitivo; 3) socioafectivo y sexual; 4) ético, moral y religioso; 5) participativo y gremial; 6) político e ideológico; 7) relativo a la salud y el uso del tiempo libre, y 8) deportivo. Estos dominios se habían empleado en un estudio previo de caracterización del estudiante javeriano (32), de cuya información solo se utilizó la relacionada con el uso de las redes. Antes de la encuesta los estudiantes no recibieron ningún tipo de información adicional sobre el manejo de estas redes y el profesionalismo médico diferente a la información incluida en el plan de estudios en asignaturas como la de medicina basada en la etiqueta y la de bioética.

La encuesta se diseñó en el programa Cardiff TELEform®, versión 10.0, que permite la captura automática de los datos a partir de las respuestas al cuestionario mediante el sistema de reconocimiento óptico de caracteres con un lector óptico. Además, el programa consolida automáticamente la información de las encuestas y la exporta a una base de datos compatible con el programa IBM SPSS Statistics®, versión 21.0, con el cual se analizan las frecuencias.

Por otra parte, se seleccionaron aleatoriamente 20 estudiantes con quienes se constituyó un grupo focal para recolectar información mediante una entrevista grupal semiestructurada (33,34) en torno al acceso y el manejo de la información en las redes sociales más populares (Facebook, Instagram y Twitter), y con la cual se obtuvo información sobre

las prácticas, creencias, actitudes, sentimientos, experiencias y reacciones de los participantes, con el fin de determinar la realidad sobre el uso de dichas redes.

### **Consideraciones éticas**

Una vez el estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación en Humanos de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali, los estudiantes contestaron la encuesta tras aceptar su participación en el estudio y firmar el consentimiento informado. En todo momento se preservó la confidencialidad de la información de acuerdo con la Resolución 008430 del Ministerio de la Protección Social (35) y con la Declaración de Helsinki (36).

### **Resultados**

De los 423 estudiantes matriculados en el programa de Medicina en el primer período (enero-junio) de 2013, 299 (70,7 %) de los inscritos entre el segundo y el octavo semestres contestaron la encuesta; 64,3 % correspondía a mujeres y, 35,7%, a hombres; 90,9 % era mayor de 18 años, aunque al ingresar al plan de estudios en el primer semestre, 43,7 % era menor de 18 años. En el momento de contestar la encuesta la edad mínima de los participantes era de 16 años y, la máxima, de 28 (media de 19,79; mediana de 20,00; desviación estándar de 1,980 y varianza de 3,921). Con respecto al estrato socioeconómico de los estudiantes residentes en la ciudad de Cali, 69,9 % habitaba viviendas de estratos 4, 5 y 6, y 9,4%, de los estratos 1, 2 y 3, en tanto que 20,7 % no sabía cuál era el estrato en el momento de responder la encuesta. Todos los estudiantes contaban en sus viviendas con los servicios públicos de energía, agua, alcantarillado y recolección de basuras. En cuanto a los medios de comunicación disponibles en el lugar de residencia, todos los estudiantes tenían servicio de telefonía fija y telefonía celular, televisión e internet, y otros contaban con telefonía satelital y radioteléfono (37 %).

Del total de participantes, 292 (97,6 %) manifestaron ser usuarios activos de, por lo menos, una de las principales redes sociales: 281 (96,2 %) de Facebook, 206 (70,5 %) de Instagram y 129 (44,1 %) de Twitter; 149 (51 %) estudiantes tenían un perfil de usuario en las tres redes sociales mencionadas.

De los 292 estudiantes que tenían un perfil de usuario en alguna de las redes sociales, 213 (73 %) contaban con teléfonos inteligentes y acceso directo a ellas, 35 (12 %) accedían a

través de dispositivos con conexión a internet inalámbrica como tabletas electrónicas, y 44 (15 %) lo hacían a través de computadores portátiles y de oficina. El 17,8 % de los usuarios de las redes sociales tenía un perfil privado y, el resto, uno público con algunas restricciones.

De los 213 estudiantes poseedores de teléfonos inteligentes, 210 (98,6 %) se mantenían conectados en tiempo real permanentemente, de tal forma que accedían a las redes sociales cada vez que recibían una notificación automática. Los tres (1,4 %) estudiantes restantes accedían digitando su usuario y contraseña máximo dos veces al día, principalmente al iniciar y al finalizar el día.

Del total de estudiantes, 190 (65,1 %) manifestaron que publicaban habitualmente información escrita (mensajes de texto) o gráfica (fotografías y videos) con el tipo de mensaje propio de cada red social y de acuerdo con las capacidades técnicas de cada sistema.

Entre los participantes, 52 (17,6 %) manifestaron haber publicado, por lo menos, en una ocasión una fotografía tomada durante la atención a pacientes; 46 (88 %) de estas publicaciones fueron hechas por estudiantes de sexto a octavo semestre que habían comenzado sus rotaciones en las diferentes instituciones prestadoras de servicios de salud; las seis (12 %) publicaciones restantes correspondían a actividades extramurales durante las prácticas de salud pública. Por otra parte, 263 (87,9 %) estudiantes manifestaron saber que la publicación de fotografías tomadas durante la atención a los pacientes en las que fuera posible identificarlos, constituía una mala práctica profesional con implicaciones éticas y legales; entre los estudiantes con cuenta de usuario en alguna de las redes, 17 (5,8 %) habían hecho este tipo de publicaciones, principalmente en Facebook e Instagram, aun sabiendo las implicaciones legales y éticas.

Por otro lado, 285 (95,3 %) estudiantes manifestaron que habían publicado información que de una u otra forma podría catalogarse como poco profesional, fundamentalmente en forma de comentarios y fotografías de actividades sociales y culturales que, tomadas fuera de contexto, podían interpretarse como situaciones de intoxicación por consumo de alcohol, o imágenes de contenido sexual explícito o de consumo de cigarrillo, así como la expresión de posiciones personales frente a problemas médicos y sociales actuales, como el aborto, la eutanasia, el matrimonio y la adopción por parte de parejas homosexuales y el consumo

de marihuana como método terapéutico, entre otras, las cuales, por ser controversiales, podían interpretarse como poco profesionales por parte de personas del común y de pacientes con acceso a los perfiles de usuario.

En el grupo focal, los estudiantes manifestaron que efectivamente habían publicado fotografías de ellos mismos durante la atención a pacientes en los sitios de práctica, principalmente en Facebook e Instagram. Al discutir sobre el propósito de hacer este tipo de publicaciones, las respuestas casi unánimes fueron que “estoy demostrando a familiares y amigos que como médicos en formación ya estamos en contacto con los pacientes” y que “tengo sentido de pertenencia por la profesión y por la universidad”. Cuando se les preguntó si reconocían que dicha práctica no era profesional ni ética, la mayoría dijo que “no percibo nada de malo en subir este tipo de fotografías”, “no estamos haciendo nada de malo” y “todos lo hacen sin ningún problema, incluso médicos”. De igual forma, los estudiantes manifestaron que las fotografías y su publicación habían sido autorizadas verbalmente por los pacientes y, en el caso de los niños, por los padres y acudientes, por lo que al preguntárseles si había algún asentimiento o consentimiento informado anexado en la historia clínica, la respuesta fue negativa.

Frente a la pregunta de si sabían que la publicación de fotografías con los pacientes en las redes sociales tenía implicaciones éticas y legales, las respuestas incluyeron “no sé”, “no creo” y “sí, he leído algo al respecto”, pero incluso quienes dijeron tener conocimiento de ello, habían publicado fotografías argumentando que “no hay ninguna mala intención”.

Con respecto al manejo poco profesional de la información, hubo consenso sobre el derecho a la libre expresión y a la separación entre la vida cotidiana y el ámbito profesional; en este contexto, se registraron expresiones como “yo hago con mi tiempo libre lo que quiera”, “yo puedo publicar mis actividades personales en mi perfil de usuario sin que esto afecte mi imagen profesional” y “no creo que actividades como fumar cigarrillo o tomarme unos tragos afecte mi profesionalismo”.

## Discusión

El profesionalismo es una competencia fundamental para la obtención y el mantenimiento de la licencia de médico, y la certificación y renovación del certificado de la especialización

médica en muchos países. No obstante, las personas divulgan información sobre su vida personal sin someterse al escrutinio profesional, lo que desemboca en la publicación imprudente de opiniones discriminatorias y en la expresión de conductas sexuales inapropiadas o estados de intoxicación por alcohol que reflejan un perfil individual incompatible con los requisitos de ingreso a las instituciones, las cuales consideran esto como una conducta falta de profesionalismo (22,23,37,38). El punto de quiebre radica en que la mayoría de los estudios concluyen que entre los estudiantes de Medicina aspirantes a una residencia y los educadores médicos no existe un consenso sobre lo que se considera una publicación imprudente, inadecuada o poco profesional (17), por lo que esgrimen el argumento de no ser conscientes de que las publicaciones en las redes sociales electrónicas pueden reflejar una falta de profesionalismo médico (19).

Sin embargo, y pese a que el uso no profesional de estas redes por parte de médicos se encuentra muy bien documentado, y que las sociedades profesionales han elaborado manuales de comportamiento y manejo ético y profesional de los perfiles de usuario, no se han desarrollado mecanismos para detectar estas conductas médicas (39), aun cuando se trata de una comunidad profesional que ejerce la regulación de las conductas de sus integrantes (comités de ética médica, asociaciones de especialistas, cuerpos colegiados, asociaciones académicas, etc.) y en la que todos deben velar por el cumplimiento de las normas éticas y profesionales, inclusive en el escenario virtual de las redes sociales (40-43).

Según los resultados de la discusión del grupo focal, esta se centró en el desconocimiento de los estudiantes de las implicaciones éticas y legales de la publicación de fotografías de los pacientes en las redes, lo cual indudablemente es inapropiado e imprudente, antiprofesional y antiético, y resulta en una vulneración del derecho a la privacidad de los pacientes, a la confidencialidad de su historia clínica y al secreto médico. Sin embargo, los estudiantes manifestaron su desacuerdo sobre lo que se puede considerar e interpretar como inapropiado y poco profesional en el ejercicio de la Medicina cuando se trata de la divulgación a través de las redes sociales de hechos de su vida privada. De todas maneras, se percibió cierto grado de conciencia de que los profesores, las directivas y los mismos pacientes de una u otra forma tienen acceso a los perfiles de usuarios y

que los comentarios y las fotografías inapropiadas e imprudentes que vulneran la confidencialidad de la información sobre los pacientes pueden generar expectativas negativas sobre el comportamiento ético y profesional del médico en formación, lo que finalmente afectará también la imagen de la institución de educación superior y de la institución prestadora de servicios.

En este sentido, se discutió la Ley 23 de 1981 (44) en la cual se estipula que la historia clínica “es un documento privado sometido a reserva que únicamente puede ser conocido por terceros previa autorización del paciente” y que “el médico está obligado a guardar el secreto profesional en todo aquello que por razón del ejercicio de su profesión haya visto, oído o comprendido, salvo en los casos contemplados por disposiciones legales”; así como la Resolución 1995 de 1999 (45) que determina que la historia clínica “es un documento privado, obligatorio y sometido a reserva, en el cual se registran cronológicamente las condiciones de salud del paciente, los actos médicos y los demás procedimientos ejecutados por el equipo de salud que interviene en su atención”. Por lo tanto, las fotografías tomadas a los pacientes, incluso si estos las han autorizado, hacen parte de la historia clínica y de los documentos legales, técnicos, científicos y administrativos pertinentes en los procesos de atención y, por ende, quedan cobijadas por la citada legislación.

