

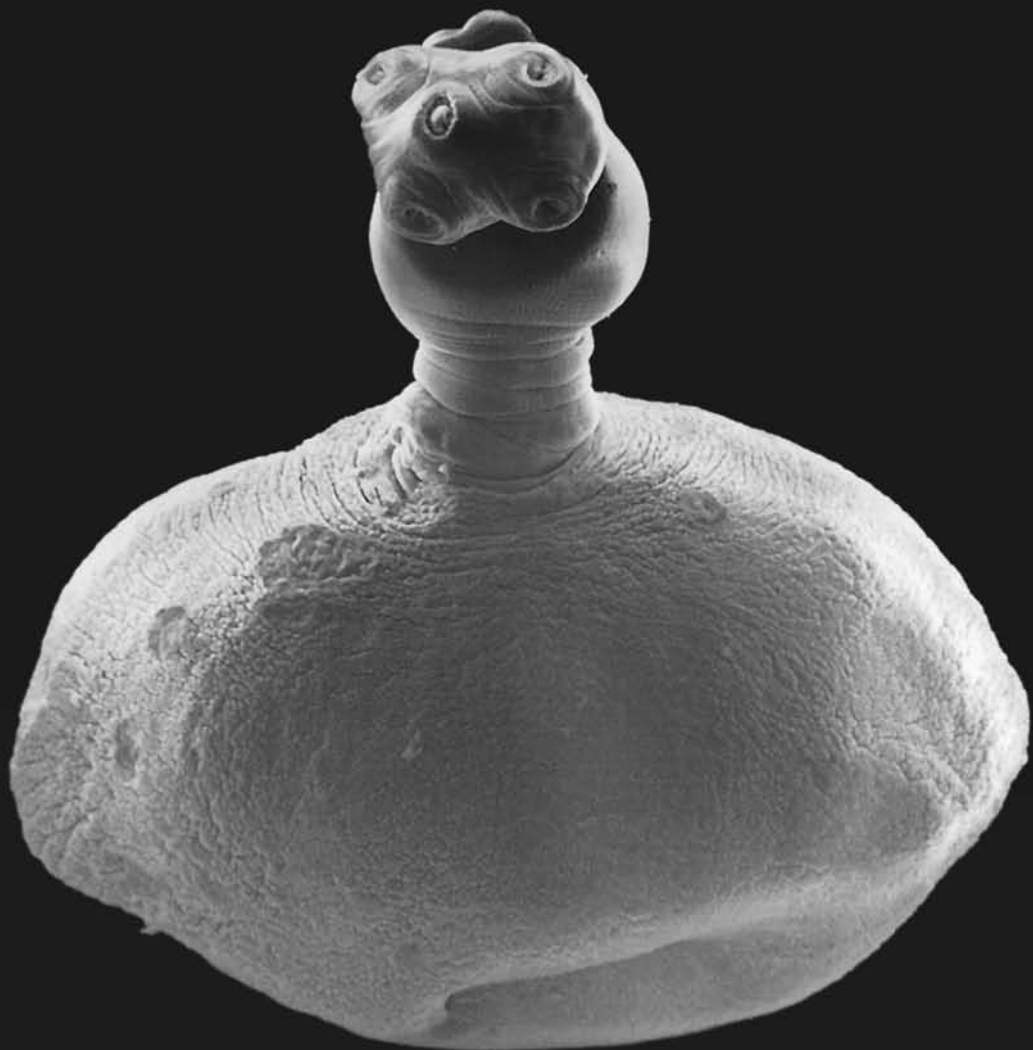
ISSN 0120-4157

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 36, No. 4 - Diciembre de 2016

Bogotá, D.C., Colombia, S.A.



Portada: Cisticerco de *Taenia solium* recuperado de una infección natural de cerdo e inducido a la evaginación *in vitro* en presencia de bilis después de dos horas de incubación a 37 °C.
Microscopía electrónica de barrido

Javier R. Ambrosio, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México

Armando Zepeda-Rodríguez, Departamento de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina,
Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México

Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 36, No. 4, Bogotá, D.C., Colombia - Diciembre 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
Washington, D.C., Estados Unidos

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
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

GERZAIN 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

Impresión: Imprenta Nacional de Colombia

Contenido

Editorial

Parasitismo intestinal y su relación con el saneamiento ambiental y las condiciones sociales en Latinoamérica y el Caribe <i>Santiago Nicholls</i>	495
---	-----

Presentación de caso

Tres casos de mieloma múltiple <i>de novo</i> después de trasplante renal <i>John Fredy Nieto-Ríos, Mónica Zuluaga, Lina María Serna, Arbey Aristizábal, Catalina Ocampo-Kohn, Kenny Mauricio Gálvez, Adriana Alejandra Flórez, Gustavo Zuluaga</i>	498
Hemosiderosis pulmonar idiopática con osificación pulmonar <i>Ana Madeleine Barrera, Leslie Vargas</i>	504

Artículo original

Medición de la ingestión de sodio en la dieta de un grupo de niños entre uno y 18 meses de edad en una consulta pediátrica en Cali, Colombia <i>Adela Isabel Herrera, Kelly Bolaños, Javier Torres, Beatriz Gracia</i>	509
Concordancia entre los métodos de flotación con sulfato de zinc y sedimentación centrífuga para el diagnóstico de parásitos intestinales <i>Elizabete de Jesus Inês, Flavia Thamiris Figueiredo Pacheco, Milena Carneiro Pinto, Patrícia Silva de Almeida Mendes, Hugo da Costa-Ribeiro Jr, Neci Matos Soares, Márcia Cristina Aquino Teixeira</i>	519
Determinación de enteroparásitos en <i>Lactuca sativa</i> en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Colombia <i>Giovanni Andrés Polo, Carmenza Janneth Benavides, Juan Manuel Astaiza, Darío Antonio Vallejo, Patricia Betancourt</i>	525
Factores asociados a la mortalidad por enfermedades no transmisibles en Colombia, 2008-2012 <i>Julio César Martínez</i>	535
Años de vida perdidos como medida de la carga de cáncer en Colombia, 1997-2012 <i>Esther de Vries, María Ximena Meneses, Marion Piñeros</i>	547
Prevalencia de defectos congénitos en Risaralda, 2010-2013 <i>Gloria Lilibian Porras-Hurtado, Olga Mercedes León-Castañeda, Jaime Molano-Hurtado, Sandra Lorena Quiceno, Harry Pachajoa, Juan José Montoya</i>	556

Factores de riesgo para la infección por el virus de la hepatitis C en la Costa Caribe colombiana: un estudio de casos y controles <i>Ismael de Jesús Yepes, Beatriz Lince, Clara Caéz, Giovanni de Vuono</i>	564
--	-----

Mortalidad por homicidios en Colombia, 1998-2012 <i>Pablo Chaparro-Narváez, Karol Cotes-Cantillo, William León-Quevedo, Carlos Castañeda-Orjuela</i>	572
---	-----

Evaluación del sistema de vigilancia epidemiológica del dengue en Paraguay entre 2009 y 2011 mediante la ley de Benford <i>Mariana Gómez-Camponovo, José Moreno-Montoya, Álvaro J. Idrovo, Malvina Páez, Marcel Achkar</i>	583
---	-----

Efecto de las alteraciones genéticas y epigenéticas de la cadherina E y su expresión en la transcripción en la propensión al cáncer de mama <i>Andrés Felipe Aristizábal-Pachón, Catarina Satie-Takahashi</i>	593
--	-----

Efecto citotóxico de los compuestos de inclusión de paladio (II) en la beta-ciclodextrina <i>Nancy Jaimes, Siham Salmen, Melisa Carolina Colmenares, Ana Esperanza Burgos, Lenka Tamayo, Rosa Virginia Mendoza, Astrid Cantor</i>	603
--	-----

Factores de riesgo de la resistencia a metilicina de <i>Staphylococcus aureus</i> causante de bacteriemia: estudio multicéntrico de casos y controles emparejados <i>Paola Mariana Arias-Ortiz, Libia del Pilar Calderón, Juan Sebastián Castillo, José Moreno, Aura Lucía Leal, Jorge Alberto Cortés, Carlos Arturo Álvarez, en nombre del Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá (GREBO)</i>	612
---	-----

Alteraciones de las células de la microglía del sistema nervioso central provocadas por lesiones del nervio facial <i>Jeimmy Cerón, Julieta Troncoso</i>	619
---	-----

Revisión de tema

Urticaria papular y sus agentes causales en Colombia <i>Ana Milena Lozano, Juan Felipe López, Josefina Zakzuk, Elizabeth García</i>	632
--	-----

Cartas al editor

In memoriam	650
-------------------	-----

Índices	653
---------------	-----

Instrucciones a los autores

Contents

Editorial

- Intestinal parasitism and its association with environmental sanitation and social conditions in Latin America and the Caribbean
Santiago Nicholls 495

Case presentation

- Three cases of *de novo* multiple myeloma after kidney transplantation
John Fredy Nieto-Ríos, Mónica Zuluaga, Lina María Serna, Arbey Aristizábal, Catalina Ocampo-Kohn, Kenny Mauricio Gálvez, Adriana Alejandra Flórez, Gustavo Zuluaga 498
- Idiopathic pulmonary hemosiderosis with dendriform pulmonary ossification
Ana Madeleine Barrera, Leslie Vargas 504

Original articles

- Measurement of dietary sodium intake in a group of children from one to 18 months of age in a pediatric service in Cali, Colombia
Adela Isabel Herrera, Kelly Bolaños, Javier Torres, Beatriz Gracia 509
- Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites
Elizabeth de Jesus Inês, Flavia Thamiris Figueiredo Pacheco, Milena Carneiro Pinto, Patrícia Silva de Almeida Mendes, Hugo da Costa-Ribeiro Jr, Neci Matos Soares, Márcia Cristina Aquino Teixeira 519
- Enteroparasite determination in *Lactuca sativa* from farms dedicated to its production in Pasto, Colombia
Giovanni Andrés Polo, Carmenza Janneth Benavides, Juan Manuel Astaiza, Darío Antonio Vallejo, Patricia Betancourt 525
- Factors associated to mortality by non-communicable diseases in Colombia, 2008-2012
Julio César Martínez 535
- Years of life lost as a measure of cancer burden in Colombia, 1997-2012
Esther de Vries, María Ximena Meneses, Marion Piñeros 547
- Prevalence of birth defects in Risaralda, 2010-2013
Gloria Liliana Porras-Hurtado, Olga Mercedes León-Castañeda, Jaime Molano-Hurtado, Sandra Lorena Quiceno, Harry Pachajoa, Juan José Montoya 556

- Risk factors for hepatitis C virus infection in the Colombian Caribbean coast: A case-control study
Ismael de Jesús Yepes, Beatriz Lince, Clara Caez, Giovanni de Vuono 564

- Mortality by homicides in Colombia, 1998-2012
Pablo Chaparro-Narváez, Karol Cotes-Cantillo, Willian León-Quevedo, Carlos Castañeda-Orjuela 572

- Monitoring the Paraguayan epidemiological dengue surveillance system (2009-2011) using Benford's law
Mariana Gómez-Camponovo, José Moreno-Montoya, Álvaro J. Idrovo, Malvina Páez, Marcel Achkar 583

- Effect of genetics, epigenetics and variations in the transcriptional expression of cadherin-E in breast cancer susceptibility
Andrés Felipe Aristizábal-Pachón, Catarina Satie-Takahashi 593

- Cytotoxic effect of palladium (II) inclusion compounds in beta-cyclodextrin
Nancy Jaimés, Siham Salmen, Melisa Carolina Colmenares, Ana Esperanza Burgos, Lenka Tamayo, Rosa Virginia Mendoza, Astrid Cantor 603

- Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: A multicenter matched case-control study
Paola Mariana Arias-Ortiz, Libia del Pilar Calderón†, Juan Sebastián Castillo, José Moreno, Aura Lucía Leal, Jorge Alberto Cortés, Carlos Arturo Álvarez, on behalf of Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá (GREBO) 612

- Facial nerve injuries cause changes in central nervous system microglial cells.
Jeimmy Cerón, Julieta Troncoso 619

Topic review

- Papular urticaria: A review of causal agents in Colombia
Ana Milena Lozano, Juan Felipe López, Josefina Zakzuk, Elizabeth García 632

Letters to the editor

- In memoriam 650
- Indexes 653

Instructions for authors

Editorial

Parasitismo intestinal y su relación con el saneamiento ambiental y las condiciones sociales en Latinoamérica y el Caribe

Las parasitosis intestinales por helmintos y protozoarios constituyen unas de las enfermedades más ampliamente diseminadas en el mundo y en Latinoamérica y el Caribe. A manera de ejemplo, se estima que solo un grupo de ellas, las geohelmintiasis, afectan a más de mil millones de personas en el mundo y que cerca de 900 millones de niños están en riesgo (1). En Latinoamérica y el Caribe se estima que una de cada tres personas está infectada por geohelmintos, y cerca de 46 millones de niños entre 1 y 14 años de edad están en riesgo de infección por estos parásitos (1). Los niños en edades preescolar (1 a 4 años) y escolar (5 a 14 años) están entre los grupos más vulnerables; en ellos, los helmintos intestinales afectan la nutrición, el crecimiento, el desarrollo físico y el aprendizaje, con consecuencias que pueden perdurar a lo largo de su vida y afectar su rendimiento escolar y su productividad laboral y, en consecuencia, su capacidad de generar ingresos. Los protozoarios intestinales son frecuentes agentes causales de enfermedad diarreica aguda, así como de desnutrición.

Las helmintiasis intestinales forman parte del grupo de enfermedades tropicales desatendidas, porque están asociadas con la pobreza y la marginación, no reciben la debida atención nacional o internacional, los recursos para hacerles frente son insuficientes y no han sido históricamente una prioridad en las agendas de los ministerios de Salud, de los centros públicos de investigación, ni de las compañías farmacéuticas que producen medicamentos y pruebas diagnósticas. Estas enfermedades afectan desproporcionadamente a los grupos de población históricamente desatendidos, incluidas ciertas poblaciones indígenas, afrodescendientes y poblaciones pobres de las zonas rurales y periurbanas (2). Los factores sociales determinantes de dichas enfermedades incluyen las deficientes condiciones de vivienda (sin techos, paredes o pisos adecuados), la falta de acceso a agua potable y segura y a saneamiento básico e higiene, los bajos ingresos, la educación deficiente y las barreras de acceso a los servicios de salud en general y, en especial, a la atención primaria en salud (2,3).