Asimismo, se dejó claro que la intimidad, la privacidad y la confidencialidad constituyen derechos fundamentales de los seres humanos, adoptados por la Asamblea General de la Organización de las Naciones Unidas y ratificados por la Corte Interamericana de Derechos Humanos, a la cual Colombia se encuentra adscrita, y protegidos por los principios de la Asociación Médica Mundial, incluida la Declaración de Helsinki, y por el estado colombiano en sus leyes, empezando por la Constitución Política.

Al comparar los resultados de este estudio con otros reportes (cuadro 1) hallados en la revisión sistemática de la literatura a través de PubMed, quedó claro que la investigación de las implicaciones éticas y legales del manejo de la información en las redes sociales por parte de estudiantes y residentes de Medicina y de profesionales médicos, se centra en la vulneración del derecho a la confidencialidad de los pacientes y en el detrimento del profesionalismo médico.

Aunque este estudio tiene limitaciones porque no valoró directamente los perfiles de usuario de los estudiantes en las redes sociales, con la encuesta y la discusión en el grupo focal se pudo tener una percepción sobre lo que representa para los estudiantes la publicación de fotografías de los pacientes durante su atención.

La encuestas y la discusión del grupo focal permitieron determinar que la mayoría de los estudiantes desconoce las implicaciones éticas y legales de la publicación y difusión de fotografías que vulneran la confidencialidad de la atención médica de los pacientes, y que no logran determinar el punto en el que las publicaciones y los comentarios sobre sus actividades socioculturales pueden resultar controversiales en nuestra sociedad y ser juzgadas fuera de contexto como poco profesionales por personas del común, así como por los pacientes y por los integrantes de la comunidad académica, científica y asistencial que, de una u otra forma, tienen acceso a los perfiles de usuario.

En conclusión, la muestra estudiada correspondía a una población homogénea, con las mismas características sociodemográficas y de acceso a teléfonos celulares inteligentes que les permitían mantenerse conectados en tiempo real a las redes, principalmente Facebook, y acceder a los comentarios y fotografías publicadas por ellos mismos y por sus contactos. Asimismo, una cantidad significativa de estudiantes había publicado en las redes sociales fotografías tomadas en los sitios de docencia asistencial, en diferentes instituciones prestadoras de servicios de salud y durante la atención a los pacientes. De igual forma, los estudiantes manifestaron que publicaban contenidos que podrían ser catalogados como poco profesionales. Las redes sociales preferidas para este tipo de publicaciones eran Facebook e Instagram.

La recomendación, entonces, es que frente a la tendencia a publicar fotografías que vulneran la confidencialidad de la historia clínica, permiten conocer la identidad de los pacientes, de las instituciones académicas y de los prestadores de servicios de salud, y revelan el secreto médico, se incluyan en las cátedras de Ética Médica y Bioética, y en cualquier espacio académico afín, conferencias y clases magistrales que propicien la discusión sobre las implicaciones éticas y legales de la difusión de fotos de los pacientes en las redes sociales. Lo mismo aplica para las actividades socioculturales que pueden comprometer



**Cuadro 1.** Estudios sobre el uso no profesional de las redes sociales electrónicas por parte de estudiantes y profesionales de Medicina

<b>Autores</b>	<b>Año</b>	<b>Lugar</b>	<b>Tipo de estudio</b>	<b>Muestra</b>	<b>Objetivo</b>	<b>Resultados y conclusiones</b>
Thompson, <i>et al.</i> (15)	2008	Estados Unidos	Descriptivo	Estudiantes de Medicina y residentes	Determinar el uso no profesional de Facebook	El 44,5 % contaba con perfil de usuario, 37,5 % manejaba perfiles privados, 64,3 % publicaba mensajes de texto, enlaces y fotografías con gran frecuencia.
Chretien, <i>et al.</i> (19)	2009	Estados Unidos	Descriptivo	Estudiantes de Medicina	Determinar el uso no profesional de las RSE	El 52 % de los participantes publicaba mensajes con lenguaje obsceno, 48 % usaba expresiones discriminatorias, 38 % incluía representaciones textuales y gráficas sugestivas de contenido sexual, 39 % aludía al consumo e intoxicación por alcohol y sustancias ilícitas.
Landman, <i>et al.</i> (21)	2010	Estados Unidos	Descriptivo	Residentes y profesores de Medicina	Determinar el uso no profesional de Facebook	El 64 % de los residentes y 22 % de los profesores contaban con perfil de usuario en Facebook, 50 % de los perfiles era público, 31 % de las publicaciones se relacionaba con la práctica médica, 14 % vulneraba la privacidad de los pacientes.
Chretien, <i>et al.</i> (37)	2011	Estados Unidos	Descriptivo	Profesionales de Medicina	Determinar el uso no profesional de Twitter	Se evidenció la vulneración de la confidencialidad de la información de los pacientes en los perfiles de usuario de Twitter.
Greysen, <i>et al.</i> (40)	2012	Estados Unidos	Descriptivo retrospectivo	Profesionales de Medicina	Evidenciar denuncias por conductas no apropiadas en las redes sociales electrónicas que condicionaran el profesionalismo de los médicos	El 92 % de los participantes había vulnerado el derecho a la confidencialidad de la información de los pacientes y la prescripción de medicamentos sin una relación clínica establecida.
von Muhlen M, <i>et al.</i> (46)	2012	Suecia	Revisión sistemática de la literatura	Estudiantes y profesionales de Medicina, Odontología, Enfermería y Farmacéutica	Determinar el uso de Facebook y Twitter	Entre 4 y 68,2 % de los participantes publicaba contenidos que vulneraban el derecho a la confidencialidad del paciente.
Golden, <i>et al.</i> (25)	2012	Estados Unidos	Descriptivo	Residentes de Otorrinolaringología	Evaluar el uso de Facebook	El 51 % de los perfiles de usuario era totalmente público, y 11 % de las publicaciones se consideraron potencialmente violatorias de la ética y del profesionalismo médico.
Farooqi, <i>et al.</i> (47)	2013	Pakistán	Descriptivo	Estudiantes de Medicina	Evaluar el efecto de Facebook en la vida social	El 64 % de los participantes tenía perfil de usuario, 40,1 % revisaba las notificaciones de su cuenta tres veces al día como mínimo, sin importar la actividad que se encontrara haciendo.
Brynof, <i>et al.</i> (48)	2013	Suecia	Descriptivo	Estudiantes y profesionales de Medicina	Evaluar el contenido de los mensajes de Twitter	El 1,9 % se consideró como publicaciones poco profesionales y 0,2%, como potencialmente violatorias de la privacidad de los pacientes.
Ponce, <i>et al.</i> (26)	2013	Estados Unidos	Descriptivo	Médicos que solicitaron residencias	Evaluar el uso de Facebook	El 9 % tenía contenidos que vulneraban la ética médica debido a comportamientos poco profesionales.
Clyde, <i>et al.</i> (39)	2014	Estados Unidos	Descriptivo	Estudiantes de Medicina	Evaluar el uso de Facebook	La mayoría de publicaciones sobre situaciones personales y cotidianas se podían interpretar como poco profesionales.
Este estudio	2014	Colombia	Descriptivo	Estudiantes de Medicina	Evaluar el uso de Facebook, Twitter e Instagram	El 17,6 % de los participantes manifestó haber publicado por lo menos en una ocasión una fotografía tomada durante la atención a los pacientes; 95,3 % publicaba información que de una u otra forma podría catalogarse como poco profesional, fundamentalmente comentarios y fotografías relacionadas con actividades socioculturales.

el profesionalismo de los estudiantes, residentes y profesionales de la medicina, a quienes se les sugiere leer y seguir las recomendaciones que al respecto propone la Asociación Médica Mundial.

### Conflicto de intereses

Los autores del artículo hacen constar que no existe ningún tipo de conflicto de intereses que pueda poner en peligro la validez del estudio.

### Financiación

Este artículo original deriva del proyecto de investigación "Caracterización sociodemográfica y manejo del tiempo libre de la población estudiantil de la carrera de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Pontificia Universidad Javeriana - Cali 2013", el cual fue financiado con recursos de la convocatoria interna 2013-2014 de la Pontificia Universidad Javeriana de Cali, Colombia.

### Referencias

- Centola D.** The spread of behavior in an online social network experiment. *Science*. 2010;329:1194-7. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1185231>
- Ugander J, Backstrom L, Marlow C, Kleinberg J.** Structural diversity in social contagion. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109:5962-6. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1116502109>
- Boyd DM, Ellison NB.** Social network sites: Definition, history and scholarship. *J Comput Mediat Commun*. 2008;13:210-30. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1083-6101.2007.00393.x>
- Black EW, Thompson LA, Duff WP, Dawson K, Saliba H, Paradise NM.** Revisiting social network utilization by physicians-in-training. *J Grad Med Educ*. 2010;2:289-93. <http://dx.doi.org/10.4300/JGME-D-10-00011.1>
- Wilson RE, Gosling SD, Graham LT.** A review of Facebook research in the social sciences. *Perspect Psychol Sci*. 2012;7:203-20. <http://dx.doi.org/10.1177/1745691612442904>
- Liu J-G, Ren Z-M, Guo Q, Chen D-B.** Evolution characteristics of the network core in the Facebook. *PLoS ONE*. 2014;9:1-7. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0104028>
- Onnela JP, Reed-Tsochas F.** Spontaneous emergence of social influence in online systems. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:18375-80. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0914572107>
- Bugeja MJ.** Facing the Facebook. *The Chronicle of Higher Education*. January 23, 2006. Fecha de consulta: 8 de septiembre de 2014. Disponible en: <http://chronicle.com/article/Facing-the-Facebook/46904>.
- Dogruev N, Menevis I, Eyyam R.** What is the motivation for using Facebook? *Procedia - Social and Behavioral Sciences*. 2011;15:2642-6. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.sbspro.2011.04.162>
- Gotterbarn D.** The use and abuse of computer ethics. *Journal of Systems and Software*. 1992;17:75-80. [http://dx.doi.org/10.1016/0164-1212\(92\)90083-V](http://dx.doi.org/10.1016/0164-1212(92)90083-V)
- Bynum T.** Computer and information ethics. En: Zalta EN, editor. *The Stanford Encyclopedia of Philosophy*. Palo Alto: Stanford University; 2011. Fecha de consulta: 8 de septiembre de 2014. Disponible en: <http://plato.stanford.edu/archives/spr2011/entries/ethics-computer/>.
- Nissenbaum M.** Privacy as contextual integrity. *Washington Law Review*. 2004;79:119-57.
- Boyd D, Hargittai E.** Facebook privacy settings: Who cares? *First Monday*. 2010;15:13-20.
- Spinello RA.** Privacy and social networking technology. *International Review of Information Ethics*. 2011;16:41-6.
- Thompson LA, Dawson K, Ferdig R, Black EW, Boyer J, Coutts J, et al.** The intersection of online social networking with medical professionalism. *J Gen Intern Med*. 2008;23:954-7. <http://dx.doi.org/10.1007/s11606-008-0810-y>
- Lagu T, Kaufman EJ, Asch DA, Armstrong K.** Content of weblogs written by health professionals. *J Gen Intern Med*. 2008;23:1642-6. <http://dx.doi.org/10.1007/s11606-008-0726-6>
- Go PH, Klaassen Z, Chamberlain RS.** Attitudes and practices of surgery residency program directors toward the use of social networking profiles to select residency candidates: A nationwide survey analysis. *J Surg Educ*. 2012;69:292-300. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsurg.2011.11.008>
- Papadakis MA, Teherani A, Banach MA, Knetter TR, Rattner SL, Stern DT, et al.** Disciplinary action by medical boards and prior behavior in medical school. *N Engl J Med*. 2005;353:2673-82. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMsa052596>
- Chretien KC, Greysen SR, Chretien JP, Kind T.** Online posting of unprofessional content by medical students. *JAMA*. 2009;302:1309-15. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1387>
- Thompson LA, Black E, Duff P, Paradise N, Saliba H, Dawson K.** Protected health information on social networking sites: Ethical and legal considerations. *J Med Internet Res*. 2011;13:8. <http://dx.doi.org/10.2196/jmir.1590>
- Landman MP, Shelton J, Kauffmann RM, Dattilo JB.** Guidelines for maintaining a professional compass in the era of social networking. *J Surg Educ*. 2010;67:381-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsurg.2010.07.006>
- Wojtczak A.** Profesionalismo médico, una problemática global. *Educ Med*. 2006;9:144-45. <http://dx.doi.org/10.4321/S1575-18132006000300009>
- Morales-Ruiz JC.** Formación integral y profesionalismo médico: una propuesta de trabajo en el aula. *Educ Med*. 2009;12:73-82. <http://dx.doi.org/10.4321/S1575-18132009000300003>
- Rodríguez JJ.** Definición de profesión médica, profesional médico/a y profesionalismo médico. *Educ Med*. 2010;13:63-6. <http://dx.doi.org/10.4321/S1575-18132010000200001>
- Golden JB, Sweeny L, Bush B, Carroll WR.** Social networking and professionalism in otolaryngology residency applicants. *Laryngoscope*. 2012;122:1493-6. <http://dx.doi.org/10.1002/lary.23388>

26. **Ponce BA, Determann JR, Boohaker HA, Sheppard E, McGwin Jr G, Theiss S.** Social networking profiles and professionalism issues in residency applicants. An original study-cohort study. *J Surg.* 2013;70:502-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsurg.2013.02.005>
27. **Guseh JS, Brendel RW, Brendel DH.** Medical professionalism in the age of online social networking. *J Med Ethics.* 2009;35:584-6. <http://dx.doi.org/10.1136/jme.2009.029231>
28. **Shore R, Halsey J, Shah K, Crigger BJ, Douglas SP, Council on Ethical and Judicial Affairs of American Medical Association.** Report of the AMA Council on Ethical and Judicial Affairs: Professionalism in the use of social media. *J Clin Ethics.* 2011;22:165-72.
29. **British Medical Association.** Using social media: Practical and ethical guidance for doctors and medical students. London: British Medical Association; 2011. Fecha de consulta: 10 de septiembre de 2014. Disponible en: <http://bma.org.uk/practical-support-at-work/ethics/ethics-a-to-z>
30. **Mansfield SJ, Morrison SG, Stephens HO, Bonning MA, Wang SH, Withers AH, et al.** Social media and the medical profession. *Med J Aust.* 2011;194:642-4.
31. **Organización Médica Colegial.** Manual de estilo para médicos y estudiantes de medicina sobre el buen uso de redes sociales. Madrid: Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos de España; 2014. Fecha de consulta: 9 de septiembre de 2014. Disponible en: <http://eticamedicarrss.com/2014/05/13/manual-de-estilo-para-medicos-y-estudiantes-de-medicina-sobre-el-buen-uso-de-redes-sociales/>.
32. **Garnica K, Calero A.** Caracterización del estudiante javeriano. Voces y rostros de jóvenes javerianos. Cali: Decanatura del Medio Universitario de la Pontificia Universidad Javeriana; 2000.
33. **Aigner M.** La técnica de recolección de información mediante grupos focales. *La Sociología en sus Escenarios.* 2002;6:1-32.
34. **Escobar J, Bonilla FI.** Grupos focales: una guía conceptual y metodológica. Cuadernos Hispanoamericanos de Psicología. 2009;9:51-67.
35. **Ministerio de Salud.** Resolución 008430 del 4 de octubre. Resolución por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Bogotá: 1993. Fecha de consulta: 27 de julio de 2015. Disponible en: [http://www.urosario.edu.co/urosario\\_files/a2/a24fb07a-f561-4fcc-b611-af4374bb7.pdf](http://www.urosario.edu.co/urosario_files/a2/a24fb07a-f561-4fcc-b611-af4374bb7.pdf).
36. **Asociación Médica Mundial.** Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Declaración de Helsinki. Finlandia: 1964. Fecha de consulta: 27 de julio de 2015. Disponible en: [http://www.urosario.edu.co/EMCS/Documentos/investigacion/declaracion\\_helsinki/](http://www.urosario.edu.co/EMCS/Documentos/investigacion/declaracion_helsinki/).
37. **Chretien K, Azar J, Kind T.** Physicians on Twitter. *JAMA.* 2011;305:566-8. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2011.68>
38. **Lagu T, Greysen SR.** Physician, monitor thyself: Professionalism and accountability in the use of social media. *J Clin Ethics.* 2011;22:187-90.
39. **Greysen SR, Kind T, Chretien KC.** Online professionalism and the mirror of socialmedia. *J Gen Intern Med.* 2010;25:1227-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s11606-010-1447-1>
40. **Greysen SR, Chretien KC, Kind T, Young A, Gross P.** Physician violations of online professionalism and disciplinary actions: A national survey of state medical boards. *JAMA.* 2012;307:1141-2. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2012.330>
41. **McMahon JW.** Professionalism in the use of social media. Council on Ethical and Judicial Affairs. Chicago: American Medical Association; 2011. p. 1-7.
42. **Clyde JW, Domenech JM, Geiser C.** Medical professionalism: An experimental look at physicians' Facebook profiles. *Med Educ Online.* 2014;19:23149-56. <http://dx.doi.org/10.3402/meo.v19.23149>
43. **Farnan JM, Snyder-Sulmasy L, Worster BK, Chaudhry HJ, Rhyne JA, Arora VM, et al.** Online medical professionalism: Patient and public relationships: Policy statement from the American College of Physicians and the Federation of State Medical Boards. *Ann Intern Med.* 2013;158:620-7. <http://dx.doi.org/10.7326/0003-4819-158-8-201304160-00100>
44. **Congreso de la República de Colombia.** Ley 23/1981 del 27 de febrero. Por la cual se dictan normas en materia de ética médica. Diario Oficial de la República de Colombia, No. 35711. Bogotá, D.C.: Congreso de la República; 1981.
45. **Congreso de la República de Colombia.** Resolución 1995 del 08 de julio de 1999. Por la cual se establecen normas para el manejo de la Historia Clínica. Diario Oficial de la República de Colombia, No. 43655. Bogotá, D.C.: Congreso de la República; 1999.
46. **von Muhlen M, Ohno-Machado L.** Reviewing social media use by clinicians. *J Am Med Inform Assoc.* 2012;19:777-81. <http://dx.doi.org/10.1136/amiajnl-2012-000990>
47. **Farooqi H, Patel H, Aslam HM, Ansari IQ, Khan M, Iqbal N, et al.** Effect of Facebook on the life of medical university students. *Int Arch Med.* 2013;6:40-8. <http://dx.doi.org/10.1186/1755-7682-6-40>
48. **Brynolf A, Johansson S, Appelgren E, Lynoe N, Edstedt AK.** Virtual colleagues, virtually colleagues-physicians' use of Twitter: A population-based observational study. *BMJ.* 2013;3:2988-95. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2013-002988>

ARTÍCULO ORIGINAL

## La insuficiencia de conocimientos para el diagnóstico microscópico de la malaria en técnicos de la red de laboratorios de Luanda, Angola

García Nazaré-Pembele<sup>1</sup>, Lázara Rojas<sup>2</sup>, Fidel Ángel Núñez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Salud Pública, Luanda, República de Angola

<sup>2</sup> Departamento de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba

**Introducción.** La malaria, o paludismo, continúa siendo uno de los más importantes problemas de salud pública a nivel mundial. La gota gruesa sigue siendo la técnica de referencia para su diagnóstico.

**Objetivo.** Evaluar los conocimientos para el diagnóstico de la malaria de técnicos del sector de la salud en Luanda, Angola, mediante una encuesta.

**Materiales y métodos.** La preparación de la encuesta transcurrió en tres etapas: primero, se hicieron entrevistas abiertas a los técnicos en torno a los diferentes procedimientos para el diagnóstico microscópico de la malaria; en una segunda etapa, se preparó el cuestionario preliminar, y en la tercera, se elaboró el cuestionario definitivo. La encuesta se hizo en un grupo de 120 técnicos de la red nacional de salud entre los meses de abril y julio de 2013. Se comparó la proporción de respuestas correctas e incorrectas considerando como significativo un valor de  $p < 0,05$ .

**Resultados.** Las respuestas incorrectas predominaron sobre las correctas, de forma estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), en las preguntas sobre: las manifestaciones clínicas (68 Vs. 52); las especies de *Plasmodium* según zonas geográficas (76 Vs. 44); el tipo de granulaciones según la especie parasitaria (96 Vs. 24); el tipo de lente para visualizar la gota gruesa (105 Vs. 15); la forma de hacer un informe del resultado de la microscopía (76 Vs. 44); el tiempo y la concentración de las diferentes soluciones que se utilizan (81 Vs. 39), y el número de parásitos por 200 leucocitos (96 Vs. 24).

**Conclusiones.** Se demostró la insuficiencia de conocimientos para el diagnóstico microscópico de la malaria. Estos resultados servirán de base para el desarrollo de las herramientas de una intervención educativa orientada a mejorar la calidad del diagnóstico de la malaria en la red de laboratorios de Luanda.

**Palabras clave:** malaria/diagnóstico, recolección de datos, personal de laboratorio, Angola.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2623>

### Lack of knowledge regarding the microscopic diagnosis of malaria by technicians of the laboratory network in Luanda, Angola

**Introduction:** Malaria is still one of the most important public health problems worldwide. The diagnosis of this disease is still mainly based on thick blood films.

**Objective:** To evaluate the knowledge about malaria diagnosis of the technicians of the public health network in Luanda, Angola, by means of a survey.

**Methods:** This survey was carried out in three phases. In the first one, open interviews were done to technicians related with the different procedures for malaria diagnosis. In the second one, a preliminary questionnaire was prepared and evaluated. In the third phase, a definitive questionnaire was applied to 120 technicians from Luanda between April and July, 2013. The proportions of correct and incorrect answers were compared for every question of the survey.

**Results:** Significantly higher proportions of incorrect answers ( $p < 0.05$ ) were found in the questions related to clinical manifestations, 68/52 ( $p < 0.05$ ), species of *Plasmodium* according to geographical areas, 76/44 ( $p < 0.05$ ), the type of granulations according to species, 96/24 ( $p < 0.01$ ), the class of microscope magnifying glasses used to observe the thick smear, 105/15 ( $p < 0.01$ ), the thick smear report, 76/44 ( $p < 0.01$ ), the time and preparation of different stain solutions, 81/39 ( $p < 0.01$ ), and the number of parasites counted per 200 leukocytes, 96/24 ( $p < 0.01$ ).

#### Contribución de los autores:

García Nazaré-Pembele: idea principal, trabajo de campo en la República de Angola y aplicación del cuestionario a los técnicos participantes

Lázara Rojas: preparación del cuestionario, interpretación de los resultados, escritura y revisión del trabajo

Fidel Ángel Núñez: diseño estadístico e interpretación de los resultados.



**Conclusions:** Various failures for the microscopic diagnosis of malaria were observed amongst the evaluated technicians. These results will be useful as a baseline study before applying an educational intervention aimed to improve the quality of malaria diagnosis in Luanda's laboratory network.

**Key words:** malaria/diagnosis, data collection, laboratory personnel, Angola.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2623>

La República de Angola es un país situado en la costa occidental de África, que presenta diferentes grados de endemismo de malaria o paludismo, enfermedad que es la principal causa de morbimortalidad en el país y afecta especialmente a niños menores de cinco años y mujeres embarazadas. En el 2013, el Programa Nacional de Control de la Malaria en Angola estimó una incidencia de seis millones de casos de malaria y tres mil muertes por esta causa (comunicación personal, Filomeno Fortes, jefe del Programa Nacional de Control de la Malaria en Angola).