La distribución de las enfermedades tropicales desatendidas y la amplia diseminación de las parasitosis intestinales en Latinoamérica y el Caribe, se explican por los indicadores de pobreza y de desigualdad de los ingresos. En esta parte del mundo, el porcentaje de personas que viven en la pobreza total, definida como ingresos menores de USD\$ 4 diarios, fue de 24,3 % en el 2013, aproximadamente 153 millones de personas, de las cuales poco menos de la mitad –72,5 millones– vivían en la pobreza extrema (ingresos menores de USD\$ 2,50 diarios) (4). En el 2015, el 6 % de los, aproximadamente, 630 millones de habitantes de América Latina y el Caribe carecía de acceso a agua potable (3 % de la población urbana y 17 % de la rural), y el 17 % no tenía acceso a servicios de saneamiento adecuados (12 % en áreas urbanas y 37 % en las rurales) (5). Un informe reciente de Unicef y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (6) reveló que en esta región 18 millones de personas aún tienen que recurrir a la defecación al aire libre, lo cual contribuye a mantener la contaminación fecal del medio ambiente y a perpetuar el ciclo de transmisión de los parásitos intestinales.

Dada su naturaleza, la prevención y el control de las parasitosis intestinales deben tener un enfoque intersectorial, con medidas que corresponden al sector de la salud, como la desparasitación masiva periódica contra las geohelmintiasis en niños en edad preescolar y escolar para reducir el impacto en la salud y la morbilidad, así como intervenciones propias de otros sectores, como el de educación, para el mejoramiento de la higiene, la promoción del uso de calzado y el incremento del acceso a agua potable y segura y al saneamiento básico. El sector de la salud debe promover la integración entre programas

y sectores clave para implementar intervenciones costo-eficientes y para abordar los factores sociales determinantes de la salud en lo tocante a las parasitosis intestinales y, en general, a las enfermedades tropicales desatendidas, con el fin de contribuir a reducir la carga de enfermedad, mejorar las condiciones de vida y romper el círculo vicioso de la pobreza como factor determinante de la enfermedad.

A finales de 2015, la OMS presentó la estrategia “Agua, saneamiento e higiene para acelerar y sostener el progreso en las enfermedades tropicales desatendidas, 2015-2020” (7), la cual propone los siguientes cuatro objetivos estratégicos:

1. Aumentar el conocimiento de los beneficios mutuos de la integración de las intervenciones en salud para las enfermedades tropicales desatendidas, y aquellas destinadas a garantizar los servicios de agua, saneamiento e higiene, mediante el intercambio de experiencias y de evidencias de mejora en la prestación.
2. Usar la vigilancia del agua, el saneamiento y la higiene y de las enfermedades tropicales desatendidas para llamar la atención sobre las desigualdades, canalizar las inversiones y hacer seguimiento de los avances.
3. Reforzar la evidencia sobre la forma de desarrollar intervenciones efectivas de acceso al agua, el saneamiento y la higiene, orientadas al control de las enfermedades tropicales desatendidas, e incluir los hallazgos en las orientaciones y en la práctica.
4. Planificar, entregar y evaluar los programas con aportes de todos los involucrados en la prestación de los servicios de agua, saneamiento e higiene, y la atención en salud, específicamente de las enfermedades tropicales desatendidas, en todos los niveles.

Llevar a la práctica la integración intersectorial constituye un gran desafío, que esta estrategia aborda con recomendaciones y acciones prácticas específicas.

Los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), 2015-2030 (8), con cuyas metas se comprometieron los Estados miembro de la Organización de Naciones Unidas, constituyen una oportunidad para avanzar hacia la integración y la reducción de la carga de enfermedad debida a enfermedades tropicales desatendidas, en general, y a las parasitosis intestinales, en particular, mediante la aplicación de esta y otras estrategias. Cabe destacar que en el ODS 3: “Garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades”, la meta 3.3 menciona explícitamente las enfermedades tropicales desatendidas: “Para 2030, poner fin a las epidemias del sida, la tuberculosis, la malaria y las enfermedades tropicales desatendidas y combatir la hepatitis, las enfermedades transmitidas por el agua y otras enfermedades transmisibles”. El cumplimiento de esta meta solo es posible con la necesaria coordinación, integración y acción intersectorial para mejorar la higiene y el acceso al agua potable y al saneamiento básico, lo cual constituye, a su vez, el ODS 6: “Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos”. A la prevención y el control del parasitismo intestinal contribuirán también las acciones e intervenciones que se realicen para lograr el ODS 1: “Poner fin a la pobreza en todas sus formas en todo el mundo”, el ODS 2: “Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y la mejora de la nutrición y promover la agricultura sostenible”, y el ODS 10: “Reducir la desigualdad en y entre los países” (8).

Todo ello lleva a pensar que es posible a partir de ahora y hasta el 2030, no solamente reducir la morbilidad aguda y crónica causada por los parásitos intestinales, sino disminuir drásticamente su incidencia y prevalencia en Latinoamérica y el Caribe, a la par que se contribuye a mejorar las condiciones de salud y la calidad de vida de las poblaciones vulnerables, a mejorar su bienestar, a reducir la pobreza y las desigualdades sociales y económicas y, en última instancia, a dignificar la vida misma de las poblaciones desatendidas. Cabe confiar en que así sea con el firme compromiso de los Estados y la acción efectiva de todos los sectores involucrados.

Santiago Nicholls

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

Asesor Regional, Enfermedades Infecciosas Desatendidas, Unidad de Enfermedades Desatendidas, Tropicales y Transmitidas por Vectores, Departamento de Enfermedades Transmisibles y Análisis de Salud, Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C., Estados Unidos

Referencias

1. **World Health Organization.** Soil-transmitted helminthiasis: Estimates of the number of children needing preventive chemotherapy and number treated, 2009. *Weekly Epidemiological Record*. 2011;86:257-66. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.who.int/wer/2011/wer8625.pdf?ua=1>.
2. **Ault SK, Roses-Periago M.** Regional approaches to neglected tropical diseases control in Latin America and the Caribbean. In: *Institute of Medicine Forum on Microbial Threats. The causes and impacts of neglected tropical and zoonotic diseases: Opportunities for integrated intervention strategies*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2011. p. 115-31. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK62517/>.
3. **World Health Organization.** Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases: Third WHO Report on Neglected Diseases 2015. Geneva: WHO; 2015. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/152781/1/9789241564861_eng.pdf?ua=1.
4. **World Bank.** Working to end poverty in Latin America and the Caribbean. *Workers, jobs, and wages*. Washington, D.C.: World Bank; 2015. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: <https://openknowledge.worldbank.org/bitstream/handle/10986/22016/9781464806858.pdf?sequence=6&isAllowed=y>.
5. **Pan American Health Organization.** Health situation in the Americas. Basic indicators, 2015. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2470%3A2010-data-statistics&catid=1900%3Ahome&Itemid=2003&lang=en.
6. **UNICEF, WHO.** Joint Monitoring Program. 2016 inequalities in sanitation and drinking water in Latin America and the Caribbean. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2016. Disponible en: http://www.wssinfo.org/fileadmin/user_upload/resources/LAC-snapshot-wash-2016-for-web.pdf.
7. **World Health Organization.** Water sanitation and hygiene for accelerating and sustaining progress on neglected tropical diseases, a global strategy, 2015-2020. Geneva: World Health Organization; 2015. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/182735/1/WHO_FWC_WSH_15.12_eng.pdf?ua=1.
8. **Organización de las Naciones Unidas.** Objetivos de desarrollo sostenible. Fecha de consulta: 14 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>.

PRESENTACIÓN DE CASO

Tres casos de mieloma múltiple *de novo* después de trasplante renal

John Fredy Nieto-Ríos¹, Mónica Zuluaga², Lina María Serna¹, Arbey Aristizábal¹, Catalina Ocampo-Kohn¹,
Kenny Mauricio Gálvez³, Adriana Alejandra Flórez⁴, Gustavo Zuluaga¹

¹ Unidad de Nefrología y Trasplante Renal, Hospital Pablo Tobón Uribe, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Facultad de Medicina Interna, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

³ Unidad de Hematología y Oncología, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

⁴ Departamento de Patología Anatómica y Clínica, Hospital Universitario Fundación Santa Fe de Bogotá, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

La enfermedad renal asociada a cadenas ligeras es frecuente en el contexto de las gammopatías monoclonales, afecta los glomerulos o los túbulos renales, y su causa más común es el mieloma múltiple. Puede desarrollarse después de un trasplante renal por recurrencia de un mieloma múltiple ya existente, o puede ser de diagnóstico nuevo y presentarse con deterioro de la función renal y proteinuria. Siempre se requiere una biopsia renal para confirmar el diagnóstico.

Se describen aquí tres casos de disfunción del injerto renal debida a mieloma múltiple en pacientes sin antecedentes de esta condición antes del trasplante.

Palabras clave: mieloma múltiple; trasplante de riñón; enfermedades renales; paraproteinemias.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3090>

Three cases of *de novo* multiple myeloma after kidney transplantation

Light chain-associated kidney compromise is frequent in patients with monoclonal gammopathies; it affects the glomeruli or the tubules, and its most common cause is multiple myeloma. It may develop after a kidney transplant due to recurrence of a preexisting multiple myeloma or it can be a *de novo* disease manifesting as graft dysfunction and proteinuria. A kidney biopsy is always necessary to confirm the diagnosis.

We describe three cases of kidney graft dysfunction due to multiple myeloma in patients without presence of the disease before the transplant.

Key words: multiple myeloma; kidney transplantation; kidney diseases; paraproteinemias.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3090>

La enfermedad de cadenas ligeras afecta de diferentes formas el funcionamiento renal, y puede manifestarse como nefropatía por cilindros (riñón de mieloma), cadenas ligeras detectadas por inmunofluorescencia sin evidencia morfológica de daño renal, enfermedad por depósito de cadenas ligeras, síndrome de Fanconi por cadenas ligeras,

nefritis intersticial por cadenas ligeras y lesiones glomerulares asociadas a cadenas ligeras o cadenas pesadas con patrones de lesión glomerular del tipo proliferativo de membranas o membranoso, glomeruloesclerosis nodular y amiloidosis (1), así como por la formación de estructuras organizadas ya identificadas como glomerulopatía inmuno-tactoide, fibrilar o por crioglobulinas. Dado que se trata de una enfermedad de gran variabilidad histológica, los pacientes deben someterse a estudios hematológicos para poder confirmar el diagnóstico, establecer el pronóstico y, por supuesto, ofrecer el mejor tratamiento posible.

Correspondencia:

Lina María Serna, Calle 78b N° 69-240, Medellín, Colombia

Teléfono: (314) 627 5298

lm.serna@hotmail.com

Recibido: 17/11/15; aceptado: 18/04/16

Contribución de los autores:

John Fredy Nieto-Ríos, Mónica Zuluaga y Lina María Serna: concepción y diseño del trabajo, recolección, análisis e interpretación de los datos y redacción del manuscrito

John Fredy Nieto-Ríos, Arbey Aristizábal, Gustavo Zuluaga y Catalina Ocampo-Kohn: contacto con los pacientes y recolección del material de estudio

Lina María Serna: asesoría estadística

Kenny Mauricio Gálvez: asesoría técnica y administrativa

Adriana Alejandra Flórez: revisión, análisis e interpretación de las biopsias renales, redacción del manuscrito

El mieloma múltiple es una enfermedad maligna poco frecuente, con una incidencia de tres a cuatro casos por 100.000 personas al año; los riñones suelen ser los órganos más comprometidos en el momento del diagnóstico (aproximadamente, en 50 % de los pacientes), y es la neoplasia que más frecuentemente desencadena la enfermedad renal crónica terminal, la cual es un factor independiente de riesgo de mayor mortalidad (2). En los últimos años, se han documentado mejores resultados con el trasplante renal en pacientes con enfermedad renal crónica terminal causada por mieloma múltiple en remisión clínica (2,3); sin embargo, persiste el riesgo de recurrencia de la enfermedad en el injerto o, con menor frecuencia, su reparación, caso en el cual las estrategias de tratamiento son un reto para el clínico, ya que en la mayoría de los casos no se recupera la función renal (4).

En el Hospital Pablo Tobón Uribe de Medellín se habían llevado a cabo 812 trasplantes de riñón hasta el 31 de marzo de 2016, y en tres de ellos hubo compromiso renal como manifestación inicial de mieloma múltiple no diagnosticado antes. A continuación se presentan los tres casos.

Caso 1

Se trata de un paciente de 55 años con antecedentes de enfermedad renal crónica terminal de causa desconocida, por lo cual se le hizo trasplante renal en el 2012. Como parte de los exámenes previos al trasplante, se hizo electroforesis de proteínas con resultado normal, y el paciente recibió inducción con 30 mg de alemtuzumab, pulsos de metilprednisolona e inmunosupresión con ciclosporina, micofenolato y prednisona, con lo cual se logró la función adecuada del injerto renal.

Un mes después del trasplante el paciente tuvo una infección por citomegalovirus tratada con valganciclovir, de la cual se recuperó completamente. A los ocho meses presentó disfunción del injerto con elevación de la creatinina hasta 1,8 mg/dl, por lo cual se sospechó que había rechazo o toxicidad por anticalcineurínicos o una infección viral.

Se hizo una biopsia renal con la cual se confirmó el diagnóstico de nefropatía por cilindros (figura 1) y, por ello, se solicitaron nuevos estudios con los cuales se diagnosticó mieloma múltiple (cuadro 1). El paciente recibió quimioterapia con bortezomib y dexametasona, con lo cual entró en remisión y, seis meses después, se le hizo el trasplante autólogo de médula ósea con éxito, pues se logró la estabilización

de su función renal y niveles de creatinina basal de 1,5 mg/dl que persistían tres años y medio después del diagnóstico de mieloma múltiple.

Caso 2

Se trata de un paciente de 68 años con diagnóstico de enfermedad renal crónica terminal asociada a nefropatía hipertensiva, quien llevaba dos años en hemodiálisis. En el protocolo para el trasplante renal se documentó la presencia de trombocitosis confirmada por hematología; finalmente, se determinó que era una trombocitemia esencial en la médula ósea, lo cual no constituía una contraindicación para el procedimiento.

En el 2013, el paciente fue sometido a trasplante de donante fallecido, y recibió inducción con basiliximab más metilprednisolona y tratamiento de mantenimiento con ciclosporina, micofenolato y prednisona. Veinte días después del trasplante, el paciente presentó rechazo celular agudo, el cual se trató inicialmente con bolos de esteroides y, posteriormente, con tacrolimus, con lo cual se recuperó la función del injerto y se alcanzaron niveles de creatinina basal de 1,2 mg/dl.

Quince meses después, presentó elevación aguda de la creatinina hasta alcanzar 5,7 mg/dl, por lo cual se sospechó un nuevo rechazo agudo del injerto. Se le administraron bolos de esteroides y se le hizo una biopsia renal, en la cual se detectó una nefropatía por cilindros; en consecuencia, se practicaron estudios de hematología complementarios, los cuales confirmaron la existencia de mieloma múltiple (cuadro 1). El paciente recibió tratamiento con bortezomib y dexametasona con buen resultado terapéutico, y recuperó la función renal hasta los valores basales. Transcurridos dos años desde el diagnóstico de mieloma múltiple, el paciente se ha mantenido estable y sin recaídas.