En 1880, Alphonse Laveran publicó la primera descripción de los parásitos causantes de la malaria. Desde entonces, la observación en el microscopio de los parásitos que invaden los glóbulos rojos, con la ayuda de colorantes que tiñen el ADN parasitario, ha sido la técnica por excelencia para el diagnóstico del paludismo (1). La gota gruesa continúa siendo la técnica de referencia, sobre todo en los países con una gran morbimortalidad y una elevada intensidad de la transmisión. Esta técnica es de bajo costo y sencilla, y con ella se pueden establecer las densidades parasitarias y los estadios del ciclo de vida del parásito. Es un procedimiento sensible y específico que, si se realiza con la calidad requerida, brinda una gran confiabilidad (2,3).

Los resultados de esta técnica dependen fundamentalmente de la experiencia del técnico microscopista, aunque existen otros factores que inciden en su utilización y afectan sensiblemente el éxito de los programas nacionales de control de la malaria en diferentes áreas endémicas.

En la guía del Programa Nacional de Control de la Malaria de Angola, se estipula que el tratamiento eficaz de la enfermedad debe basarse en un diagnóstico de laboratorio preciso que permita la identificación y la diferenciación de las especies de *Plasmodium*, dando lugar a un tratamiento

racional y esencial para retardar el fenómeno de la resistencia por el uso indiscriminado de fármacos antipalúdicos, para lo cual es necesario contar con personal bien entrenado y capacitado (4).

Según Fortes, *et al.* (4), en Angola la microscopía óptica, a pesar de ser la técnica de referencia para el diagnóstico de la malaria, presenta varias limitaciones, algunas de ellas asociadas a las condiciones propias de los laboratorios, y a la formación y la experiencia de los técnicos que hacen la lectura de la gota gruesa y el extendido.

El objetivo de esta investigación fue evaluar los conocimientos teóricos que pudieran estar incidiendo en la calidad del diagnóstico de la malaria mediante una encuesta a técnicos del sector de la salud en Luanda, Angola.

### Materiales y métodos

La preparación del cuestionario transcurrió en tres fases. En la primera, se hicieron entrevistas abiertas a un grupo de técnicos considerados competentes dada su experiencia; las preguntas contenidas en esta entrevista se relacionaban con los diferentes procedimientos del diagnóstico de la malaria mediante el examen microscópico de la gota gruesa y del extendido de sangre periférica. Las entrevistas estuvieron a cargo de los investigadores del estudio.

Se establecieron varios grupos de preguntas que abarcaron los principales aspectos relacionados con el diagnóstico microscópico de la malaria y se dividieron por acápite, de la siguiente forma: aspectos generales de la malaria; aspectos morfológicos de las diferentes especies de parásitos que producen la enfermedad; aspectos de la microscopía propiamente dicha; aspectos de la coloración de la gota gruesa, y aspectos de los métodos de cuantificación de la parasitemia.

Para cada uno de los acápite se hicieron varios enunciados con diferentes opciones de respuestas (cuatro en total), de las cuales solo una era correcta.

El procesamiento y la evaluación de la información fueron sencillos, pues en cada grupo de preguntas solamente existían dos opciones en la respuesta: correcta o incorrecta.

#### Correspondencia:

García Nazaré, Departamento de Parasitología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", La Habana, Cuba  
Teléfono: (53) 5829 6627  
[garciapembele@ipk.sld.cu](mailto:garciapembele@ipk.sld.cu) y [garciapembele@gmail.com](mailto:garciapembele@gmail.com)

Recibido: 22/12/14; aceptado: 09/09/15

En la segunda fase se preparó el cuestionario preliminar. Con base en los resultados de las entrevistas, se estructuraron las preguntas de dicho cuestionario, a lo cual se agregó la experiencia acumulada en el Departamento de Parasitología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" en la preparación y la aplicación de instrumentos de este tipo, así como las opiniones sobre el tema de algunos especialistas en el empleo de las encuestas como herramientas de investigación. Además, se utilizaron los interrogantes clave planteados por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud en cursos relacionados con la malaria, dirigidos a estudiantes de laboratorio clínico (5). Después se revisó todo exhaustivamente, teniendo en cuenta que la encuesta podría servir para el establecimiento de líneas de base en la evaluación de una intervención posterior de capacitación del personal técnico a cargo del diagnóstico microscópico de la malaria.

En la tercera fase, se redactó el cuestionario definitivo: una vez elaborado el cuestionario preliminar, el cual contenía 25 preguntas, este se sometió al escrutinio de varios expertos. Posteriormente, se hizo la validación, es decir, se evaluó la factibilidad de su empleo mediante la aplicación del cuestionario a cuatro médicos especialistas en Parasitología y a otro grupo de 10 técnicos de laboratorio clínico familiarizados con el diagnóstico microscópico de la malaria, los cuales prestaban servicios fuera de las áreas donde se aplicó el cuestionario definitivo. Después de hacer las correcciones y las enmiendas resultantes de dichas consultas, el instrumento quedó listo para su utilización.

No se consideró necesaria la elaboración de un formato instructivo para la aplicación del cuestionario, pues esta estuvo a cargo de uno de los autores de la investigación.

El cuestionario definitivo incluyó 20 preguntas congregadas en cinco grupos. Uno constaba de cuatro preguntas (20 %) relacionadas con aspectos generales de la malaria, como la determinación de la forma más común de transmisión de la enfermedad, el reconocimiento de los síntomas clínicos más frecuentes, la producción del ciclo evolutivo, y otros aspectos generales sobre la epidemiología de la enfermedad. Otro grupo, también de cuatro preguntas (20 %), se refería a las características morfológicas de los parásitos causantes de la malaria y a las alteraciones más frecuentes que se producen en los glóbulos rojos

según la especie parasitaria que los afecta. Un grupo de seis preguntas (30 %) versaba sobre los aspectos microscópicos propiamente dichos, incluidos los procedimientos para garantizar una óptima calidad en la toma de la muestra, los relacionados con el tipo de lente para visualizar la gota gruesa y los elementos del informe de los resultados del examen microscópico. Otro grupo de cuatro preguntas (20 %) se relacionaba con los métodos de coloración de la gota gruesa; por último, dos preguntas (10 %) del cuestionario se referían a los métodos de cuantificación de la parasitemia. El cuestionario definitivo recopiló, además, los datos generales de los participantes y se aplicó entre los meses de abril y julio de 2013 a un grupo de 120 técnicos de laboratorio de nivel básico y medio en el análisis clínico de la red nacional de salud de Luanda, República de Angola.

### **Análisis estadístico**

Con el empleo del programa Epi-Info, versión 6.04, se confeccionó una base de datos con la información obtenida de la encuesta a los 120 técnicos. El procesamiento y la evaluación de la información fueron sencillos, pues en cada grupo de preguntas solamente existían dos opciones en la respuesta: correcta o incorrecta.

Se calculó la proporción de respuestas correctas e incorrectas en cada una de las preguntas según los diferentes acápite y se compararon las frecuencias de ambos grupos para cada pregunta con una prueba de comparación de proporciones. Se consideró significativo un valor de  $p < 0,05$ .

### **Aspectos éticos**

Este estudio fue aprobado por la Comisión Científica del Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" de La Habana, Cuba, y por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública de Luanda, Angola.

### **Resultados**

De los 120 técnicos encuestados, todos respondieron las 20 preguntas del cuestionario y en ningún caso se anularon encuestas.

Como se muestra en el cuadro 1, al comparar la frecuencia de respuestas correctas e incorrectas en el grupo de preguntas que medían los conocimientos sobre aspectos generales de la malaria, en las relacionadas con las manifestaciones clínicas y las especies de *Plasmodium* según zonas geográficas, predominaron de forma significativa las respuestas incorrectas ( $p < 0,05$ ). De igual forma,

**Cuadro 1.** Comparación de la frecuencia de las respuestas correctas e incorrectas en cada pregunta de los cinco grupos de aspectos evaluados

Aspectos evaluados	Total	Respuestas correctas n (%)	Respuestas incorrectas n (%)	p
<b>Aspectos generales</b>				
La forma más común de transmisión de la malaria	120	114 (95,00)	6 (5,00)	<0,001
Manifestaciones clínicas de la malaria	120	52 (43,33)	68 (56,66)	<0,05
Ciclo evolutivo	120	73 (60,83)	47 (39,16)	<0,001
Especie de plasmodio según zona geográfica	120	44 (36,66)	76 (63,33)	<0,001
<b>Morfología</b>				
Tipo de granulaciones según especie parasitaria	120	24 (20,00)	96 (80,00)	<0,001
Diferencias morfológicas de los gametocitos según especie parasitaria	120	78 (65,00)	42 (35,00)	<0,001
Elementos celulares fundamentales de <i>Plasmodium</i>	120	86 (71,66)	34 (28,33)	<0,001
Etiología del pigmento palúdico	120	114 (95,00)	6 (5,00)	<0,001
<b>Microscopía</b>				
Relacionados con los glóbulos rojos parasitados	120	68 (56,66)	52 (43,33)	<0,05
Relacionados con los glóbulos blancos en una gota gruesa	120	113 (94,16)	7 (5,85)	<0,001
Relacionados con las dimensiones de una gota gruesa	120	71 (59,17)	49 (40,83)	<0,001
Relacionados con el tipo de lentes para visualizar la gota gruesa	120	15 (12,50)	105 (87,50)	<0,001
Elementos sanguíneos que pueden encontrarse en una gota gruesa	120	86 (71,66)	34 (28,33)	<0,001
Informe del resultado de la microscopía	120	44 (36,66)	76 (63,33)	<0,001
<b>Coloración</b>				
Sustancias utilizadas para fijar el extendido de la sangre	120	66 (55,00)	54 (45,00)	=0,121
pH óptimo de las soluciones	120	111 (92,50)	9 (7,50)	<0,001
Tipo de marcador utilizado para identificar una gota gruesa	120	53 (44,16)	67 (55,83)	=0,07
Tiempo y concentración de las diferentes soluciones utilizadas	120	39 (32,50)	81 (67,50)	<0,001
<b>Cuantificación</b>				
Número de parásitos por $\mu$ l de sangre	120	71 (59,16)	49 (40,83)	<0,001
Número de parásitos por 200 leucocitos	120	24 (20,00)	96 (80,00)	<0,001

en relación con las preguntas sobre los aspectos morfológicos de *Plasmodium* spp., se pudo apreciar que las respuestas incorrectas sobre el tipo de granulaciones según la especie parasitaria, predominaron sobre las incorrectas de forma estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ).

En el acápite concerniente a la microscopía, en lo relativo al tipo de lente para examinar la gota gruesa y la forma de hacer un informe correcto del resultado de la microscopía, también predominaron las respuestas incorrectas ( $p < 0,01$ ), al igual que en las preguntas sobre los aspectos relativos a la coloración, específicamente el tiempo y la concentración de las diferentes soluciones utilizadas ( $p < 0,01$ ).

Por último, en las preguntas sobre la cuantificación de la parasitemia, se observó que 80 % de los encuestados respondió erróneamente a la pregunta relacionada con el número de parásitos por 200 leucocitos ( $p < 0,01$ ).

## Discusión

Los conocimientos sobre la malaria han experimentado significativos progresos durante los últimos decenios, con implicaciones en la práctica médica. Dichos avances en el conocimiento

de la parasitosis aún no están incorporados al quehacer de los técnicos directamente vinculados con su diagnóstico. Uno de los conocimientos más arraigados, emanados de la práctica médica tradicional, se relaciona con las manifestaciones clínicas de la malaria aguda no complicada, caracterizada por el paroxismo palúdico: escalofríos, fiebre y sudoración (6). A pesar de esto, un número significativo de encuestados respondió erróneamente a la pregunta sobre las manifestaciones clínicas de la enfermedad, ya que atribuyeron a la malaria otros síntomas que guardan muy poca o ninguna relación con el paroxismo agudo de una malaria no complicada. Esta pudiera ser una de las causas de los falsos diagnósticos positivos que se emiten con cierta frecuencia en áreas endémicas de paludismo, pues el personal técnico no médico es el que en muchas ocasiones recibe a los pacientes y es responsable de su tratamiento y seguimiento.

Los aspectos epidemiológicos pueden contribuir positivamente a la correcta interpretación de un cuadro clínico palúdico. El conocimiento de las diferentes especies parasitarias predominantes según las áreas geográficas, en ocasiones, ayuda a la compleja identificación de las especies, lo

que complementa la interpretación microscópica cuando esta es responsabilidad de personal no experimentado (6); sin embargo, un significativo número de los encuestados no pudo identificar correctamente las especies.

En cuanto a la morfología, los principales errores se dieron en la respuesta a la pregunta sobre los diferentes tipos de granulaciones que se observan en el glóbulo rojo parasitado y que varían en su tonalidad según la especie de *Plasmodium*. Se sabe que el eritrocito parasitado puede sufrir deformaciones y presentar granulaciones rosadas, denominadas de Schüffner en *Plasmodium vivax* y *P. ovale*, de Maurer, en *P. falciparum*, y de Ziemann, en *P. malariae*, estas últimas, difíciles de observar. Sin embargo, el mayor porcentaje de respuestas incorrectas se produjo en las relacionadas con la sustitución de granulaciones por las mitocondrias, que constituye un dato biológico importante y constituye un error de conocimiento básico en torno a los detalles morfológicos de *Plasmodium* determinantes para establecer un buen diagnóstico microscópico.

Reyburn, Coleman y Milne (7-9) han señalado que, si la gota gruesa está bien preparada y coloreada, no debe haber dificultad en la visualización microscópica del parásito y, por ende, en la identificación de la especie de *Plasmodium*. No obstante, es de destacar que, dado el gran pleomorfismo en las diferentes estructuras morfológicas de los parásitos que producen la malaria (cada especie y cada estadio morfológico difieren entre sí), el personal encargado del diagnóstico tiene que estar muy bien entrenado para evitar confusiones, e incluso así, en ocasiones se presentan ciertas dificultades que resultan en un diagnóstico equivocado. Además, la gota gruesa y el extendido pueden presentar algunos contaminantes ambientales como hongos, partículas de polvo, células vegetales y bacterias. Estos artefactos a veces capturan los colorantes durante el proceso de tinción, provocando confusión y dificultades en el diagnóstico (7,9). Asimismo, los colorantes mismos pueden estar contaminados con algunas de estas estructuras e interferir con el proceso de coloración y, en consecuencia, con la visualización microscópica.

Llama la atención que en las preguntas sobre el tipo de lente que se debe utilizar y la forma de presentar el informe del resultado de la microscopía, predominaron de forma significativa las respuestas erróneas. Es muy importante insistir en

que, si se quiere tener una imagen microscópica nítida, debe combinarse un ocular de 10X y un objetivo de 100X para lograr un aumento total de 1.000X, que es la norma a la cual se ajustan los microscopios compuestos clásicos (2) para evitar esfuerzos innecesarios y el cansancio del microscopista. En este sentido, los errores se debieron al desconocimiento de este enunciado, lo cual puede provocar la selección errónea de lentes para el examen microscópico.

Un correcto informe de la lectura de la gota gruesa debe incluir la especie de *Plasmodium*, el estadio morfológico y la parasitemia. Son estos precisamente los aspectos más importantes que debe conocer el médico para establecer un tratamiento adecuado y eficiente en un paciente con paludismo (10,11).

La magnitud de la parasitemia, o densidad parasitaria, es un parámetro objetivo que permite estimar la intensidad de la infección, la que a su vez se relaciona con la gravedad de las manifestaciones clínicas (12). Existen varios métodos para determinar la densidad parasitaria, cuyo manejo exige que los técnicos estén bien capacitados y entrenados en el reconocimiento de los diferentes tipos de células y de componentes de la sangre, en especial, los leucocitos. Precisamente este fue otro de los parámetros en el que se encontró el mayor porcentaje de errores en las respuestas emitidas por los encuestados, pues no sabían cómo determinar la parasitemia según el número de parásitos por 200 leucocitos. Estos errores tienen gran peso en el desempeño de los técnicos, pues la cuantificación precisa de la parasitemia proporciona al clínico un dato objetivo para evaluar la intensidad de la infección palúdica, el resultado del tratamiento y la sensibilidad *in vivo* a los fármacos esquizotomicidas sanguíneos.

En los aspectos evaluados relacionados con la coloración, el tiempo y la concentración de las diferentes soluciones utilizadas para la coloración de la gota gruesa, también predominaron las respuestas erróneas. El desconocimiento de estos procedimientos resulta en una mala coloración de las estructuras de los parásitos. Resultados similares se obtuvieron en el estudio de Ginorio, *et al.* (13), sobre el control de calidad del diagnóstico de paludismo en la provincia de Cienfuegos; los autores consideraron que las razones fundamentales de esas dificultades radicaron en la inexistencia de documentos escritos o manuales de procedimientos técnicos



para el diagnóstico, así como en la falta de entrenamientos y actualizaciones sistemáticas del personal encargado de esta actividad.

Según Hemme, *et al.* (14), para lograr calidad en el diagnóstico microscópico de la malaria y mejorar competencias, resulta indispensable la capacitación periódica del recurso humano que desempeña esta función en países en desarrollo. Este planteamiento, de ser aplicado en Angola, permitiría obtener una mayor confiabilidad en el diagnóstico microscópico de la malaria. El desarrollo de estrategias para mejorar las competencias de los trabajadores de la salud relacionadas con el diagnóstico y el tratamiento del paludismo, es muy necesario no solo en Angola sino, probablemente, en otros países de la región (15).

En algunos países del continente africano, entre los cuales se destacan Etiopía (16), Zambia (17), Congo (18) y Uganda (19), también se han encontrado deficiencias en el diagnóstico de la malaria y en algunos se han desarrollado programas de intervención educativa con el objetivo de mejorar la calidad del diagnóstico de esta parasitosis en las respectivas redes de laboratorios, lo que constituye unas de las bases sustentables para su control en la región.

Un estudio de 122 centros de salud de Etiopía (11) indicó que, aunque la mayoría de los centros tenían una infraestructura y equipamientos básicos aceptables, para el diagnóstico microscópico de la malaria, había un problema significativo de suministro de materiales y reactivos de laboratorio, y no se programaban entrenamientos ni supervisiones de apoyo, una debilidad del sistema que contribuye al deterioro de la calidad de los servicios que se prestan.

Desde el punto de vista teórico, este estudio encontró una serie de insuficiencias de conocimiento en el personal responsable del diagnóstico microscópico de la malaria. Se deben crear mecanismos educativos estables que tengan la garantía del sistema de salud pública de Angola. Conjuntamente con la capacitación, debe procurarse el establecimiento de un sistema de gestión de la calidad bien ejecutado que complemente las acciones para, así, mejorar la competencia del personal técnico encargado del diagnóstico microscópico de la malaria.

Este constituye el primer paso de una serie de intervenciones que se deben realizar para mejorar aspectos relacionados con el diagnóstico de esta

importante parasitosis en el país siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud para la evaluación del desempeño, con la respectiva acreditación periódica de competencias, como parte de un proceso de mejora que incluya un programa de entrenamiento continuo. Además, debe tenerse en cuenta que en el desempeño final de los microscopistas de Luanda, pudieron haber influido también otros factores, como el volumen de trabajo, la adecuación de las condiciones de trabajo, y la falta de equipos e insumos apropiados, entre otros aspectos que no fueron evaluados en el presente estudio y que deben ser motivo de futuras investigaciones.

Los resultados obtenidos en este estudio servirán de base para la aplicación de una posible intervención educativa dirigida a mejorar la calidad del diagnóstico de la malaria en la red de laboratorios de Luanda, así como su posible extensión a todo el país.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Financiación

Los recursos necesarios para el desarrollo del presente estudio fueron aportados por el Programa Nacional de Control de la Malaria y el Laboratorio Nacional de Salud de Luanda, República de Angola.

### Referencias

1. **Linder N, Turkki R, Walliander M, Mårtensson A, Diwan V, Rahtu E, et al.** A malaria diagnostic tool based on computer vision screening and visualization of *Plasmodium falciparum* candidate areas in digitized blood smears. *PLoS One*. 2014;9:e104855. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0104855>
2. **Organization Mondiale de la Santé.** Techniques de base pour le diagnostic microscopique du paludisme. Guide du stagiaire. Partie II. Guide de l'instructeur. Genève: OMS; 2010. p. 7-57.
3. **Organization Mondiale de la Santé.** Comité OMS d'Experts du paludisme. Dix-huitième rapport. Genève: OMS; 2013. p. 8-17.
4. **Fortes F, Dimbu R, Neto Z, Ferreira C, Saraiva N, Do Rosário VE, et al.** Estudo comparativo entre microscopia óptica e PCR para identificação de *Plasmodium* spp. em crianças em Angola. *Ciência e Tecnologia*. 2011;2:17-27.
5. **World Health Organization.** Self-learning materials and modules for health workers. A guide for their development, utilization and evaluation. Geneva: WHO; 2013. p. 10-28.
6. **Llop A, Valdés-Dapena M, Zuaso JL.** Microbiología y Parasitología Médicas. Primera edición. Tomo 3. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001. p. 117-85.

7. **Reyburn H, Mbatia R, Drakeley C, Carneiro I, Mwakasungula E, Mwerinde O.** Overdiagnosis of malaria in patients with febrile illness in Tanzania: A prospective study. *BMJ*. 2004;329:1212. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.38251.658229.55>
8. **Coleman RE, Maneechai N, Rachaphaew N, Kumpitak C, Miller RS, Soyseng V, et al.** Comparison of field and expert laboratory microscopy for active surveillance for asymptomatic *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in western Thailand. *Am J Trop Med Hyg*. 2002;67:141-4.
9. **Milne L, Kyi MS, Chiodini PL, Warhurst DC.** Accuracy of routine laboratory diagnosis of malaria in the United Kingdom. *J Clin Pathol*. 1994;47:740-2.
10. **Bailey JW, Williams J, Bain BJ, Parker-Williams J, Chiodini PL.** Guideline: The laboratory diagnosis of malaria. General Haematology Task Force of the British Committee for Standards in Haematology. *Br J Haematol*. 2013;163:573-80. <http://dx.doi.org/10.1111/bjh.12572>
11. **Abreha T, Alemayehu B, Tadesse Y, Gebresillassie S, Tadesse A, Demeke L, et al.** Malaria diagnostic capacity in health facilities in Ethiopia. *Malar J*. 2014;13:292. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2875-13-292>
12. **Maklet MT, Palmer CJ, Agger AL.** A review of practical techniques for the diagnosis of malaria. *Ann Trop Med Parasitol*. 1998;92:419-33.
13. **Ginorio D, Ortega S, Rojas L, Marín H, Oviedo A.** Control de la calidad del diagnóstico de paludismo en la provincia de Cienfuegos, Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2004;56:49-53.
14. **Hemme F, Gay F.** Internal quality control of the malaria microscopy diagnosis for 10 laboratories on the Thai-Myanmar border. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1998;29:529-36.
15. **Rowe AK, de León GF, Mihigo J, Santelli AC, Miller NP, van-Dúnem P.** Quality of malaria case management at outpatient health facilities in Angola. *Malar J*. 2009;8:275. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2875-8-275>
16. **Hailegiorgis B, Girma S, Mezlaku S, Teshi T, Demeke L, Gebresellasié S, et al.** Laboratory malaria diagnostic capacity in health facilities in five administrative zones of Oromia Regional State, Ethiopia. *Trop Med Int Health*. 2010;15:1449-57. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2010.02646.x>
17. **Keating J, Miller JM, Bennett A, Moonga HB, Eisele TP.** *Plasmodium falciparum* parasite infection prevalence from a household survey in Zambia using microscopy and a rapid diagnostic test: Implications for monitoring and evaluation. *Acta Trop*. 2009;112:277-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.08.011>
18. **Mukadi P, Gillet P, Lukuka A, Atua B, Kahodi S, Lokombe J, et al.** External quality assessment of malaria microscopy in the Democratic Republic of the Congo. *Malar J*. 2011;10:308. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2875-10-308>
19. **Kyabayinze DJ, Achan J, Nakanjako D, Mpeka B, Maweje H, Mugizi R, et al.** Parasite-based malaria diagnosis: Are health systems in Uganda equipped enough to implement the policy? *BMC Public Health*. 2012;12:695. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-12-695>