Caso 3

Se trató de un paciente de 75 años, con enfermedad renal crónica terminal de etiología desconocida según los estudios previos, quien llevaba tres años en hemodiálisis cuando recibió el trasplante renal de donante fallecido en el 2007. En la electroforesis contemplada en el protocolo previo al trasplante, se registraron valores normales de proteínas, y el paciente recibió inducción con alemtuzumab más metilprednisolona, y tratamiento de mantenimiento con ciclosporina, azatioprina y esteroides. Posteriormente, se cambió a tacrolimus por intolerancia a la ciclosporina y sus niveles de creatinina quedaron en 0,7 mg/dl.

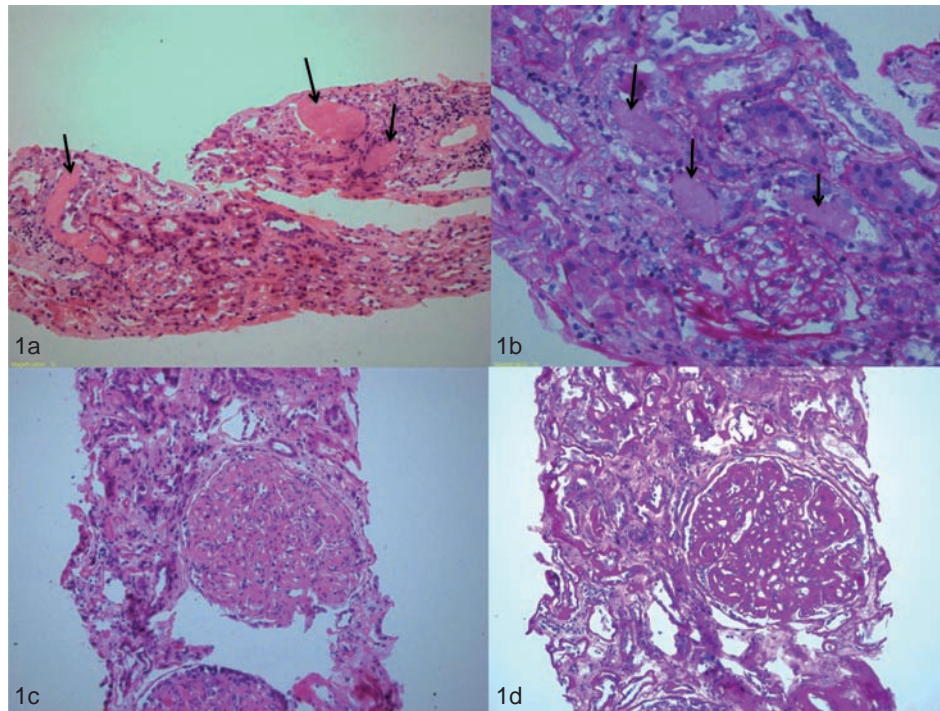


Figura 1. **a.** Los cortes muestran parénquima renal con presencia de cilindros de aspecto hialino, uniformes, cuya coloración es hipereosinófila (flechas). Además, se observan cambios por fibrosis intersticial e inflamación mononuclear. Hematoxilina y eosina, 20X. **b.** Con la coloración de ácido peryódico de Schiff, el color de los cilindros es pálido (flechas), lo cual es característico de la nefropatía por cilindros. Ácido peryódico de Schiff, 40X. **c.** Los cortes muestran un glomérulo con lesión de patrón nodular mesangial y marcado engrosamiento de las asas capilares glomerulares. Hematoxilina y eosina 40X. **d.** La coloración con ácido peryódico de Schiff reveló reacción en los componentes glomerulares del tipo de asas glomerulares y el mesangio, resaltando el aspecto nodular. A pesar de tratarse de un material reactivo a esta coloración, y de que la microscopía de luz no evidenció los cilindros, los hallazgos de la inmunofluorescencia demostraron la intensa reacción de las cadenas ligeras kappa en las asas glomerulares y en el fondo del tejido, lo cual obligó a hacer más estudios hematológicos para llegar al diagnóstico. Ácido peryódico de Schiff, 40X.

Cuadro 1. Resultados de laboratorio en el momento del diagnóstico de mieloma múltiple

Estudio	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Electroforesis de proteínas	Hipogammaglobulinemia	Banda monoclonal en la región beta	Agammaglobulinemia
Inmunofijación en orina	Cadena lambda	Proteína de Bence-Jones	Proteína de Bence-Jones
Inmunofijación en sangre	Cadena lambda	Cadena lambda	Cadena lambda
Cadenas livianas	Kappa: 9,56 mg/L (N) Lambda: 14,77 mg/L (N)	Kappa: 18 mg/L Lambda: 1.874 mg/L	ND
Beta 2 microglobulina	6,2 mg/L (alta)	9,87 mg/dl (alta)	16,43 mg/L (alta)
Biopsia de médula ósea	11 % de plasmocitos	10 % de plasmocitos	15 % de plasmocitos
Citometría de flujo	11 % de plasmocitos con fenotipo anormal y poca expresión de CD38, CD56, CD45; monoclonales lambda negativas para CD19	1 % de plasmocitos con fenotipo anormal y expresión de CD38; monoclonales lambda negativos para CD19 y CD56	8 % de plasmocitos con fenotipo anormal y expresión de CD38 y CD56; monoclonales kappa negativos para CD19
Rayos X de huesos largos	Normal	Normal	Normal
Rayos X de cráneo	Normal	Lesiones lúcidas en sacabocado	Lesiones líticas
Rayos X de columna	Normal	Osteopenia	Normal
Daño orgánico atribuible a mieloma (niveles elevados de calcio, falla renal, anemia, lesiones óseas)	Anemia, falla renal	Anemia, falla renal, lesiones líticas	Anemia, falla renal, lesiones líticas

ND: no disponible

A los cuatro meses del trasplante, el paciente presentó meningitis tuberculosa, para la cual recibió tratamiento, pero hubo secuelas neurológicas graves. Durante su evolución, el paciente desarrolló, además, falla cardíaca isquémica, la cual se manejó en forma conservadora.

Ocho años después, presentó una elevación aguda de la creatinina (2 mg/dl) y proteinuria. En la biopsia renal se reportó glomeruloesclerosis nodular, a pesar de que el paciente no era diabético (figura 1 c y d), en tanto que, mediante otros estudios, se estableció el diagnóstico de enfermedad linfoproliferativa del tipo de mieloma múltiple después del trasplante, pues su aparición fue muy tardía con respecto al trasplante renal (cuadro 1). Dadas las múltiples enfermedades descritas y el delicado estado funcional del paciente, se decidió un manejo paliativo sin quimioterapia y dos meses después falleció.

Discusión

Se presentan tres casos clínicos de pacientes con trasplante de riñón que tuvieron disfunción aguda del injerto renal atribuida inicialmente a otras causas, como rechazo, toxicidad por la acción de medicamentos inhibidores de la calcineurina o infección viral, y en quienes la biopsia renal hizo sospechar un mieloma múltiple como nuevo diagnóstico, el cual se confirmó con los estudios complementarios. Con el tratamiento se lograron restablecer los valores hematológicos y recuperar la función renal, sin necesidad de recurrir a diálisis en dos de los pacientes, en tanto que en el paciente del caso 3, se decidió administrar el tratamiento conservador debido a la presencia simultánea de diversas enfermedades que finalmente llevaron a su muerte.

El mieloma múltiple es una neoplasia de células plasmáticas productoras de proteínas monoclonales o paraproteínas, el cual se manifiesta con un comportamiento ineficiente de las inmunoglobulinas, compromiso de la función de la médula ósea y destrucción del tejido óseo. Representa el 1 % de todos los cánceres, tiene una incidencia anual de 4 por 100.000 habitantes, la mediana de edad en el momento del diagnóstico es de 65 años y es más frecuente en afroamericanos. Los síntomas más frecuentes en el momento del diagnóstico son dolor óseo, astenia, adinamia, pérdida de peso y parestesias; se encuentra hipercalcemia en el 28 % de los pacientes, anormalidades en los rayos X hasta en el 80 %, lesiones líticas en el 57 % y, en menor frecuencia, osteoporosis, fracturas patológicas y compresión de la médula espinal.

El compromiso renal es frecuente y muchas veces se requiere diálisis, ya que el trasplante renal está contraindicado en los pacientes en quienes se presenta. El mieloma múltiple continúa siendo incurable en la mayoría de los casos, con una mediana de supervivencia de tres años (2,3).

La manifestación renal más común del mieloma múltiple es la nefropatía por cilindros de cadenas livianas (riñón de mieloma) (4), la cual resulta de la acumulación y depósito de paraproteínas monoclonales en el riñón, con el consecuente efecto tóxico directo sobre el epitelio tubular y la formación de cilindros con obstrucción secundaria y deterioro progresivo de su función (4,5).

En las imágenes en el microscopio de luz, se observan cambios indicativos de lesiones localizadas, en su mayoría, en el compartimiento intersticial entre los túbulos, con túbulos distales dilatados y conductos colectores cuyos cilindros no se tiñen con ácido peryódico de Schiff, y que resultan en atrofia y fibrosis intersticial (5,6). Mediante inmunofluorescencia se confirma el diagnóstico con base en la expresión intensa de una de las cadenas ligeras lambda o kappa y, con menor frecuencia, de alguna de las cadenas pesadas, tanto en el fondo del tejido como en los cilindros (4-6). Precisamente esta fue la manifestación que se presentó en dos de los casos aquí estudiados, confirmada luego como nefropatía por cilindros en la biopsia, lo cual condujo, a su vez, a la confirmación del diagnóstico de mieloma múltiple en ambos casos (figura 1 a y b).

El efecto en los capilares glomerulares y el mesangio es menos frecuente; sin embargo, estos son sitios de preferencia para el depósito anormal de proteínas. El compromiso glomerular puede presentarse en tres categorías reconocidas:

- 1) enfermedades con formación de fibrillas, tales como amiloidosis o glomerulonefritis fibrilar, así como enfermedades con formación de estructuras organizadas que sugieren microtúbulos, como glomerulonefritis crioglobulinémica, glomerulonefritis inmunotactoide o glomerulonefritis con depósitos de inmunoglobulina monoclonal microtubular organizada;
- 2) enfermedades con depósitos granulares electrodensos, como la de depósito de inmunoglobulina monoclonal, la de depósito de cadenas ligeras y la de depósito de cadenas pesadas; y
- 3) las glomerulopatías, cuyos mecanismos fisiopatológicos no se han dilucidado totalmente en el

mieloma múltiple, entre ellas, la glomerulonefritis membranoproliferativa, la púrpura de Henoch-Schölein, la nefropatía por IgA, la enfermedad de cambios mínimos, la glomeruloesclerosis focal y la segmentaria, la enfermedad antimembrana basal glomerular y la poliangeitis microscópica asociada a los ANCA (*Anti-Neutrophil Cytoplasmic Antibodies*) (7).

La forma más frecuente es la amiloidosis, seguida por la enfermedad por depósito de inmunoglobulina monoclonal (7,8). En el caso 3 aquí reportado, la biopsia reveló glomerulosclerosis nodular sin presencia de amiloide (figura 1 c y d), el cual es un hallazgo histológico infrecuente de la enfermedad por depósito de inmunoglobulina monoclonal, que se caracteriza por no presentar afinidad por el rojo Congo ni birrefringencia al ser expuesto a luz polarizada, lo cual la diferencia de la amiloidosis; sin embargo, es una de las lesiones cuyo diagnóstico diferencial es la nefropatía diabética o glomeruloesclerosis nodular en grandes fumadores. El paciente del caso 3 no tenía estos antecedentes y en su biopsia renal se detectó una diferencia importante en la expresión de las cadenas ligeras kappa, tanto en el fondo como en la membrana basal glomerular, por lo cual se hicieron estudios adicionales y se logró diagnosticar el mieloma múltiple. De allí, la importancia de considerar esta condición y de hacer una biopsia con las tinciones adecuadas para evitar diagnósticos erróneos.

Otros tipos de compromiso renal asociados al mieloma múltiple son la hipercalcemia, la sepsis, la nefrotoxicidad por medicamentos o medios de contraste, los estados de hiperviscosidad por el acúmulo de inmunoglobulinas, el síndrome de lisis tumoral o compromiso posrenal por litiasis, pero estos son menos frecuentes y no ocurrieron en los casos reportados (6,7).

Resulta complicado diferenciar el mieloma múltiple de nuevo diagnóstico de una recaída después del trasplante, porque muchas veces se trata de formas subclínicas de la enfermedad presentes antes del trasplante que no se detectan con los exámenes del protocolo (9). Además, en los pacientes con enfermedad renal crónica terminal de etiología idiopática diagnosticada antes del trasplante (30,8 % de los casos aquí presentados), no se hace biopsia renal porque no aporta información útil por tratarse de riñones con fibrosis y, en cambio, sí implica un mayor riesgo de complicaciones.

En dos de los tres casos que se describen hubo seguridad de que se trataba de un mieloma múltiple de nuevo diagnóstico (casos 2 y 3), ya que en uno se presentó ocho años después del trasplante, tiempo de evolución improbable para un mieloma múltiple de lenta evolución que hubiera estado presente antes del trasplante, y dado el antecedente de trombocitosis en el otro paciente, se contaba con los resultados de los estudios hematológicos previos al trasplante, los cuales descartaban la enfermedad en ese momento (biopsia de médula ósea, inmunofijación en sangre y orina, serie de huesos largos).

En el tercer caso, el mieloma múltiple se diagnosticó ocho meses después del trasplante; antes del procedimiento quirúrgico, se había practicado electroforesis de proteínas en suero y orina, como parte del protocolo previo al trasplante, para la tamización de mieloma múltiple, sin que se demostrara pico monoclonal. No obstante, debe tenerse en cuenta que estos estudios no detectan el mieloma múltiple no secretor, para lo cual se requieren estudios adicionales. Por esta razón, es probable que el mieloma ya estuviera presente con evolución lenta. Así, la incidencia global calculada después del trasplante en este grupo de pacientes fue de 0,36 %.

Hasta donde se pudo constatar en los artículos consultados, se han descrito siete casos de mieloma múltiple de nuevo diagnóstico después de trasplante. En dichos casos, el diagnóstico fue tardío y se requirieron dos biopsias del injerto, la primera de las cuales evidenció cambios intersticiales inusuales entre los túbulos, pero, posteriormente, los hallazgos típicos permitieron el diagnóstico definitivo sin que se registraran valores anormales en los estudios hematológicos previos al trasplante (4-11). La mayoría de los pacientes fueron tratados con esteroides, melfalán y talidomida; en dos casos se administró bortezomib, pero solo en uno de ellos se pudo recuperar la función renal; en los demás hubo una recuperación de los valores hematológicos, pero también, se requirió nefrectomía del injerto o terapia de reemplazo renal.