BRIEF COMMUNICATION

## Comparison of independent and dependent culture methods for the detection of transient bacteremia in diabetic subjects with chronic periodontitis

Anna Carolina Ratto-Tespestini<sup>1</sup>, Paula Juliana Pérez-Chaparro<sup>2</sup>, Guisepe Alexandre Romito<sup>1</sup>, Luciene Cristina Figueiredo<sup>2</sup>, Marcelo Faveri<sup>2</sup>, Hilana Paula Carillo<sup>1</sup>, Priscila Larcher<sup>3</sup>, Magda Feres<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Stomatology, School of Dentistry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

<sup>2</sup> Department of Periodontology, Dental Research Division, Guarulhos University, Guarulhos, São Paulo, Brazil

<sup>3</sup> Biological Medial Science Institute (ICB), University of São Paulo, São Paulo, Brazil

**Introduction:** Oral-derived bacteremia may occur after several dental procedures and routine daily activities. Some conditions of the oral cavity may favor episodes of bacteremia. This would be the case of patients with diabetes mellitus and periodontitis, who exhibit exacerbated gingival inflammation and may be more prone to developing oral-derived bacteremia.

**Objective:** To compare the effectiveness of an independent culture method (quantitative real-time PCR- qCR) and the most commonly used method (BacT-ALERT 3D<sup>®</sup>) for the diagnosis of bacteremia.

**Materials and methods:** Blood samples were drawn from subjects with type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis before and after apple chewing. Samples were processed by an automated blood culture system (BacT-ALERT 3D<sup>®</sup>) monitored for 15 days with suitable subculture of positive cultures. In parallel, whole DNA from blood samples was purified using a commercial kit and screened by qPCR using a universal primer set of *16S rDNA* for bacteria detection.

**Results:** Blood cultures taken before apple chewing were shown to be negative by the two diagnostic methods. After chewing, two samples (11%) showed bacterial growth by BacT-ALERT 3D<sup>®</sup> whereas qPCR did not detect the presence of bacteria in any sample.

**Conclusions:** qPCR did not show greater effectiveness than the BacT-ALERT 3D<sup>®</sup> in the detection of bacteremia of oral origin.

**Keywords:** Bacteremia, real-time polymerase chain reaction, periodontitis, diabetes mellitus/diagnosis, microbiology.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2674>

### Comparación entre métodos de cultivo independientes y dependientes para la detección de bacteriemia transitoria en individuos diabéticos con periodontitis crónica

**Introducción.** Las bacteriemias de origen oral pueden ocurrir después de procedimientos odontológicos y de otros actos cotidianos. Algunas condiciones de la cavidad oral favorecen las bacteriemias como en el caso de pacientes con diabetes mellitus y periodontitis que presentan inflamación gingival exacerbada.

**Objetivo.** Comparar la eficacia de un método independiente de cultivo (PCR cuantitativa) y otro dependiente (BacT-ALERT 3D<sup>®</sup>) en la detección de la bacteriemia.

**Materiales y métodos.** Se tomaron muestras de sangre de individuos con diabetes mellitus de tipo II y periodontitis, antes y después de la masticación de manzana. Una alícuota se procesó por el sistema automatizado de hemocultivo (BacT-ALERT 3D<sup>®</sup>) y se monitorizó durante 15 días; la otra alícuota fue tratada para la extracción del ADN y procesada por RT-PCR usando un conjunto de cebadores de *16S rDNA* exclusivos para bacterias.

**Resultados.** En las muestras tomadas antes de masticar se confirmó la ausencia de bacterias mediante los dos métodos. En las muestras tomadas después de masticar la presencia de bacterias se evidenció

#### Author's contributions:

Guisepe Alexandre Romito, Luciene Cristina Figueiredo and Magda Feres conceived the study.

Hilana Paula Carillo contributed as clinical examiner.

Paula Juliana Pérez-Chaparro and Marcelo Faveri designed and performed experiments.

Paula Juliana Pérez-Chaparro and Priscila Larcher analyzed the data.

Paula Juliana Pérez-Chaparro and Magda Feres wrote the manuscript.

Anna Carolina Ratto-Tespestini and Paula Juliana Pérez-Chaparro participated in all stages of the study.

únicamente en dos hemocultivos y en ninguna de las muestras se detectó la presencia de bacterias con el método de RT-PCR.

**Conclusiones.** La PCR cuantitativa no mostró mayor eficacia que el BacT-ALERT 3D® en la detección de la bacteriemia de origen oral.

**Palabras clave:** bacteriemia, reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, periodontitis, diabetes mellitus/diagnóstico, microbiología.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2674>

Bacteria may be transiently found in the bloodstream after dental healthcare procedures such as scaling and root planning (1-6), as well as during certain daily activities involving the gums, such as mastication or tooth brushing (5,7). However, these bacteria are normally eliminated by the host immune system after a short period of time (5,7,8). This event, known as transient bacteremia of oral origin, might lead to endocarditis (9) or favor other chronic processes, such as atherosclerosis (8,10,11).

Periodontitis is a polymicrobial infection caused by microorganisms that colonize and may invade periodontal tissues, leading to connective tissue and alveolar bone loss. Oral biofilm accumulation and the concomitant inflammatory response associated with periodontitis have been shown to be closely related to transient oral-derived bacteremia (12-14). The ulcerated pocket epithelium underlying the highly vascularized and dilated vascular network of the adjacent connective tissue contribute to the migration of microorganisms into the bloodstream (9). In addition, this process may be favored by intermittent changes in vessel pressure after any intervention surrounding the gum, because the blood pressure becomes negative, making it possible for bacteria to spill into the blood stream (15). Therefore, the risk of presenting transient bacteremia depends not only on bacterial load, but also on the severity of gingival inflammation. From this perspective, patients with inflammatory response disorders may be more prone to developing transient bacteremia. This might be the case of patients diagnosed with diabetes mellitus (DM), who exhibit worse gingival inflammation when they suffer from periodontal disease (16-19). Therefore, these patients may be at an increased risk for developing transient bacteremia.

Corresponding author:

Magda Feres, Centro de Pós-Graduação e Pesquisa-CEPPE, Universidade Guarulhos, Praça Tereza Cristina, 229 Centro, 07023-070 Guarulhos, SP, Brazil

Telephone: (5511) 2087 3594, fax: (5511) 2087 3594

[mferes@ung.br](mailto:mferes@ung.br)

Recibido: 31/01/15; aceptado: 29/07/15

To date several methods, including dependent and independent culture techniques, have been used to detect bacteria in blood during oral-derived transient bacteremia (1,20-22). The most commonly used methods are the continuous-monitoring blood culture systems (23), such as the BacT-ALERT 3D®. However, these systems have several disadvantages, such as high cost, being time consuming, requiring a continuous power supply, frequent technical maintenance, the occurrence of false positive results due to contamination and having low sensitivity for the detection of some fastidious bacteria (23-25). On the other hand, molecular diagnostic techniques, such as polymerase chain reaction (PCR) may be more affordable and more sensitive than bacterial culture techniques, and may detect the fastidious microorganisms normally associated with the etiology of periodontitis. However, to date no studies have compared cultural and molecular techniques as regards their effectiveness in detecting the occurrence of bacteremia during chewing in patients with chronic periodontitis. Therefore, the aim of this study was to compare the effectiveness of an independent culture method (quantitative PCR- qPCR) and the method routinely used in clinical laboratory (BacT-ALERT 3D®) for diagnosing bacteremia in these patients.

## Materials and methods

### Study population

Eighteen subjects with type 2 DM with glycated hemoglobin (HbA1c) levels  $\geq 7.0\%$  and  $\leq 10\%$ , (ADA, 2012) diagnosed with chronic periodontitis (ChP) (>40 years old; with at least 15 teeth excluding third molars and teeth with advanced decay indicated for extraction); a minimum of six teeth with at least one site with probing depth (PD) and clinical attachment level (CAL)  $\geq 5$  mm and bleeding on probing at baseline, and at least 30% of the sites with concomitant PD and CAL  $\geq 4$  mm were selected from the Dental Clinic of São Paulo University (FOUSP). All the participants signed a term of free and informed consent, which was



approved by the Research Ethics Committee of FOUSP (#173 / 2010). A single trained examiner performed all clinical examinations.

### **Induced bacteremia and blood sampling**

Bacteremia was induced by chewing a Fiji apple. The subjects were instructed to take three bites of the apple, chew and ingest them in about 2 minutes (22). They were also asked to avoid oral hygiene, and not to eat and drink (except water) for at least 8 hours before the dental appointment. The blood samples were collected by venipuncture. In order to prevent external contamination, sample collection was performed in accordance with the Standard Operational Procedure of the Clinical Laboratory Service of São Paulo University's Hospital, which included the use of gloves, disinfection of the vial stopper with 70% alcohol, skin antisepsis with 70% alcohol and 10% povidone iodine, and the use of sterile sets. Peripheral venous blood (10 mL) was drawn at baseline (T0) and 2 min ± 30 s after the first apple bite (T1) (22). An aliquot of the blood sample (T0) was inoculated in 6 mL K2 EDTA Vacutainer® tubes (BD Vacutainer®, Curitiba, PR, Brazil) and the second sample (T1) was stored at -80°C until processed for DNA extraction and suitable qPCR reaction.

### **Sample processing**

Five milliliters of blood sample were inoculated in parallel in culture bottles for aerobic (Bact/Alert 3D FA- Biomeriëux) and anaerobic microorganisms (Bact /Alert 3D FN- BioMeriëux) and monitored for 15 days. In case of positive bacterial growth detection by the BacT-ALERT® (BioMérieux) system, a Gram stain of the culture was performed. Positives blood cultures were sub-cultured on blood and chocolate agar and incubated under anaerobic conditions. Sub-cultures were also performed on MacConkey agar and incubated under aerobic conditions. Bacteria were identified by the automated microbiology identification system VITEK®2 compact (BioMérieux, Inc. Hazelwood, MO). Total DNA extraction from blood samples was performed using the MasterPure™ complete DNA and RNA purification kit (Epicentre, Madison, WI, USA). Samples were processed for 16S rDNA detection by qPCR. The following primer set was used: 16SrDNA F:5'gtgStgcaYggYtgctgca 3' and 16SrDNA R:5'acgtcRtccMcacctctc 3' (26).

The reaction mixture was made in accordance with the Cylcer® FastStart DNA Master PLUS SYBR Green I (Roche, Cat. No 03515 885001)

manufacturer's instructions by adding 2.5 µl of DNA template (20 ng/µL). Reactions were performed on a LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). The following PCR conditions were used: 94°C for 10 min, followed by 40 cycles of 95°C for 10 s; 56°C for 5 s; and 72°C for 7s. After amplification, the melting curve was made from 65 to 95°C with a plate read out at every 0.1°C. Calibration standard curves were prepared with serial dilutions (10<sup>7</sup> to 10<sup>2</sup>) of DNA from a mock community of oral microorganisms with an equal number of genomes per species. The genome copies per reaction were calculated taking into account the individual genome size and the mean weight of one nucleotide pair (27). DNA from a mock community of oral microorganisms consisted of a mixture of genomic DNA from five species (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Actinomyces odontoculus*, *Streptococcus oralis* and *Fusobacterium nucleatum*). Afterwards, the C<sub>T</sub> value of each sample was plotted against the standard curve in order to determine the amount of target cells. The level of detection was set to (log<sub>2</sub>) 10<sup>2</sup> bacteria.

### **Results**

The patients' demographics and mean periodontal clinical parameters are presented in table 1. Thirteen men and five women participated in the study. The mean age of the population was 55.45±10.14. The mean PD (3.59±1.4) and CAL (4.1±1.5) of the population included in this study characterize advanced periodontitis. Table 2 summarizes the microbiological data. No sample was positive for bacterial detection at T0, either by BacT-ALERT® test, or by qPCR. After apple chewing (T2), two samples out of the 18 subjects evaluated (11%) were positive for transient bacteremia by the BacT-ALERT® test. One blood

**Table 1.** Demographic characteristics and mean (±SD) full-mouth clinical parameters of the subjects included in the study

Variable	Base line
Age (years)	55.45±10.14
Gender (M/F)	13/5
Weight (kg)	85.5±15.10
Height (m)	1.6 8±0.08
Body Mass Index	17.9
Probing depth (mm)	3.59 (±1.4)
Clinical attachment level (mm)	4.1 (±1.5)
Percentage of sites with:	
Gingival bleeding	52 %
Bleeding on probing	59.5 %

**Table 2.** Results of bacterial detection in blood samples evaluated by BacT-ALERT® and qPCR, before and after apple chewing

Time point (number of samples)	Number of samples positive by BacT-ALERT®	Number of samples positive by qPCR
T <sub>0</sub> (n=18)	0	0
T <sub>1</sub> (n=18)	2*	0

\* *Staphylococcus epidermidis* and a Gram-positive facultative anaerobic rod-shaped bacterium identified by system VITEK2® compact

culture was positive for *Staphylococcus epidermidis* and the other was positive for a Gram-positive, facultative anaerobic, rod-shaped bacterium.

As regards the analysis by qPCR, the standardization step indicated the set of primers was target specific, as shown by the melting curve analysis, and the DNA recovered from the samples was suitable for evaluation by PCR. Nevertheless, none of the screened samples was positive for bacterial detection by qPCR.

## Discussion

We were able to detect oral-induced bacteremia after apple chewing by the BacT-ALERT® system in 2/18 (11%) subjects with type 2 DM suffering from ChP; however, bacterial detection by qPCR failed.

The lack of bacterial detection by qPCR, even in the samples that were positive in the hemoculture, may be due to the fact that there was an increased amount of host DNA, yielding an unbalanced microorganisms-to-host DNA ratio. This imbalance might have prevented the primer set from hybridizing with the target bacterial DNA, hampering the performance of PCR. This fact has been pointed out in other manuscripts dealing with samples in which human DNA was more concentrated in comparison with microbial DNA, e.g. blood, saliva and subgingival biofilm samples (28-30). In order to minimize this problem, some approaches could be used before performing PCR, such as depletion of human DNA or selection of prokaryotic DNA during extraction protocols (28-32).

One of the bacterial species identified in one individual blood sample was *S. epidermidis*, which has previously been isolated from blood cultures after tooth extraction (33). In addition, *S. epidermidis* has been detected in subgingival samples of patients with periodontitis by Murdoch, *et al.* (34), who found this species in 64.3% of subjects with ChP. Furthermore, Loberto, *et al.* (35), isolated *Staphylococcus* spp. from the subgingival

samples of 37.5% of subjects with periodontitis, and *S. epidermidis* was the most frequently detected species. Similar results have previously been reported by Rams, *et al.* (36), who detected *Staphylococcus* spp. in the subgingival samples of 18.5% of adults with ChP, and 45.8% of the species detected were *S. epidermidis*. One might ask whether the coagulase negative *Staphylococcus* could be a contaminant (false-positive result) found in blood cultures. This contaminant is related to the commensal microbiota of the patient's skin, and is therefore associated with inadequate skin preparation during blood collection (37-39). However, this is probably not the case in the present study, since *S. epidermidis* was identified at a rate of 0.18% in all the hemocultures (n=18) and providone iodine was used as antiseptic for skin decontamination (37). The second positive blood sample in this study harbored Gram-positive facultative anaerobic rod-shaped isolates, characteristic of some subgingival periodontal microorganisms, such as the *Actinomyces* species.

In this study, oral transient bacteremia induced after apple chewing was shown to be positive by the BacT-ALERT® system in 2/18 (11%) subjects with type 2 DM suffering from ChP. The frequency of bacteremia after apple chewing in the present study was 11%, a frequency higher than that previously reported in non-diabetic individuals (33). Maharaj, *et al.* (33), failed to detect bacteremia after apple chewing using the BacT-ALERT® system in 60 systemically healthy subjects with periodontal disease. The same situation was reported by Murphy, *et al.* (40), in 21 subjects with ChP after chewing paraffin wax for four minutes. The higher prevalence of bacteremia found in the present study compared with the findings of Maharaj, *et al.* (33), and Murphy, *et al.* (36), could be explained by the exacerbated inflammation process of the periodontal tissues in diabetic patients, and possibly by their impaired host immune system, which hampered bacterial clearance from the blood (41). On the other hand, Forner, *et al.* (42), reported that four out of 20 (20%) systemically healthy patients with ChP were positive for bacteremia after chewing; however, in the cited study, the authors used chewing gum for a period of 10 min.

In summary, the data of the present study suggested that qPCR does not show greater sensitivity than the BacT-ALERT 3D® system in the diagnosis of transitory bacteremia of oral origin in subjects with type 2 DM suffering from ChP.

### Conflicts of interest

The authors declare absence of any *conflict of interest*.

### Financial support

FAPESP grant 2012/20915-0

### References

- Lafaurie GI, Mayorga-Fayad I, Torres MF, Castillo DM, Aya MR, Barón A, et al. Periodontopathic microorganisms in peripheric blood after scaling and root planing. *J Clin Periodontol.* 2007;34:873-92. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01125.x>
- Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK. Bacteremia associated with tooth brushing and dental extraction. *Circulation.* 2008;117:3118-25. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.758524>
- Pérez-Chaparro PJ, Gracieux P, Lafaurie GI, Donnio P-Y, Bonnaure-Mallet M. Genotypic characterization of *Porphyromonas gingivalis* isolated from subgingival plaque and blood sample in positive bacteremia subjects with periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008;35:748-53. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01296.x>
- Parahitiyawa NB, Jin LJ, Leung WK, Yam WC, Samaranyake LP. Microbiology of odontogenic bacteremia: Beyond endocarditis. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:46-64. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00028-08>
- Benitez-Páez A, Álvarez M, Belda-Ferre P, Rubido S, Mira A, Tomás I. Detection of transient bacteraemia following dental extractions by 16S rDNA pyrosequencing: A pilot study. *PLoS One.* 2013;8:e57782. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0057782>
- Waghmare AS, Vhanmane PB, Savitha B, Chawla RL, Bagde HS. Bacteremia following scaling and root planing: A clinico-microbiological study. *J Indian Soc Periodontol.* 2013;17:725-30. <http://dx.doi.org/10.4103/0972-124X.124480>
- Pérez-Chaparro PJ, Meuric V, De Mello G, Bonnaure-Mallet M. Bactériémies d'origine buccale. *Rev Stomatol Chir Maxillofac.* 2011;112:300-3. <http://dx.doi.org/10.1016/j.stomax.2011.08.012>
- Li X, Kolltveit KM, Tronstad L. Systemic diseases caused by oral infection. *Clin Microbiol Rev.* 2000;13:547-58. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.13.4.547-558.2000>
- Parahitiyawa NB, Jin LJ, Leung WK, Yam WC, Samaranyake LP. Microbiology of odontogenic bacteremia: Beyond endocarditis. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:46-64. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00028-08>
- Brodala N, Merricks EP, Bellinger DA, Damrongsri D, Offenbacher S, Beck J, et al. *Porphyromonas gingivalis* bacteremia induces coronary and aortic atherosclerosis in normocholesterolemic and hypercholesterolemic pigs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1446-51. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.0000167525.69400.9c>
- Padilla C, Lobos O, Hubert E, Gonzalez C, Matus S, Pereira M, et al. Periodontal pathogens in atheromatous plaques isolated from patients with chronic periodontitis. *J Periodontol Res.* 2006;41:350-3. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0765.2006.00882.x>
- Heimdahl A, Hall G, Hedberg M, Sandberg H, Söder PO, Tunér K, et al. Detection and quantitation by lysis-filtration of bacteremia after different oral surgical procedures. *J Clin Microbiol.* 1990;28:2205-9. <http://dx.doi.org/0095-1137/90/102205-0502.00/0>
- Okabe K, Nakagawa K, Yamamoto E. Factors affecting the occurrence of bacteremia associated with tooth extraction. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 1995;24:239-42. [http://dx.doi.org/10.1016/S0901-5027\(06\)80137-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0901-5027(06)80137-2)
- Rajasuo A, Perkki K, Nyfors S, Jousimies-Somer H, Meurman JH. Bacteremia following surgical dental extraction with an emphasis on anaerobic strains. *J Dent Res.* 2004;83:170-4. <http://dx.doi.org/10.1177/154405910408300217>
- Roberts GJ. Dentists are innocent! "Everyday" bacteremia is the real culprit: A review and assessment of the evidence that dental surgical procedures are a principal cause of bacterial endocarditis in children. *Pediatr Cardiol.* 1999;20:317-25. <http://dx.doi.org/10.1007/s002469900477>
- Hanes PJ, Krishna R. Characteristics of inflammation common to both diabetes and periodontitis: Are predictive diagnosis and targeted preventive measures possible? *EPMA J.* 2010;1:101-16. <http://dx.doi.org/10.1007/s13167-010-0016-3>
- Preshaw PM, Bissett SM. Periodontitis: Oral complication of diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2013;42:849-67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecl.2013.05.012>
- Chee B, Park B, Bartold PM. Periodontitis and type II diabetes: A two-way relationship. *Int J Evid Based Healthc.* 2013;11:317-29. <http://dx.doi.org/10.1111/1744-1609.12038>
- Chapple IL, Genco R. Diabetes and periodontal diseases: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol.* 2013;40:S106-12. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpe.12077>
- Lucas VS, Lytra V, Hassan T, Tatham H, Wilson M, Roberts GJ. Comparison of lysis filtration and an automated blood culture system (BACTEC) for detection, quantification, and identification of odontogenic bacteremia in children. *J Clin Microbiol.* 2002;40:3416-20. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.9.3416-3420.2002>
- Kinane DF, Riggio MP, Walker KF, MacKenzie D, Shearer B. Bacteraemia following periodontal procedures. *J Clin Periodontol.* 2005;32:708-13. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00741.x>
- Fine DH, Furgang D, McKiernan M, Tereski-Bischio D, Ricci-Nittel D, Zhang P, et al. An investigation of the effect of an essential oil mouth rinse on induced bacteraemia: A pilot study. *J Clin Periodontol.* 2010.37:840-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01599.x>
- Dreyer AW. Sepsis- An ongoing and significant challenge. *In Tech;* 2012. p. 287-310. Fecha de consulta: 10 de junio de 2014. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/5039>
- Klaerner H, Eschenbach U, Kamereck K, Lehn N, Miethke T. Failure of an automated blood culture system to detect non fermentative gram-negative bacteria. *J Oral Microbiol.* 2000;38:1036-41.
- Seegmuller I. Sensitivity of the BacT/ALERT FA-medium for detection of *Pseudomonas aeruginosa* in pre-incubated