El tratamiento del riñón afectado por el mieloma se basa en la corrección de factores reversibles que favorecen la precipitación de los cilindros, como son la deshidratación, la infección y la hipercalcemia, así como la disminución de la producción de cadenas livianas con la quimioterapia, su disminución rápida con plasmaferesis, y la terapia de reemplazo renal

en caso de ser necesaria (4,5,8). El bortezomib, un inhibidor del proteosoma, ha demostrado ser efectivo para mejorar las tasas de mejoría y lograr la remisión completa, la supervivencia libre de progresión, la supervivencia global y la recuperación de la función renal antes y después del trasplante renal (12).

Los tres casos que se describen aquí confirman la necesidad y la importancia de efectuar un estudio minucioso antes del trasplante, y determinar tan pronto como sea posible la etiología de la falla renal para descartar el compromiso por mieloma múltiple. En caso de que el resultado de los exámenes sea negativo, debe seguir sospechándose la presencia de esta condición después del trasplante, cuando la causa del deterioro de la función renal no sea clara, puesto que el tratamiento oportuno evita las complicaciones renales y las hematológicas (9).

En la mayoría de los pocos casos de mieloma múltiple primario después del trasplante descritos hasta ahora, no se logró la recuperación del injerto renal y se requirió nuevamente diálisis y, en algunos casos, nefrectomía. En dos de los casos que se presentan aquí, hubo una evolución satisfactoria, con estabilización de la función renal y recuperación de los valores hematológicos; en el tercer caso, el desenlace fatal se debió a las múltiples enfermedades concomitantes, lo cual constituía un mal pronóstico por no poder tratarse con quimioterapia. Esto confirma la necesidad de sospechar siempre esta condición, ya que las opciones de tratamiento con quimioterapia y el trasplante de médula ósea son la única alternativa con un eventual efecto a largo plazo.

Conclusión

El compromiso renal por mieloma múltiple es una condición clínica infrecuente en el periodo posterior al trasplante renal; sin embargo, debe sospecharse cuando la causa de disfunción del injerto no es clara y en la biopsia se reportan hallazgos indicativos de esta neoplasia hematológica. El tratamiento oportuno puede mejorar el pronóstico y propiciar la supervivencia del paciente.

Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no tenemos conflictos de intereses relacionados con los temas que se tratan en este artículo.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el Hospital Pablo Tobón Uribe

Referencias

1. **Colvin R, Chang A.** Diagnostic pathology. Kidney diseases. First edition. Salt Lake City: Amirsys; 2011. p. 244-8.
2. **Wirk B.** Renal failure in multiple myeloma: A medical emergency. *Bone Marrow Transplant.* 2011;46:771-83. <http://dx.doi.org/10.1038/bmt.2011.8>
3. **Spitzer TR, Sykes M, Talkoff-Rubin N, Kawai T, McAfee SL, Dey BR, et al.** Long-term follow-up of recipients of combined human leukocyte antigen-matched bone marrow and kidney transplantation for multiple myeloma with end-stage renal disease. *Transplantation.* 2011;91:672-6. <http://dx.doi.org/10.1097/TP.0b013e31820a3068>
4. **Geiger X, Harris D, van Buren D, Goral S, Helderman JH, Fogo A.** A middle-aged woman with refractory graft dysfunction in the early posttransplant period. *Am J Kidney Dis.* 1999;33:998-1003. [http://dx.doi.org/10.1016/S0272-6386\(99\)70441-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0272-6386(99)70441-5)
5. **Balamuthusamy S, Hamrahian M, Zhang R, Batuman V.** Myeloma kidney with isolated tubulointerstitial light chain deposition in a renal allograft. *Clin Transplant.* 2009;23:848-52. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0012.2009.00967.x>
6. **Foster K, Cohen DJ, D'Agati VD, Markowitz GS.** Primary renal allograft dysfunction. *Am J Kidney Dis.* 2004;44:376-81. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2003.10.047>
7. **Kapoulas S, Raptis V, Papaioannou M.** New aspects on the pathogenesis of renal disorders related to monoclonal gammopathies. *Nephrol Ther.* 2015;11:135-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.nephro.2014.12.005>
8. **Goel SK, Granger D, Bellovich K, Marin M, Qu H, El-Ghoroury M.** Myeloma cast nephropathy: A rare cause of primary renal allograft dysfunction. *Transplant Proc.* 2011;43:2784-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2011.06.058>
9. **Savenkoff B, Aubertin P, Ladriere M, Hulin C, Champigneulle J, Frimat L.** A de novo monoclonal immunoglobulin deposition disease in a kidney transplant recipient: A case report. *J Med Case Rep.* 2014;8:205. <http://dx.doi.org/10.1186/1752-1947-8-205>
10. **Perkowska-Ptasinska A, Glyda M, Paczkowski M, Durlik M.** Primary kidney allograft dysfunction due to myeloma-cast nephropathy: A case report. *Transplant Proc.* 2007;39:1683-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2007.01.089>
11. **Tanenbaum ND, Howell DN, Middleton JP, Spurney RF.** Lambda light chain deposition disease in a renal allograft. *Transplant Proc.* 2005;37:4289-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2005.10.030>
12. **Moiz A, Javed T, Garcés J, Staffeld-coit C, Paueksakon P.** Late recurrence of light chain deposition disease after kidney transplantation treated with bortezomib: A case report. *Ochsner J.* 2014;14:445-9.

PRESENTACIÓN DE CASO

Hemosiderosis pulmonar idiopática con osificación pulmonar

Ana Madeleine Barrera¹, Leslie Vargas²

¹ Servicio de Medicina Interna, Fundación Cardioinfantil-Instituto de Cardiología, Bogotá, D.C., Colombia

² Servicio de Neumología, Fundación Neumológica de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

La osificación pulmonar es un hallazgo poco usual, generalmente asintomático, que se reporta como incidental en biopsias de pulmón. Asimismo, la hemosiderosis pulmonar idiopática es una causa poco frecuente de infiltración pulmonar. Se presenta el caso de un hombre de 64 años con síntomas respiratorios crónicos, en quien se detectaron estas dos condiciones en el estudio histopatológico.

Palabras clave: osteogénesis; hemosiderosis; pulmón; informes de casos.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2968>

Idiopathic pulmonary hemosiderosis with dendriform pulmonary ossification

Pulmonary ossification is a rare and usually asymptomatic finding reported as incidental in lung biopsies. Similarly, idiopathic pulmonary hemosiderosis is a rare cause of pulmonary infiltrates. We report the case of a 64-year old man with chronic respiratory symptoms in whom these two histopathological findings converged.

Key words: Osteogenesis; hemosiderosis; lung; case reports.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2968>

La hemosiderosis pulmonar idiopática del adulto y la osificación pulmonar son poco frecuentes, y su etiología no es clara. Habitualmente, son hallazgos incidentales en biopsias pulmonares.

Se presenta el caso de un hombre de 64 años, sintomático respiratorio crónico y sin antecedentes patológicos, ni de tabaquismo o exposición a otras sustancias tóxicas, en cuyo estudio histopatológico se evidenció la presencia de estas dos condiciones. En la consulta, el paciente relató haber padecido de tos seca durante 30 años, predominantemente en las mañanas, en ocasiones con vómito, y acompañada de disnea de instauración insidiosa.

En el examen físico se encontró baja saturación de oxígeno y estertores finos de predominio inspiratorio en ambos campos pulmonares. En la radiografía de tórax se evidenciaron opacidades intersticiales de tipo reticulonodulares difusas

bilaterales (figuras 1 y 2) y, posteriormente, en la tomografía de alta resolución de tórax se detectaron opacidades intersticiales con engrosamiento de los tabiques interlobulillares, principalmente en la base pulmonar, y múltiples micronódulos (figuras 3 y 4).

Se le practicó una biopsia pulmonar por toracoscopia, en la cual se reportó pérdida de arquitectura del pulmón, fibroantracosis perivascular, hemorragia alveolar reciente y antigua con alvéolos llenos de hematíes y macrófagos pardos, hemosiderófagos con la coloración para hierro y presencia de



Figura 1. Radiografía de tórax, 2007: infiltrados intersticiales que comprometen ambos pulmones en forma difusa, pero principalmente los lóbulos inferiores

Correspondencia:

Ana Madeleine Barrera, Carrera 13 B N° 161-85, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfonos: (571) 742 8900, 742 8888, 313 291 8534
barmadeleine@gmail.com

Recibido: 13/07/15; aceptado: 13/05/16

Contribución de los autores:

Leslie Vargas: seguimiento clínico del paciente

Madeleine Barrera: recolección de los datos, digitalización de imágenes y resumen del caso

Ambas autoras hicieron la revisión de la literatura científica y el análisis.

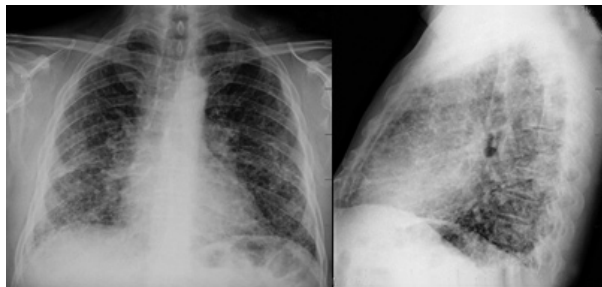


Figura 2. Radiografía de control, noviembre de 2010

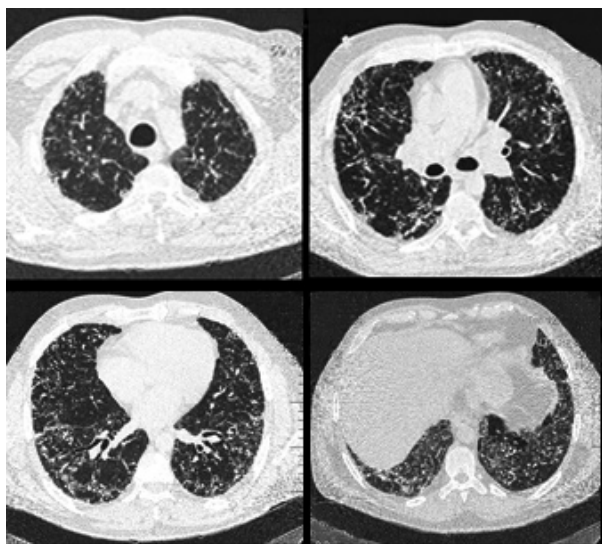


Figura 3. Tomografía de alta resolución de tórax, 2007: engrosamiento difuso del intersticio centrolobulillar y pleuro-septal, con múltiples micronódulos de predominio basal

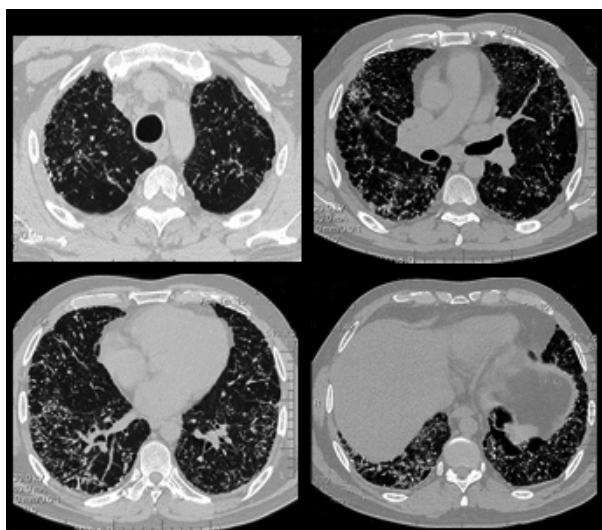


Figura 4. Tomografía de alta resolución de tórax de noviembre de 2010; se observa progresión de infiltrados en comparación con la tomografía previa.

espículas con medula ósea en la luz de los alvéolos. Con base en todos estos exámenes, se diagnosticó hemosiderosis y osificación pulmonar.

Las pruebas de la función pulmonar demostraron una alteración restrictiva que siguió avanzando en los años de seguimiento, así como disminución de la capacidad de difusión del monóxido de carbono (cuadro 1).

En el ecocardiograma transtorácico, se descartaron enfermedad valvular y falla cardiaca. En la gammagrafía ósea se observó captación del trazador en ambos campos pulmonares.

Los valores elevados de hierro sérico y ferritina (cuadro 2) llevaron a sospechar la presencia de hemocromatosis, probablemente genética, aunque no se documentaron niveles tan elevados de hierro como los que caracterizan la enfermedad ni tampoco se evidenció compromiso hepático o miocárdico. Se planteó la posibilidad de una hemocromatosis genética resultante en hemosiderosis pulmonar, cuya cronicidad y falta de tratamiento provocaron la aparición de la osificación pulmonar (figura 5).

A continuación se presenta una revisión de las enfermedades que confluyeron en este paciente.

Obtención de los datos

Se hizo una revisión sistemática de la literatura científica en PubMed, Medline, Lilacs y Google Académico, sin limitaciones de idioma, tipo de artículo o fecha de publicación, excepto para el caso de la hemosiderosis pulmonar, que se limitó a mayores de 19 años. Se utilizaron las siguientes palabras clave y términos MESH: *osteogenesis or ossification, lung and idiopathic pulmonary hemosiderosis*. Se encontraron 151 artículos, de los cuales solo el 24 % correspondía a osificación pulmonar idiopática, y que, en general, eran reportes de caso. Finalmente, se tuvieron en cuenta 26 artículos con información útil sobre la etiología, el diagnóstico y el tratamiento de las

Cuadro 1. Pruebas de función pulmonar

	2007	2011	2012
CVF	3,27 (81)	2,52 (64)	2,60 (64)
VEF ₁	2,66 (85)	2,11 (67)	1,98 (62)
VEF ₁ /CVF	81	84	76
D _{LCO}		16,3 (53)	13,5 (46)
D _{LCO} /VA		4,92 (99)	3,86 (78)

CVF: capacidad vital forzada; VEF₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; D_{LCO}: Diffusing Capacity for Carbon Monoxide; VA: volumen alveolar

Cuadro 2. Ferrocínética

	Diciembre de 2011	Febrero de 2012	Marzo de 2012	Julio de 2012	Octubre de 2012
Hierro sérico (µg/dl)	98	88	222		139
Ferritina (ng/ml)	649,70		661	305	438

Valores normales de ferritina: 30 a 400 ng/ml; valores normales de hierro: 59 a 158 µg/dl

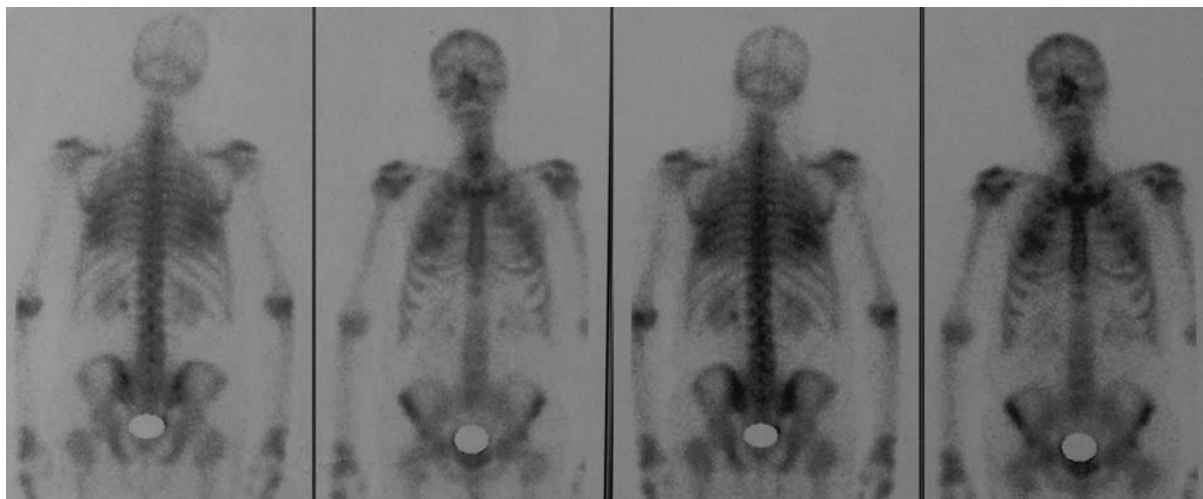


Figura 5. Gammagrafía ósea que muestra aumento difuso de la actividad en el parénquima de ambos pulmones

dos enfermedades. No se encontró ningún reporte de caso en el cual se presentaran ambas en un solo paciente.

Consideraciones éticas

La publicación del caso se hace con la autorización del paciente.

Revisión

La hemosiderosis pulmonar idiopática fue descrita por primera vez como “endurecimiento de pulmón marrón” por Rudolf Virchow en 1864, en la autopsia de algunos pacientes; posteriormente, Wilhelm Ceelen (1) correlacionó estos resultados con los síntomas clínicos de dos niños que murieron de hemosiderosis pulmonar idiopática en 1931, por lo que también se la conoce como síndrome de Ceelen (2). En cuanto a la osificación pulmonar, fue descrita por primera vez por Hubert von Luschka en 1856 (3).

La hemosiderosis pulmonar idiopática es una rara enfermedad que se presenta principalmente en niños; causa recurrentes episodios de hemorragia alveolar difusa que, eventualmente, pueden desembocar en fibrosis pulmonar (4). La hemosiderina es el pigmento de color amarillo dorado o pardo y aspecto granuloso o cristalino,

proveniente de la conversión del hierro de la hemoglobina por los macrófagos alveolares. Se denomina hemosiderosis a la acumulación de hemosiderina en los tejidos, observable mediante la tinción en fresco con azul de Prusia. Entre las causas de la condición se ha propuesto su origen inmunitario, ya que se han detectado complejos inmunitarios circulantes en suero en algunos pacientes, y se ha observado que en el 25 % de aquellos con diagnóstico de hemosiderosis pulmonar idiopática se presenta alguna enfermedad autoinmunitaria a los 10 años del diagnóstico inicial (1).

Otra teoría propone una probable relación con un componente alérgico en los casos asociados con la enfermedad celiaca y la mejoría de las alteraciones radiológicas al suprimir el gluten de la dieta (5), relación que se conoce con el nombre de síndrome de Lane-Hamilton. La hipótesis que postula un origen inflamatorio se basa en factores ambientales, como el hongo *Stachybotrys chartarum* (moho), los cuales favorecen la acumulación de neutrófilos en la membrana alvéolo-capilar y causan su disrupción. Por último, la teoría del origen metabólico plantea la presencia de un defecto de la enzima hemooxigenasa 1, encargada de catalizar la eliminación del hierro de la hemoglobina, la cual

puede ser inducida por factores de estrés celular y limitar la capacidad de los macrófagos alveolares de metabolizar la hemoglobina.

La enfermedad presenta diversas manifestaciones, que van desde un cuadro clínico caracterizado por el inicio agudo de hemoptisis y disnea, hasta uno de evolución insidiosa de disnea progresiva, fatiga y anemia. Casi todos los pacientes adultos desarrollan hemoptisis de diversa gravedad (6). En cerca del 20 % de los pacientes hay hepatomegalia o esplenomegalia (7).

Tras un episodio agudo con hemorragia pulmonar, las radiografías de tórax muestran opacidades alveolares que pueden remitir durante la fase asintomática. En la tomografía de alta resolución de tórax, se pueden observar opacidades mal definidas, unilaterales o bilaterales, con un patrón de ocupación alveolar de predominio basal en los campos pulmonares. Las opacidades varían en intensidad según la magnitud de la hemorragia alveolar y el tiempo transcurrido desde el último episodio de sangrado. Los pacientes cuya enfermedad ha sido de larga evolución ocasionalmente pueden desarrollar múltiples quistes focales, de predominio posterior y en los segmentos basales laterales (8).

La sospecha clínica de hemorragia requiere la confirmación mediante lavado broncoalveolar (9,10), el cual se hace generalmente en segmentos del pulmón donde la tomografía haya evidenciado opacidad del tipo de vidrio esmerilado, o en el lóbulo medio si la enfermedad es difusa. En adultos se requiere la biopsia pulmonar para confirmar el diagnóstico de hemosiderosis pulmonar idiopática (11).

El tratamiento se enfoca en las causas detectadas. La administración de corticoides debe iniciarse con una dosis de 1 a 2 mg/kg diarios por vía intravenosa en los casos graves, la cual deberá disminuirse a la dosis de mantenimiento de 0,5 a 0,75 mg/kg diarios durante 18 a 24 meses (12,13).

El tratamiento inmunosupresor puede emplearse conjuntamente con glucocorticoides orales en los pacientes con enfermedad grave o con episodios recurrentes de hemorragia alveolar. Se han utilizado con éxito la azatioprina, la hidroxiquina, la ciclofosfamida y la 6-mercaptopurina en combinación con glucocorticoides orales; sin embargo, la información que sustenta la eficacia de este enfoque es limitada (14,15).

En cuanto a la osificación pulmonar, esta se define como la presencia histológica de hueso maduro, con contenido de médula ósea o sin él, en el intersticio o en los espacios alveolares (3), y se asocia con antecedentes de enfermedad pulmonar, cardíaca o en otros órganos, confirmada por histopatología. Generalmente, su diagnóstico es incidental (16). La relación de hombre a mujer en mayores de 80 años es de 7 a 1 y, en menores de 80 años, de 1 a 1 (3).

Según el patrón histopatológico, se han descrito dos formas de presentación: granular y dendriforme (17). La forma granular, también conocida como nodular circunscrita, es la más común y se caracteriza por depósitos laminares de material óseo calcificado dentro de los espacios alveolares, frecuentemente sin elementos medulares. La forma dendriforme, o ramificada, se relaciona con la bifurcación intersticial de espículas óseas que contienen elementos medulares con actividad osteoblástica y osteoclástica y que pueden protruir dentro de los alvéolos.

En diversos artículos se menciona que, en los casos asociados con congestión venosa pulmonar crónica, la hemorragia alveolar es un factor predisponente para la aparición de fibrosis y osificación (18).

El diagnóstico es incidental en casos aislados estudiados *post mortem* (19), o se hace con base en los hallazgos de estudios histopatológicos posteriores a cirugías (17). Su curso clínico generalmente es asintomático, o con síntomas relacionados con la causa de base (20). No es común que la osificación pulmonar se aprecie en las radiografías de tórax y, cuando está presente, se manifiesta como infiltrado reticulonodular en los lóbulos inferiores, generalmente bilateral. En la mayoría de los casos es difícil determinar si las imágenes lineales corresponden a áreas calcificadas o a fibrosis pulmonar, pues las líneas son muy finas. En la tomografía de alta resolución de tórax, en la variedad dendriforme, pueden verse líneas de 1 a 4 mm en un patrón arboriforme de distribución broncovascular, que denotan el compromiso intersticial, y en la variedad nodular, múltiples áreas de micronódulos subpleurales. La gammagrafía ósea con marcador radiactivo (metileno-difosfonato nuclear con tecnecio 99) permite el diagnóstico cuando se observa un aumento de la captación del trazador en ambos campos pulmonares (21).

Tanto en la hemosiderosis como en la osificación pulmonar, las pruebas de función pulmonar muestran anomalías restrictivas e hipoxemia (22). Durante

los episodios de sangrado agudo en la hemosiderosis pulmonar, la hemoglobina de los eritrocitos vertida en los alvéolos absorbe ávidamente el monóxido de carbono, lo cual permite su difusión en concentraciones inusualmente altas. Cuando se degradan los eritrocitos alveolares y la hemoglobina que contienen, la difusión del monóxido de carbono disminuye a los niveles previos a la hemorragia y sigue reduciéndose progresivamente cuando se ha desarrollado la fibrosis del parénquima pulmonar.

Conclusiones

Se presenta un paciente con diagnóstico de hemosiderosis y osificación pulmonar, confirmado mediante estudio de histopatología, que presentaba un trastorno de base que comprometía el metabolismo del hierro. El paciente había tenido un deterioro funcional respiratorio progresivo, sin que se hubiera tenido sospecha clínica de su condición, a pesar de la cronicidad de los síntomas respiratorios.

Conflicto de intereses

Las autoras declaramos que no tenemos ningún interés comercial o asociativo que implique un conflicto de intereses con el trabajo presentado.

Financiación

Para el presente trabajo no se requirió financiación.

Referencias

- Caballero AM, Guzmán AC, Escobar RA.** Enfoque inicial del paciente con hemorragia alveolar difusa sin vasculitis pulmonar. *Rev Colomb Neumol.* 2012;23:118-23.
- Ceelen W.** Die Krieslaufstorungen der Lungen. In: *Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie Und Histologie.* Berlin: Springer; 1931.
- Fernández-Crisosto C, Quercia-Árias O, Bustamante N, Moreno H, Uribe-Echevarría A.** Osificación pulmonar difusa asociada a fibrosis pulmonar idiopática. *Arch Bronconeumol.* 2004;40:595-8. <http://dx.doi.org/10.1157/13068803>
- Ioachimescu OC, Sieber S, Kotch A.** Idiopathic pulmonary hemosiderosis revisited. *Eur Respir J.* 2004;24(1):162-70.
- Wellington Alves dos SJ, Abdias Baptista de MN, Cardoso MR, Trindade MG, Leal FA, Gonçalves Marques TL, et al.** Pulmonary hemosiderosis associated with celiac disease: Improvement after a gluten-free diet. *J Bras Pneumol.* 2012;38: 412-4. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-37132012000300020>
- Milman N, Pedersen FM.** Idiopathic pulmonary haemosiderosis. Epidemiology, pathogenic aspects and diagnosis. *Respir Med.* 1998;92:902-7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0954-6111\(98\)90188-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0954-6111(98)90188-3)
- Torres R, Asenjo M, Caberlotto O, Scarinci M, Lancellotti D, Tabaj G, et al.** Hemosiderosis pulmonar idiopática en adultos. Presentación de tres casos y revisión de la bibliografía. *Revista Americana de Medicina Respiratoria* 2010;10:112-20.
- Marchioril E, Souza A, Franquet T, Muller N.** Diffuse high-attenuation pulmonary abnormalities: A pattern-oriented diag-nostic approach on high-resolution CT. *Am J Roentgenol.* 2005;184:273-82. <http://dx.doi.org/10.2214/ajr.184.1.01840273>
- Kocakoc E, Kiris A, Sen Y, Bozgeyik Z.** Pediatric idiopathic pulmonary hemosiderosis diagnosed by sputum analysis: Plain radiography and computed tomography findings. *Med Princ Pract.* 2003;12:129-32. <http://dx.doi.org/10.1159/000069112>
- Priftis KN, Anthracopoulos MB, Tsakanika C, Tapaki G, Ladis V, Bush A, et al.** Quantification of siderophages in bronchoalveolar fluid in transfusional and primary pulmonary hemosiderosis. *Pediatr Pulmonol.* 2006;41:972-7. <http://dx.doi.org/10.1002/ppul.20479>
- Willms H, Gutjahr K, Juergens UR, Hammerschmidt S, Gessner C, Hoheisel G, et al.** Die idiopathische pulmonale hämosiderose. *Med Klin (Munich).* 2007;102:445-50. <http://dx.doi.org/10.1007/s00063-007-1057-9>
- Abdallah FCB, Amel C, Ridha M, Olfa S, Sophia T, Faouzi M, et al.** Idiopathic pulmonary hemosiderosis in adult. *Respir Med.* 2010;3:238-40. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmedc.2009.10.004>
- Chen CH, Yang HB, Chiang SR, Wang PC.** Idiopathic pulmonary hemosiderosis: Favorable response to corticosteroids. *J Chin Med Assoc.* 2008;71:421-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S1726-4901\(08\)70094-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1726-4901(08)70094-7)
- Airaghi L, Ciceri L, Giannini S, Ferrero S, Meroni PL, Tedeschi A.** Idiopathic pulmonary hemosiderosis in an adult. Favourable response to azathioprine. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2001;56:211-3.
- Flanagan F, Glackin L, Slattery DM.** Successful treatment of idiopathic pulmonary capillaritis with intravenous cyclophosphamide. *Pediatr Pulmonol.* 2013;48:303-5. <http://dx.doi.org/10.1002/ppul.22583>
- Duarte IG, Gal AA, Mansour KA, Lee RB, Miller JI.** Pathologic findings in lung volume reduction surgery. *Chest.* 1998;113:660-4. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.113.3.660>
- Heredia F, Pérez JM, Varón H, González M, Torres C, Ojeda P.** Idiopathic pulmonary ossification. *Revista Colombiana de Neumología.* 2003;15:64-8.
- Chan ED, Morales DV, Welsh CH, McDermott MT, Schwarz MI.** Calcium deposition with or without bone formation in the lung. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:1654-69. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.2108054>
- Luschka H.** Verastigeknochenbildungim parenchyma der lung. *Virchows Arch.* 1856;10:500-5.
- Jaderborg JM, Dunton RF.** Rare clinical diagnosis of dendriform pulmonary ossification. *Ann Thorac Surg.* 2001;71:2009-11. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-4975\(00\)02264-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-4975(00)02264-5)
- Saks DA, McClees EC, Fajman WA, Hollinger WM, Gilman MJ.** Diffuse pulmonary ossification detected by bone scanning with Tc-99m hydroxymethylene diphosphate. *Clin Nucl Med.* 1984;9:594-5.
- Allue X, Wise MB, Beaudry PH.** Pulmonary function studies in idiopathic pulmonary hemosiderosis in children. *Am Rev Respir Dis.* 1973;107:410-5.