- blood cultures and its temperature-dependence. *J Med Microbiol.* 2004;53:869-74. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.45533-0>
26. **Maeda H, Fujimoto C, Haruki Y, Maeda T, Kokeguchi S, Petelin M, et al.** Quantitative real-time PCR using TaqMan and SYBR Green for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, tetQ gene and total bacteria. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003;39:81-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00224-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00224-4)
  27. **Dolezel J, Bartos J, Voglmayr H, Greilhuber J.** Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry.* 2003;51:127-8. <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.a.10013>
  28. **Horz HP, Scheer S, Huenger F, Vianna ME, Conrads G.** Selective isolation of bacterial DNA from human clinical specimens. *J Microbiol Methods.* 2008;72:98-102. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2007.10.007>
  29. **Horz HP, Scheer S, Vianna ME, Conrads G.** New methods for selective isolation of bacterial DNA from human clinical specimens. *Anaerobe.* 2010;16:47-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2009.04.009>
  30. **Oyola SO, Gu Y, Manske M, Otto TD, O'Brien J, Alcock D, et al.** Efficient depletion of host DNA contamination in malaria clinical sequencing. *J Clin Microbiol.* 2013;51:745-51. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02507-12>
  31. **Hunter SJ, Easton S, Booth V, Henderson B, Wade WG, Ward JM.** Selective removal of human DNA from metagenomic DNA samples extracted from dental plaque. *J Basic Microbiol.* 2011;51:442-6. <http://dx.doi.org/10.1002/jobm.201000372>
  32. **Horton JR, Mabuchi MY, Cohen-Karni D, Zhang X, Griggs RM, Samaranyake M, et al.** Structure and cleavage activity of the tetrameric MspJI DNA modification-dependent restriction endonuclease. *Nucleic Acids Res.* 2012;40:9763-73. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gks719>
  33. **Maharaj B, Coovadia Y, Vayej AC.** An investigation of the frequency of bacteraemia following dental extraction, tooth brushing and chewing. *Cardiovasc J Afr.* 2012;23:340-4. <http://dx.doi.org/10.5830/CVJA-2012-016>
  34. **Murdoch FE, Sammons RL, Chapple IL.** Isolation and characterization of subgingival *Staphylococci* from periodontitis patients and controls. *Oral Dis.* 2004;10:155-62. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1601-0825.2003.01000.x>
  35. **Loberto JC, Martins CA, Ferreira SS, Cortelli JR, Olavo A.** *Staphylococcus* spp. in the oral cavity and periodontal pockets of chronic periodontitis patients. *Braz J Microbiol.* 2004;36:64-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1517-83822004000100010>
  36. **Rams T, Feik D, Slots J.** *Staphylococci* in human periodontal diseases. *Oral Microbiol Immunol.* 1990;5:29-32.
  37. **Chukwuemeka II, Samuel Y.** Quality assurance in blood culture: A retrospective study of blood culture contamination rate in a tertiary hospital in Nigeria. *Niger Med J.* 2014;55:201-3. <http://dx.doi.org/10.4103/0300-1652.132038>
  38. **Hall KK, Lyman JA.** Updated review of blood culture contamination. *Clin Microbiol Rev.* 2006;19:788-802. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00062-05>
  39. **Viagappan M, Kelsey MC.** The origin of coagulase-negative staphylococci isolated from blood cultures. *J Hosp Infect.* 1995;30:217-23.
  40. **Murphy AM, Daly CG, Mitchell DH, Stewart D, Curtis BH.** Chewing fails to induce oral bacteraemia in patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2006;33:730-6. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.00980.x>
  41. **Kaasch AJ, Barlow G, Edgeworth JD, Fowler VG, Hellmich M, Hopkins S, et al.** *Staphylococcus aureus* blood stream infection: A pooled analysis of five prospective, observational studies. *J Infect.* 2014;68:242-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinf.2013.10.015>
  42. **Forner L, Larsen T, Kilian M, Holmstrup P.** Incidence of bacteremia after chewing, tooth brushing and scaling in individuals with periodontal inflammation. *J Clin Periodontol.* 2006;33:401-7. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.00924.x>



IN MEMÓRIAM

## Luis Carlos Orozco 1946-2016

Carlos Arturo Sarmiento

Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

La muerte de Luis Carlos Orozco el pasado 30 de enero de 2016, ha dejado un gran vacío en su familia y en la comunidad académica y científica de nuestro país. Hemos perdido a un excelente investigador, a un gran docente, a un padre y esposo amoroso, a un muy buen amigo. Luis Carlos, de personalidad dinámica y recia, será recordado de manera especial por todos los que tuvimos el privilegio de trabajar a su lado y compartir con él los escenarios de la salud pública del país.

Nacido en Bucaramanga el 5 de abril de 1946, fue el cuarto de seis hermanos. Luis Carlos hizo sus estudios de secundaria en el Colegio Salesiano de Zapatoca (Santander), donde empezó su acercamiento a las artes, en particular con la música. En los años 70, ya en Bogotá, ingresó al Teatro La Mama donde incursionó en la actuación teatral, apoyado en esa potente voz, grave y sonora, que siempre lo identificó.

Gracias a su espíritu trabajador y emprendedor, se graduó de Médico Cirujano en la Universidad Industrial de Santander en 1977 y dos años después ingresó al Instituto Nacional de Salud desde donde hizo un aporte creativo e innovador a la salud pública de Colombia. Allí se desempeñó, primero, como jefe del Laboratorio de Lepra y, luego, del Grupo de Micobacterias hasta su controvertida renuncia y retiro en 1995.

Conocí a Luis Carlos a principios de los 80 en el departamento de Boyacá en el curso anual de "Bacteriología de las micobacterias", cuando yo era el coordinador del Programa de Dermatología Sanitaria – Control de Lepra. Desde entonces ya se apreciaba su liderazgo al frente del Grupo de Micobacterias del Instituto Nacional de Salud, al brindar asesoría continua y permanente a los servicios seccionales de salud en todo el país. Posicionó al Grupo como cabeza de la red de laboratorios y estandarizó los procesos de lectura de las baciloscopias de lepra y tuberculosis.



Luis Carlos participó activamente en el cambio de orientación administrativa de los programas de control de estas dos enfermedades; a partir de 1991, se inició una tarea conjunta entre el Ministerio de Salud, la Ayuda Alemana para los Enfermos de Lepra y los Grupos de Micobacterias y de Patología del Instituto Nacional de Salud, para capacitar a los profesionales de la salud (médicos, bacteriólogos y enfermeras) que asumirían directamente las actividades de control del Programa de Lepra. Al frente de las actividades del laboratorio de referencia estaban el doctor Orozco y su Grupo de Micobacterias, cumpliendo una excelente labor en todas las capacitaciones efectuadas. Fruto de este trabajo y del empeño de Luis Carlos y de Gerzaín Rodríguez como editores, se publicó la primera edición del libro "Lepra", aporte fundamental para la continuidad del proceso de educación y para el manejo descentralizado del Programa de Control de la Lepra en el país.

Discípulo del profesor Alberto Alzate, Luis Carlos se graduó como magíster en Epidemiología en la Universidad del Valle en 1994, con lo cual se consolidó y fortificó su espíritu investigador.

Con su retiro del Instituto Nacional de Salud, el país perdió un baluarte de la salud pública en el campo de estas enfermedades transmisibles. Sin embargo, la academia le abrió sus puertas de nuevo y en 1996 ingresó a la Escuela de Enfermería de la Universidad Industrial de Santander, con lo cual se dio un gran impulso al campo de la investigación epidemiológica en ese centro académico. Allí fue prolífico y se ganó el aprecio de sus estudiantes y sus colegas, quienes lo consideraban un verdadero maestro.

La vida profesional de Luis Carlos se dividió en dos períodos muy similares: uno de 17 años en el Instituto Nacional de Salud y el otro de 18 años de trabajo en la Universidad Industrial de Santander. Fue en esta donde incrementó su productividad académica e investigativa, con su participación activa en el desarrollo de las maestrías de Epidemiología, de Ciencias Básicas y de Fisioterapia, y con su labor como docente y director de tesis de grado, así como con su participación como investigador sénior en el Grupo de Investigación en Movimiento, Armonía y Vida, de la Escuela de Fisioterapia de la Universidad. Entre sus últimas contribuciones en cursos internacionales se puede mencionar la efectuada en el 2012 en Brasil, en el curso “Introdução a epidemiologia aplicada na saúde do adulto” y en el curso taller “Testing intervention: Clinical trials and alternatives research design” en la Universidad de São Paulo.

Entre sus publicaciones vale la pena destacar las siguientes, por su aporte académico y a la salud pública:

- Bautista LE, Oróstegui M, Vera LM, Prada GE, Orozco LC, Herrán OF. Prevalence and impact of cardiovascular risk factors in Bucaramanga, Colombia: Results from the Country wide Integrated Noncommunicable Disease Intervention Programme (CINDI/CARMEN) base line survey. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil.* 2006;13:769-75.
- Sánchez J, Orozco L, Buendía J, Muñoz G. Validez del diagnóstico presuntivo de leishmaniasis cutánea realizado por mediadores comunitarios en Colombia. *Rev Panam Salud Pública.* 2007;21:335-44.
- Castellanos YZ, Cucunubá ZM, Flórez AC, Orozco-Vargas LC. Reproducibilidad de pruebas serológicas para el diagnóstico de infección por *Trypanosoma cruzi* en mujeres embarazadas de una zona endémica de Santander, Colombia. *Biomédica.* 2014;34:198-206. doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.1571>
- Upegui LD, Orozco LC. Diseño de un instrumento para medir estigma hacia la tuberculosis. *Revista de la Universidad Industrial de Santander – Salud.* 2014;46:23-33.

Quiero hacer una mención especial de dos libros publicados por el profesor Orozco: el primero, ya mencionado anteriormente, es el de “Lepra”, en el cual fui invitado a participar con algunos capítulos, y que se editó e imprimió en la División de Biblioteca y Publicaciones del Instituto Nacional de Salud en 1996, y el otro es el de “Medición en salud: diagnóstico y evaluación de resultados, un manual crítico más allá de lo básico”, publicado por la División Editorial y de Publicaciones de la Universidad Industrial de Santander en el 2010.

En el campo de la música, Luis Carlos se destacó en la interpretación de la trompeta y grabó dos discos compactos con canciones de su autoría, titulados “Por amor” en el 2003 y “Otro, por amor” en el 2006. A finales de los años 90 e inicios del 2000, perteneció al *Grupo Quetalcito* de Bucaramanga y, en el 2002, al *Grupo Noveca*, integrado por estudiantes y músicos de la Universidad Industrial de Santander, con quienes grabó los dos discos mencionados. Fue, además, miembro benefactor de la *Fundación Armonía* de esa misma ciudad.

Padre de dos niñas y un varón, compartió más de 25 años de su vida con Diana Camargo, la mujer que llenó sus días de ternura, afecto y amor. Quienes tuvimos el privilegio y el orgullo de ser amigos de Luis Carlos nos unimos a Diana para recordarlo como la persona realmente excepcional que siempre fue.

Paz en el descanso eterno de mi gran amigo ‘Luisca’.