ARTÍCULO ORIGINAL

Medición de la ingestión de sodio en la dieta de un grupo de niños entre uno y 18 meses de edad en una consulta pediátrica en Cali, Colombia

Adela Isabel Herrera¹, Kelly Bolaños², Javier Torres³, Beatriz Gracia⁴

¹ Grupo Cuidado en Salud, Programa de Enfermería, Universidad Libre, Cali, Colombia; Centro de Estudios en Infectología Pediátrica, Sección de Nutrición, Universidad del Valle, Cali, Colombia

² Médico pediatra, Cali, Colombia

³ Departamento de Pediatría, Universidad del Valle, Cali, Colombia

⁴ Grupo de Nutrición, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Introducción. Las estrías de grasa en la pared arterial pueden aparecer desde el tercer año de vida y se relacionan con factores de riesgo aterogénico, como la hipertensión arterial sistémica y el contenido de sodio en la dieta. En pocos estudios se reporta el consumo de sodio en la dieta debido a la dificultad para la recolección de los datos.

Objetivo. Determinar el consumo promedio de sodio en la dieta de niños de uno a 18 meses de edad, mediante una encuesta sobre la dieta a lo largo de tres días.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio de corte transversal con 48 niños sin enfermedad renal ni restricciones en la dieta, atendidos en consulta pediátrica entre enero y junio del 2011, el cual incluyó una encuesta sobre la dieta a los padres y la clasificación del estado nutricional por antropometría y medición de la presión arterial. Se analizaron el contenido de sodio y demás nutrientes de la dieta con el Programa Internacional de Consumo de Alimentos (CERES), las medidas antropométricas con el programa Anthro de la Organización Mundial de la Salud y las características sociodemográficas con el programa de Epi-info.

Resultados. El 69 % de los niños tenía un consumo alto de sodio, el 6,2 % presentaba presión arterial elevada, y el 20,7 %, sobrepeso y obesidad.

Conclusiones. La prevalencia de hipertensión arterial sistémica superó la informada para Colombia (1 a 3 %). Dos de los tres niños con presión arterial elevada tenían una dieta rica en sodio, así como sobrepeso y obesidad con valores superiores a lo informado para Colombia (16 %). Se sugiere medir la presión arterial tempranamente, recomendar la restricción de sal y azúcar en la alimentación de los menores de dos años, desarrollar estudios más grandes para obtener datos poblacionales sobre la ingestión de sodio, y diseñar estrategias de intervención, adecuadas y oportunas, para disminuir los riesgos en la edad adulta.

Palabras clave: dieta; alimentación; lactante; sodio; cloruro de sodio; presión arterial.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3187>

Measurement of dietary sodium intake in a group of children from one to 18 months of age in a pediatric service in Cali, Colombia

Introduction: The fatty streaks in an arterial wall can appear from the third year of age, and they show an association with atherogenic risk factors such as hypertension and sodium in the diet. Given the difficulty of data gathering, few studies report the intake of sodium in the diet.

Objective: To determine average sodium intake in the diet of children between one and 18 months of age through a three-day dietary survey.

Materials and methods: This was a cross-sectional study with 48 children without renal disease or diet restrictions seen in pediatric practice between January and June, 2011. It included a dietary survey for the parents, nutritional status classification by anthropometry, and blood pressure measurements. Sodium content and other nutrients in the diet program were analyzed with the International Food Consumption Program (CERES), anthropometry with the World Health Organization Anthro program, and Epi-info for socio-demographic characteristics.

Contribución de los autores:

Adela Isabel Herrera: elaboración del protocolo

Beatriz Gracia: revisión crítica del protocolo

Adela Isabel Herrera y Kelly Bolaños: metodología, recolección y análisis de los datos

Javier Torres: recolección de la información

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

Results: In total, 69% of children had high sodium consumption, 6.2% had high blood pressure, and 20.7% were overweight and obese.

Conclusions: The prevalence of hypertension exceeds that reported for Colombia (1-3%). Two of the three children with high blood pressure had high sodium intake and they were overweight and obese, with values above those reported for Colombian children (16%). We suggest to measure blood pressure early, and to restrict salt and sugar in food for infants and children under two years of age. Also, larger studies should be conducted to collect population data on sodium intake and develop appropriate and timely intervention strategies to reduce risks in adulthood.

Key words: Diet; feeding; infant; sodium; sodium chloride; arterial pressure.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3187>

La hipertensión arterial sistémica es la principal causa de enfermedades cardiovasculares, 62 % de las cuales corresponden a accidentes cerebrovasculares, y 49 %, a enfermedad de las arterias coronarias (1,2). En un análisis sistemático de los datos de salud de la población, se constató que esta es la principal causa de muerte en el mundo (3).

En niños se ha demostrado que la hipertensión arterial elevada mantiene esa misma tendencia en la tercera y cuarta décadas de la vida (4,5). En diversos estudios se ha evidenciado la relación directa entre factores modificables, como la ingestión elevada de sodio, el sobrepeso y la obesidad, que favorecen la elevación de la presión arterial, y se han encontrado cifras hasta tres veces más elevadas en niños obesos, independientemente de su raza o sexo (6).

La transición en la alimentación es fundamental para establecer hábitos alimenticios saludables; la exposición temprana a alimentos con alto contenido de azúcar y sal se relaciona con su mayor consumo y aumenta el riesgo de enfermedades crónicas en la edad adulta, por lo cual las estrategias de intervención temprana contribuyen a reducir su incidencia (6-14).

Se recomienda que la medición de la ingestión de sodio esté en manos de un experto en nutrición y que el seguimiento se haga mediante la medición del sodio en la orina y en la dieta, aunque no existe consenso sobre cómo cuantificar con precisión su ingestión (15).

En varios estudios se mencionan las dificultades para establecer el método de determinación de la ingestión de sodio (recordación de la ingestión de alimentos o técnicas de laboratorio), debido

a las variaciones individuales y las fluctuaciones diarias. Del mismo modo, resulta difícil conocer la cantidad de sal agregada a las preparaciones, ya que la metodología para su cuantificación no ha sido estandarizada ni validada (15).

A pesar de ser una recomendación prioritaria en muchas de las guías para el manejo de la hipertensión arterial sistémica y de las guías alimentarias de la mayoría de los países, en estas no se menciona la metodología para determinar el consumo de sal en la alimentación (16), lo cual es importante para valorar si las medidas para reducirlo han sido efectivas.

En Colombia no se han hecho estudios sobre el consumo de sodio en niños menores de dos años, y en otros países son escasas las investigaciones sobre la ingestión de sodio en la dieta de niños pequeños y hay poca claridad con respecto a los métodos de medición. Entre ellos, se mencionan la medición del sodio en la orina en 24 horas, así como la recolección espontánea en la mañana o en la noche, y mediciones adicionales como la de creatinina y la de sodio en una muestra aislada de orina (17,18).

En este contexto, en el presente estudio se tuvo como objetivo determinar el consumo promedio de sodio en la dieta de niños menores de 18 meses de edad mediante el registro por recordación de la ingestión a lo largo de tres días, la medición de la presión arterial y la valoración de su estado nutricional.

Se espera que los resultados contribuyan a establecer la cantidad de sodio ingerido en este grupo de edad y las estrategias de intervención que favorezcan el control del consumo de sodio en la dieta, con la consiguiente disminución de los riesgos de hipertensión arterial sistémica.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal en niños de ambos sexos y de uno a 18 meses

Correspondencia:

Adela Isabel Herrera, Carrera 144 N° 5C-190, Solares de Pance, casa 4, Cali, Colombia

Teléfono: (315) 492 8228

adelaisa@yahoo.es

Recibido: 14/12/15; aceptado: 14/04/16

de edad, seleccionados por conveniencia entre quienes asistieron de manera espontánea a la consulta pediátrica en un consultorio en Cali, Colombia, entre enero y junio de 2011, siempre que cumplieran con los criterios de inclusión y aceptaran las condiciones para participar en la investigación. Se informó a los padres y se les explicaron la metodología y la finalidad del estudio, luego de lo cual firmaron el consentimiento informado.

Se utilizó un formato para recopilar los datos sociodemográficos y la dieta por recordación de 24 horas durante tres días (incluido un día de fin de semana) mediante preguntas a las madres o a las personas responsables, lo cual estuvo a cargo de un profesional adiestrado en la utilización de encuestas sobre la dieta. Antes de iniciar el trabajo de campo, se estandarizó la información sobre el tamaño de las porciones y se la presentó mediante módulos gráficos en los cuales se ilustraban detalladamente los tipos de alimentos consumidos a lo largo del día, las preparaciones, la forma de cocción, y el uso de sal, aceite y otros productos.

También, se registró la alimentación por lactancia materna exclusiva o parcial, su frecuencia y su duración. Se utilizó una fórmula validada para el cálculo de la producción de leche materna por minuto y se multiplicó por el total del consumo por día, con el fin de determinar el contenido de calorías y nutrientes, incluido el sodio, teniendo en cuenta si la leche era madura, de transición o calostro (16,19-21). Asimismo, se registró el uso de leche de fórmula, consignando su contenido de nutrientes, su nombre, la frecuencia del consumo, la cantidad ingerida por el bebé y la forma de preparación.

De igual manera, se registró la alimentación complementaria con el nombre del alimento y la forma de preparación, la frecuencia de administración durante el día, la cantidad administrada y la consumida por el niño. Esta información se registró según las pautas del Programa Internacional de Consumo de Alimentos, CERES, especificando el tamaño de las porciones. Con este programa se analizaron los macronutrientes y micronutrientes utilizando para su procesamiento las tablas de composición de alimentos de la población colombiana, establecidas por el Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.

En cuanto al consumo de sodio y otros nutrientes, se consideró que su ingestión era adecuada cuando la relación entre lo consumido y lo recomendado estaba entre 90 y 110 %, que había déficit cuando era menor de 90 % y, exceso, cuando estaba por encima de 110 %.

El método, ya validado en otras investigaciones en niños (21,22), incluyó los siguientes aspectos:

- 1) los datos sociodemográficos de los niños;
- 2) los datos clínicos y antropométricos: peso, talla, edad, presión arterial tomada en brazo derecho y examen físico a cargo de uno de los pediatras autores del estudio, y
- 3) los datos de la ingestión de sodio en la dieta en tres días diferentes de la semana, incluido uno de fin de semana.

Criterios de inclusión

Los siguientes fueron los criterios de inclusión: niños sin ninguna enfermedad renal u otra aparente, y sin restricciones en su dieta; niños que se encontraran en el rango de edades contempladas en el estudio, y niños cuyos padres firmaran el consentimiento informado.

El análisis del contenido de macronutrientes y micronutrientes en la leche materna, las fórmulas lácteas y la dieta se hizo con el programa CERES según lo registrado en la anamnesis alimentaria. Los resultados se presentaron como el promedio de los tres días y se expresaron como porcentajes de las recomendaciones de la dieta diaria (*Recommended Dietary Allowances*), establecidas según edad y sexo, por la *Food and Nutrition Board* de Estados Unidos (22).

Una nutricionista dietista experta en el tema se encargó de preguntar sobre la frecuencia de la lactancia materna y la duración aproximada de cada toma a lo largo de 24 horas. Posteriormente, mediante la fórmula establecida para ello, se determinó la cantidad de leche ingerida en el tiempo de lactancia y la cantidad de sodio por mililitro ingerido (22).

Para comparar el consumo de sodio en la dieta establecido en las recomendaciones de dieta diaria, se utilizó el conjunto de valores de referencia que constituyen las ingestiones dietarias de referencia (*Dietary Reference Intakes*) (22), las cuales son una actualización de las RDA conocidas mundialmente.

Para valorar el estado nutricional se usaron las medidas antropométricas mediante el programa Anthro de la OMS y se clasificó a cada niño de acuerdo con las guías de la misma OMS y la Resolución 2121 del Ministerio de Protección Social de Colombia (23,24).

Para medir la presión arterial sistémica, se utilizó un esfigmomanómetro de mercurio estándar, previamente calibrado. Se tomó la presión arterial

estando el niño sentado, con el brazalete cubriendo dos tercios de la extensión del brazo derecho, en un ambiente tranquilo, con temperatura agradable y después de reposar al menos cinco minutos.

El mango debía rodear completamente la circunferencia del brazo y cubrir 75 % de su longitud (distancia entre el acromion y el olécranon); se dejó espacio suficiente en la fosa antecubital para colocar la campana del fonendoscopio. La presión arterial sistólica se registró cuando aparecía el primer ruido arterial (fase I de Korotkoff) y, la diastólica, cuando desaparecía completamente el ruido (fase V de Korotkoff). Se hizo una segunda medición con otro esfigmomanómetro previamente calibrado en cero y se sacó una media de las dos lecturas.

Se determinó la categoría de la presión arterial con base en el cuarto y el último reporte en el diagnóstico, la evaluación y el tratamiento de la hipertensión arterial sistémica en niños y adolescentes (25-27), y se consideró que la presión era normal si la presión arterial sistólica o la diastólica estaban por debajo del percentil 90; se consideró que los niños presentaban prehipertensión cuando su presión arterial sistólica o la diastólica se situaban entre los percentiles 90 y 95, y que tenían hipertensión cuando una de estas estaba por encima del percentil 95.

Análisis estadístico

Se elaboraron tres bases de datos. Para la antropometría, se usó el programa Anthro de la OMS para niños menores de dos años. Para el procesamiento y análisis de los componentes de la dieta, se utilizó el programa CERES con las tablas de composición química de los alimentos colombianos y la información se procesó en el paquete estadístico Epi-Info 3.5.3, 2011. Se generaron las tablas de frecuencias y de 2 x 2 y se hicieron los análisis descriptivos univariado y bivariado. En el análisis estadístico se usaron medidas de tendencia central de mediana y promedio, y medidas de dispersión. Se recurrió a pruebas de ji al cuadrado para comprobar las diferencias en algunos resultados.

Consideraciones éticas

La información obtenida se mantuvo en absoluta confidencialidad. El estudio contó con la aprobación del Comité de Ética Humana de la Universidad del Valle, y los participantes firmaron el consentimiento informado. Este estudio cumplió con los estándares éticos internacionales establecidos en la Declaración de Helsinki.

Resultados

Características sociodemográficas

Del total de niños, 24 (50 %) estaban entre los seis y los 12 meses de edad, y con un ligero margen de diferencia, la mayoría eran de sexo masculino. Casi todos pertenecían a los estratos socioeconómicos 3 y 5, y procedían de Cali (cuadro 1); 58 % de las madres tenían educación profesional y 87,9 % de los niños había nacido a término.

Estado nutricional

Según los indicadores antropométricos establecidos en las tablas de la OMS, 96 % de los niños se ubicó en un promedio de +1 desviación estándar con respecto a la población de referencia en todos los indicadores calculados para la edad, como peso, longitud, índice de masa corporal (IMC) y perímetro cefálico.

En el cuadro 2 se presentan los resultados de la relación entre peso y talla: 34 (70 %) niños tenían un peso adecuado para la longitud, siete (14,5 %) tenían sobrepeso y tres (6,2 %) eran obesos. Los 10 niños que registraron +1 desviación estándar, se clasificaron según el índice de masa corporal establecido en la Resolución 2121, y se encontró que ocho (16,6 %) tenían sobrepeso y dos (4 %), obesidad.

Cuadro 1. Características sociodemográficas de la población estudiada

Variables	Resultado	Valor (%)
Edad (meses)	0 a <6	16 (33,0)
	6 a <12	24 (50,0)
	12 a 18	8 (17,0)
Total		48 (100,0)
Sexo	Masculino	25 (52,1)
	Femenino	23 (47,9)
Total		48 (100,0)
Estrato socioeconómico	Nivel 1 y 2	6 (12,6)
	Nivel 3	14 (29,1)
	Nivel 4	13 (27,0)
	Nivel 5	15 (31,3)
Total		48 (100,0)
Procedencia	Cali	41 (85,4)
	Otras poblaciones del Valle del Cauca	7 (14,5)
	Profesional	28 (58,0)
Nivel de escolaridad de la madre	Técnico	1 (2,0)
	Básica completa	8 (16,6)
	Básica incompleta	3 (6,2)
	Sin datos	8 (16,6)
	Total	48 (100,0)
Semanas de gestación	A término	42 (87,9)
	34 y 36 semanas	6 (13,0)
Total		48 (100,0)

En cuanto a la relación entre peso y edad, 26 niños (54 %) tenían el peso adecuado para la edad, seis (12,5 %) presentaban riesgo de bajo peso y dos (4 %) tenían un peso muy bajo para su edad; 14 (29%) presentaron una puntuación z, o puntuación estándar, mayor de uno, por lo cual no se clasificaron según el peso para la edad sino con base en el índice de masa corporal para la edad.

Con respecto a la relación de la talla y la edad, se observó que 42 (87,5 %) niños presentaron una talla adecuada para la edad y tres (6,2 %) tenían talla baja y riesgo de talla baja.

En lo que respecta al perímetro cefálico, en 89,5 % de los niños estaba en valores normales según el puntaje z para la población de referencia, cuatro (8,3 %) presentaron una puntuación z menor de 2 y, uno (2 %), uno menor o igual a 2, es decir, se ubicó en el grupo de riesgo de trastornos del neurodesarrollo (28).

En cuanto a la presión arterial sistémica, 47 niños (93,7 %) presentaron valores entre el percentil 50 y 75 para la talla o la edad, y tres (6,2 %) registraron lecturas por encima del percentil 90 para su edad o talla, lo cual se considera elevado.

Alimentación

Según la recordación de lo consumido en los tres días, 31 (64,5 %) niños recibían alimentación complementaria, nueve (18,7 %), lactancia materna exclusiva, cuatro (8,3 %), leche de fórmula infantil, y cuatro (8,3 %), lactancia materna y leche de fórmula infantil.

En la población de menores de 6 meses (17 en total), nueve (52,9 %) se alimentaban exclusivamente con lactancia materna, cuatro (23,5 %), con lactancia materna más leche de fórmula infantil, y cuatro (23,5 %), solo con fórmula infantil.

El consumo de energía promedio por día fue de 868 calorías, con un porcentaje de adecuación de 106 % (ingestión real / recomendación x 100): en 19 (40 %) de los niños el consumo calórico era excesivo, en 16 (33,3 %), el consumo era normal según las recomendaciones de Instituto Colombiano de Bienestar Familiar (29), y en 13 (27 %) el consumo estaba por debajo de lo recomendado.

En cuanto al consumo de proteínas, se encontró que en 18 (38 %) de los niños este era bajo, en 17 (35 %) era adecuado y en 13 (27 %) era excesivo; en 28 (58 %) el consumo de grasas era excesivo y en seis (13 %) había déficit (cuadro 3). En 28 (58 %)

Cuadro 2. Proporción de niños distribuidos por estado nutricional según los indicadores establecidos por la Organización Mundial de la Salud en menores de dos años

Variables	Porcentaje	Número
Talla/edad		
Talla baja	6,0	3
Riesgo de talla baja	6,0	3
Talla adecuada	87,0	42
Total	100,0	48
Peso/edad		
Peso adecuado	52,0	26
Riesgo de peso bajo	13,0	6
Peso muy bajo	4,0	2
Sin catalogar	29,0	14
Peso/talla		
Sobrepeso	16,0	7
Obesidad	4,1	3
Peso normal	70,8	34
Riesgo de peso bajo	6,2	3
Peso bajo	2,0	1
Índice de masa corporal		
Sobrepeso	16,6	8
Obesidad	4,1	2
Perímetro cefálico		
≤2 riesgo en el neurodesarrollo	2,0	1
Normal	89,5	43
>2 riesgo en el neurodesarrollo	8,3	4

niños se presentaba déficit en la ingestión de hierro (cuadro 3), aunque todos los menores de seis meses estaban recibiendo hierro suplementario a partir del cuarto mes, según lo establecen las guías del Ministerio de Salud y Protección Social (30). Debe aclararse que en los niños menores de seis meses con déficit en el consumo de hierro no se contabilizó el suplemento, pues se medía exclusivamente el contenido de la dieta, y se sabe que por sí sola esta no es suficiente para cubrir lo que se requiere para la edad.

Ingestión de sodio

La ingestión promedio de sodio de los niños por grupos de edad fue la siguiente: niños entre 0 y 6 meses, 135 mg/día, niños de 6 a 12 meses, 536 mg/día, y de 12 a 18 meses, 836 mg/día. El porcentaje de adecuación se estableció teniendo en cuenta la cantidad recomendada para cada grupo de edad, según las últimas tablas de recomendaciones internacionales (22).

Se encontró un consumo excesivo de sodio en 33 (68,7 %) de los niños estudiados y en cuatro (8,3 %) el consumo estaba dentro de los intervalos normales. En cuanto a la relación entre el consumo de sodio del niño y el nivel de educación materna, se encontró que los hijos de 20 (71,4 %) madres con grado profesional tenían un consumo excesivo de

sodio. Con respecto a la relación entre peso para la edad y consumo de sodio en la dieta, se encontró que del 68,7 % de los niños que consumían sodio en exceso, 21 % (10) tenía sobrepeso y, 9 % (4), obesidad.

Según el tipo de alimentación, se encontró que el grupo con mayor ingestión de sodio correspondía al de alimentación complementaria (31 niños), en el cual 25 (52 %) niños consumían sodio en exceso (cuadro 4).

De los tres niños con elevación de la presión arterial, dos (66,6 %) registraban aumento en la ingestión de sodio. En la mayoría de los niños con presión arterial en intervalos normales, el consumo de sodio era adecuado para su edad (cuadro 5). Uno de los niños (25 %) que presentaron hipertensión tenía sobrepeso, y entre los casos con presión arterial normal, el 22 % tenía sobrepeso y el 9 %, obesidad.

Discusión

Estado nutricional

Los indicadores antropométricos utilizados en el estudio para evaluar el estado nutricional de los niños mostraron resultados similares a lo esperado, de acuerdo con los puntos de corte determinados para esta población y con el promedio nacional. Solo un niño (2 %) se clasificó con bajo peso para su talla (menos de dos desviaciones estándar), lo cual sería mayor que lo reportado para el país (0,5 %); sin embargo, hay que tener en cuenta el tamaño de la muestra de este estudio.

Por otro lado, 10 (20 %) de los niños estudiados presentaron algún grado de sobrepeso y obesidad con un índice de masa corporal elevado; a pesar del reducido tamaño de la muestra en este estudio, y teniendo en cuenta que el último reporte de la Encuesta Nacional de Situación Nutricional en Colombia (ENSIN, 2010) (30) establecía que uno de cada seis niños presentaba algún grado de sobrepeso y obesidad, el porcentaje encontrado en niños tan pequeños es considerable y preocupante. Por ello, es necesario iniciar intervenciones tempranas para evitar que aumente la prevalencia de esta enfermedad, la cual se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial y es cada vez mayor en Colombia.

La talla era adecuada para la edad en 42 (87,5 %) niños, y solo tres (6,2 %) presentaron talla baja. Según el informe a nivel nacional (ENSIN, 2010), el porcentaje de retraso en el crecimiento es de 13,2 % en menores de cinco años. En este sentido, las cifras del presente estudio son muy bajas comparadas con el promedio nacional, lo cual es de esperar en este grupo de edad (menores de dos años), en el cual aún no son evidentes situaciones que pueden alterar la velocidad del crecimiento o en las cuales la talla sufre ajustes.

Alimentación

A pesar de que la ingestión promedio de energía por día tuvo un porcentaje de adecuación de 106 % (promedio diario de 868 kcal) con respecto a lo recomendado, es necesario tener presente que los promedios se ven afectados por los extremos y por

Cuadro 3. Ingestión dietaria de macronutrientes y micronutrientes

	Porcentaje de adecuación	Kcal Número de niños	%	Grasa Número de niños	%	Proteínas Número de niños	%	Hierro Número de niños	%
Déficit	<90	13	27	6	13	18	38	28	58
Normal	90-100	16	33	14	29	17	35	13	27
Exceso	>110	19	39,5	28	58	13	27	7	15
Total		48	100	48	100	48	100	48	100

Kcal: kilocalorías

Cuadro 4. Consumo de sodio en niños menores de 18 meses de acuerdo con el tipo de alimentación

Sodio	AC		FI		LM + FI		LME		Total general	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Déficit	4	8,3	1	2,0	2	4,1	3	6,2	11	22,9
Exceso	25	52,0	1	2,0	2	4,1	6	12,5	33	68,7
Normal	2	4,1	2	4,1	0	0,0	0	0,0	4	8,3
Total general	31	64,5	4	8,3	4	8,3	9	18,7	48	100

AC: alimentación complementaria; FI: leche de fórmula infantil; LM+FI: lactancia materna + leche de fórmula infantil; LME: lactancia materna exclusiva

Cuadro 5. Consumo de sodio en la dieta de los niños menores de 18 meses según valores de la presión arterial

Porcentaje de sodio	Presión arterial				Total general	
	Normal		Anormal			
	n	%	n	%		
Déficit	11	22,9	0	0,0	11	22,9
Normal	3	6,2	1	2,0	4	8,3
Exceso	31	64,5	2	4,1	33	68,7
Total general	45	93,7	3	6,2	48	100

ello no son un buen indicador de la situación. Para contrarrestar esto, en este estudio se determinaron puntos de corte de acuerdo con las desviaciones estándar de la distribución y se observó que en 19 (40 %) niños ya se daba una ingestión calórica considerada alta (porcentaje por encima de 110 % de la adecuada o mayor de una desviación estándar), lo cual podría explicar el número de niños con sobrepeso y obesidad (21 %). Esta situación evidencia la necesidad de revisar y vigilar el proceso de implantación de la alimentación complementaria. En cuanto a las proteínas, se encontró que 18 (38 %) de los niños tenían un porcentaje de adecuación menor de 90 % (-1 desviación estándar), lo cual se podría considerar un poco bajo; sin embargo, si se tiene en cuenta un valor de 10 % de la desviación estándar para este nutriente, esta cifra sería la esperada en una distribución normal.

En un porcentaje importante de niños (58 %) se encontró un consumo alto de grasas si se tiene en cuenta que cuando no se ha iniciado la alimentación complementaria el consumo de grasa es mayor que en las demás etapas de la vida debido a su alto porcentaje en la leche materna o en la de fórmula, lo que cambia un poco la distribución calórica de la dieta o la proporcionalidad de los macronutrientes.

Aunque la medición del consumo de hierro y otros nutrientes no hacía parte directa de los objetivos del estudio, se decidió medirlos como uno de los elementos de la evaluación nutricional (cifras que serán objeto de otro estudio) y, también, porque la ingestión de hierro frecuentemente es deficiente, situación que se evidencia en todo el país (30), ya que uno de cada cuatro niños de 6 a 59 meses presenta anemia principalmente por deficiencia de hierro. En este estudio se encontró un déficit en la ingestión de este micronutriente en más de la mitad de la población (58,2 %), lo cual probablemente se

debe a un inadecuado proceso de destete y podría ocasionar anemia por deficiencia de hierro en niños pequeños (30).

Según la ENSIN, 2010, casi todas (96 %) las mujeres amamantan a sus hijos recién nacidos y un poco más de la mitad lo hacen en la primera hora de nacido (30). Actualmente, la duración total de la lactancia materna es de 14,9 meses, práctica que ha mejorado en los últimos cinco años (2005: 49 % y 2010: 57 %) (30), sin embargo, el tiempo de lactancia exclusiva es mucho menor (2,3 meses). La introducción de alimentos complementarios de la leche materna se hace tempranamente y la calidad de la dieta es especialmente deficitaria en los niños entre los 6 y 8 meses de edad. En el presente estudio, el 52,9 % de los 17 niños menores de 6 meses recibía lactancia materna exclusiva, cuatro (23,5 %), lactancia materna y leche de fórmula, y cuatro (23,5 %), solo leche de fórmula infantil. La principal razón aducida por las madres fue el hecho de tener que regresar al trabajo después de los tres meses de licencia de maternidad.

Según las guías de la *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI)* y las *Dietary Reference Intakes (DRI)* el consumo mínimo de sodio en niños de 0 a 6 meses debe ser de 120 mg y, para los niños de 6 a 12 meses, de 370 mg. En el presente estudio, se encontró que 68,7 % de los niños consumía sodio en exceso.

El *Institute of Medicine of the National Academies (IOM)* establece un nivel máximo de consumo de sodio de 1.500, 1.900, 2.200 y 2.300 mg/día para niños de 1 a 3 años, 4 a 8 años, 9 a 13 años y 14 a 18 años, respectivamente (5,31).

En el informe del Comité Asesor de Guías Alimentarias Estados Unidos de 2015, se recomienda un consumo menor de 2.300 mg de sodio por día para la población general o el indicado por el *Institute of Medicine (IOM)* de Estados Unidos de acuerdo con la edad (5,31).

Según un metaanálisis del 2006 (32), un ligero cambio en la ingestión de sodio produce un efecto significativo en la reducción de la presión arterial sistémica. La ingestión de sal en infantes y niños se incrementa de forma notoria con la introducción de los alimentos sólidos, usualmente entre los 6 y los 9 meses de edad, y en diversos estudios se ha registrado un incremento notable en el consumo de sodio con la introducción de alimentos diferentes a la leche materna (11).

En este estudio, el promedio del consumo de sodio en niños de 0 a 6 meses fue de 135 mg por día, en los de 6 a 12 meses, de 536 mg por día, y en los de 12 a 18 meses, de 836 mg por día. Además, se encontró que más del 50 % tenían un consumo por encima del máximo recomendado para niños mayores de seis meses; esto se debe a la adición de sal a la dieta durante el primer año de vida, período vital en el desarrollo de los hábitos y las preferencias alimentarias que se mantendrán hasta la adultez, lo cual se relaciona con el aumento en el riesgo de enfermedades crónicas en la edad adulta (33,34).

Es importante destacar que en dos de los tres niños que presentaron hipertensión, el consumo de sodio era elevado (183 mg/día y 167 mg/día, respectivamente).

Presión arterial y consumo de sal

La presión arterial en los niños sigue un patrón que se mantiene hasta la cuarta década de la vida, lo que sugiere que los valores altos en los primeros años son indicadores de riesgo de hipertensión en la vida adulta y que una correcta intervención en los estilos de vida en edades tempranas puede propiciar una reducción de su incidencia (35).

En el presente estudio, se encontró que tres (6,2 %) niños presentaron valores de presión arterial por encima del percentil 90 para su edad o talla, y dos de ellos estaban entre los 0 y los 6 meses de edad. Si se tiene en cuenta la prevalencia reportada de 2 a 3 % en anteriores estudios de hipertensión en niños (35), los resultados de este estudio son mayores, a pesar de ser pequeña la muestra.

En el estudio se encontró que 80 % de los niños con alimentación complementaria en preparaciones a las cuales se añadía sal, presentaban exceso de sodio y solo 6 % de ellos tenían un consumo normal (cuadro 5); 25 % de los niños que consumían sal en exceso presentó hipertensión.

Estudios realizados en Chile (35) muestran que 75 % del sodio presente en la dieta se añade a los alimentos durante su procesamiento o manufactura, y solo 10 % procede de los alimentos naturales.

En un estudio de Sanclemente, *et al.*, en Colombia, en una población de 709 personas se demostró un consumo de sodio de 20 a 30 g por día y una prevalencia de hipertensión arterial sistémica de 3 %. De acuerdo con este estudio, uno de los pocos hechos en población adulta en Colombia, la eliminación urinaria en 12 horas no fue, por sí sola,

un buen indicador para determinar el contenido de sodio de la dieta (36). En otros estudios aleatorios con controles en recién nacidos, se sugiere una asociación directa entre la ingestión de sodio en la dieta y la presión arterial desde los primeros meses de vida (37).

La alimentación tiene un papel preponderante en la reducción de la presión arterial, tal como lo demuestra el estudio sobre los DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*) (38). Con una dieta de 80 mEq de sodio (4,7 g de sal) se obtiene un descenso entre 5 y 3 mm Hg para las presiones sistólica y diastólica, respectivamente.

En numerosos estudios se ha establecido que la mayor parte del sodio ingerido proviene de los alimentos elaborados industrialmente, como lo demuestra, por ejemplo, Mattes (39). En el presente estudio, también se encontró una mayor cantidad de sodio en la alimentación complementaria.

En 45 (94 %) de los niños estudiados la presión arterial sistémica fue normal; sin embargo, se encontró un número pequeño de lactantes con valores elevados para su edad, por lo cual se sugiere explorar si, además de la ingestión alta de sodio, hay otras causas que ocasionen estas elevaciones de la presión arterial.

Los resultados de este trabajo resaltan la necesidad de desarrollar estudios de mayor tamaño en el país para determinar el consumo de sodio en la dieta y su relación con la presión arterial en la infancia, utilizando la encuesta de consumo y la medición del sodio en la orina.

Tal como está establecido, desde el nacimiento debe hacerse seguimiento del crecimiento y el desarrollo de los niños, prestando especial atención a aquellos con bajo peso o talla, pero también, a quienes tienen sobrepeso y obesidad. La valoración nutricional debe incluir la revisión de la ingestión de alimentos con el fin de determinar tempranamente posibles deficiencias o excesos y errores en la alimentación que puedan modificarse con una adecuada educación de la madre por parte de profesionales bien entrenados en promoción y prevención.

Debe recomendarse a los padres y los cuidadores no agregar sal ni azúcar a la alimentación complementaria de los lactantes menores de dos años. Además, debe darse a conocer en todos los estamentos públicos y privados el proyecto de ley del Congreso de la República tramitado en el 2012 (40), mediante el cual se dictan medidas

para prevenir la hipertensión arterial sistémica, y el consumo excesivo de sodio o de cloruro de sodio en la población colombiana.

Es esencial medir la presión arterial de manera rutinaria en todos los niños pequeños y hacerles seguimiento a aquellos cuyas lecturas sean elevadas. Los hábitos implantados tempranamente en la vida pueden alterar la expresión genética y afectar la composición corporal en la edad adulta; así, la dieta en la infancia tiene un efecto de largo plazo en la salud del individuo y de la comunidad (10).

Conflicto de intereses

Manifestamos que no tenemos conflicto de intereses en la presente investigación.

Financiación

La presente investigación no fue financiada por ninguna entidad pública o privada y estuvo a cargo de los investigadores.

Referencias

1. **World Health Organization.** World Health Report 2002: Reducing risks, promoting healthy life. Geneva: World Health Organization; 2002.
2. **López AD, Mathers CD, Ezzati M, Jamison DT, Murray CJ.** Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: Systematic analysis of population health data. *Lancet.* 2006;367:1747-57. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68770-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68770-9)
3. **Intersalt Cooperative Research Group.** Intersalt: An international study of electrolyte excretion and blood pressure. Results for 24 hour urinary sodium and potassium excretion. *BMJ.* 1988;297:319-28.
4. **Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V, Elliott P.** Salt intakes around the world: Implications for public health. *Internat J Epidemiol.* 2009;38:791-813. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyp139>
5. **Appel LJ, Lichtenstein AH, Callahan EA, Sinaiko A, van Horn L, Whitsel L.** Reducing sodium intake in children: A public health investment. *J Clin Hypertens. (Greenwich).* 2015;17:657-62. <http://dx.doi.org/10.1111/jch.12615>
6. **Bobowski NK, Mennella JA.** Disruption in the relationship between blood pressure and salty taste thresholds among overweight and obese children. *J Acad Nutr Diet.* 2015;115:1272-82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2015.02.017>
7. **Campbell KJ, Hendrie G, Nowson C, Grimes CA, Riley M, Lioret S, et al.** Sources and correlates of sodium consumption in the first 2 years of life. *J Acad Nutr Diet.* 2014;114:1525-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jand.2014.04.028>
8. **World Health Organization.** Reducing salt intake in populations: Report of a WHO Forum and Technical Meeting. Geneva: WHO; 2007.
9. **World Health Organization.** Guidelines Subcommittee, 1999. World Health Organization-International Society of Hypertension. Guidelines for the management of hypertension. *J Hypertens.* 1999;17:151-83.
10. **Samuel L, Ethan D, Basch CH, Samuel B.** A comparative study of the sodium content and calories from sugar in toddler foods sold in low- and high-income New York City supermarkets. *Glob J Health Sci.* 2014;6:22-9. <http://dx.doi.org/10.5539/gjhs.v6n5p22>
11. **Cribb VL, Warren JM, Emmett PM.** Contribution of inappropriate complementary foods to the salt intake of 8-month-old infants. *Eur J Clin Nutr.* 2012;66:104-10. <http://dx.doi.org/10.1038/ejcn.2011.137>
12. **Falciglia G, Lee SY, Paxton K, Reinerman C, Spiess L.** Longitudinal study of nutrient intakes in infants aged 12 to 18 months. *Clin Pediatr. (Phila).* 2014;53:777-83. <http://dx.doi.org/10.1177/0009922814533404>
13. **Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM.** Prevalence of obesity and trends in body mass index among US children and adolescents, 1999-2010. *JAMA.* 2012;307:483-90. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2012.40>
14. **Maillot M, Drewnowski A.** A conflict between nutritionally adequate diets and meeting the 2010 dietary guidelines for sodium. *Am J Prev Med.* 2012;42:174-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.amepre.2011.10.009>
15. **Kawano Y, Tsuchihashi T, Matsuura H, Ando K, Fujita T, Ueshima H.** Report of the Working Group for Dietary Salt Reduction of the Japanese Society of Hypertension: (2) Assessment of salt intake in the management of hypertension. *Hypertens Res.* 2007;30:887-93. <http://dx.doi.org/10.1291/hypres.30.887>
16. **Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Educación Nacional.** Encuesta de conocimientos, actitudes y prácticas sobre el consumo de sal, primera y segunda fase. Bogotá: MinSalud, INS, MEN; 2000.
17. **Kamata K, Tochikubo O.** Estimation of 24-h urinary sodium excretion using lean body mass and overnight urine collected by a pipe-sampling method. *J Hypertens.* 2002;20:2191-7.
18. **Tanaka T, Okamura T, Miura K, Kadowaki T, Ueshima H, Nakagawa H, et al.** A simple method to estimate population 24-h urinary sodium and potassium excretion using a casual urine specimen. *J Hum Hypertens.* 2002;16:97-103. <http://dx.doi.org/10.1038/sj/jhh/1001307>
19. **Herrera A.** Estado nutricional de niños con enfermedad renal crónica en consulta de nefrología pediátrica del Hospital Universitario del Valle, Cali. *Colomb Med.* 2009;40:202-12.
20. **Subcommittee on the Tenth edition of the RDA, Food and Nutrition Board, National Research Council.** Recommended dietary allowances. 10th edition. Washington, DC: RDA; 1989. p. 302.
21. **Sutton E, Emmett P, Lawlor D.** Measuring dietary sodium intake in infancy: A review of available methods. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2008;22:261-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3016.2008.00940.x>
22. **Otten JJ, Hellwig JP, Meyers LD.** Dietary Reference Intakes. The Essential Guide to Nutrient Requirements. Washington, D.C.: National Academies Press; 2006. p. 543. <http://dx.doi.org/10.17226/11537>
23. **Ministerio de la Protección Social.** Resolución N° 00002121 del 9 de junio de 2010. Por la cual se adoptan los patrones de crecimiento publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2006 y 2007 para niños y niñas y adolescentes de 0 a 18 años de edad y

- se dictan otras disposiciones. Fecha de consulta: 10 de enero de 2015. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%202121%20de%202010.pdf
24. **Kopple JD.** National Kidney Foundation K/DOQI Clinical practice guidelines for nutrition in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis.* 2001;37(Suppl.2):S66-70.
 25. **Frazier A, Southern PC.** *Cardiology.* En: Custer JW, Rau RE, editores. *The Harriet Land Handbook. A manual for pediatric house officers.* 16ª ed. Baltimore: The Johns Hopkins Hospital; 2009.
 26. **Task Force on Blood Pressure Control in Children.** Report of the Second Task Force on Blood Pressure Control in Children--1987. Task Force on Blood Pressure Control in Children. National Heart, Lung, and Blood Institute, Bethesda, Maryland. *Pediatrics.* 1987;79:1-25.
 27. **Department of Health and Human Services, National Institutes of Health National Heart, Lung, and Blood Institute, US.** The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics.* 2004;114:555-76.
 28. **Ministerio de la Protección Social.** Programa de Apoyo a la Reforma de Salud/PARS. Guías de promoción de la salud y prevención de enfermedades en la salud pública. Guía técnica para la detección temprana de las alteraciones del crecimiento y desarrollo en el menor de 10 años. Bogotá, D.C.: Ministerio de la Protección Social; 2007.
 29. **Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Profamilia, Instituto Nacional de Salud, Universidad de Antioquia, Organización Panamericana de la Salud.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2005. Bogotá, D.C.: Panamericana Firmas e Impresos, S.A.; 2005.
 30. **Ministerio de la Protección Social, Instituto Colombiano de Bienestar Familiar, Instituto Nacional de Salud, Profamilia, Departamento Administrativo Nacional de Estadística, Instituto Colombiano del Deporte, et al.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2010. Bogotá: Da Vinci Editores & Cía. SNC; 2010.
 31. **Dietary Guidelines Advisory Committee.** Report of the Dietary Guidelines Advisory Committee on the Dietary Guidelines for Americans 2010. Springfield: National Technical Information Service; 2010.
 32. **He FJ, MacGregor GA.** Importance of salt in determining blood pressure in children: Meta-analysis of controlled trials. *Hypertension.* 2006;48:861-9. <http://dx.doi.org/10.1161/01.HYP.0000245672.27270.4a>
 33. **Stein LJ, Cowart BJ, Beauchamp GK.** The development of salty taste acceptance is related to dietary experience in human infants: A prospective study. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:123-9. <http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.111.014282>
 34. **Girardet J-P, Rieu D, Bocquet A, Bresson J-L, Briend A, Chouraqui J-P, et al.** Les enfants consomment-ils trop de sel? *Arch Pediatr.* 2014;21:521-8.
 35. **Saieh CA, Lagomarsino F.** Hipertensión arterial y consumo de sal en pediatría. *Rev Chil Pediatr.* 2009;80:11-20. <http://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062009000100002>
 36. **Sancllemente E.** Consumo de sal en Colombia y su relación con la hipertensión. *CES Med.* 1987;1:59-63.
 37. **Strazzullo P, Campanozzi A, Avallone S.** Does salt intake in the first two years of life affect the development of cardiovascular disorders in adulthood? *Nutr Metab Cardiovas Dis.* 2012;22:787-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2012.04.003>
 38. **Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al.** Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *N Engl J Med.* 2001;344:3-10. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200101043440101>
 39. **Mattes RD, Donnelly D.** Relative and contribution of dietary sodium sources. *J Am Coll Nutr.* 1991;10:383-93.
 40. **República de Colombia.** Proyecto de ley por medio del cual se dictan medidas para prevenir la hipertensión arterial y el consumo excesivo de sal y sodio en la población colombiana. 2012. Fecha de consulta: 23 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.congresovisible.org/proyectos-de-ley/por-medio-del-cual-se-dictan-medidas-para-prevenir-la-hipertension-arterial-y-el-consumo-excesivo-de-sal-sodio-en-la-poblacion-colombiana-prevencion-de-la-hipertension-arterial/6790/>

ORIGINAL ARTICLE

Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites

Elizabete de Jesus Inês¹, Flavia Thamiris Figueiredo Pacheco¹, Milena Carneiro Pinto¹,
Patrícia Silva de Almeida Mendes², Hugo da Costa-Ribeiro Jr²,
Neci Matos Soares¹, Márcia Cristina Aquino Teixeira¹

¹ Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Bahia, Brasil

² Centro Pediátrico Professor Hosannah de Oliveira, CPPHO, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

Introduction: The diagnosis of intestinal parasitic infections depends on the parasite load, the specific gravity density of the parasite eggs, oocysts or cysts, and the density and viscosity of flotation or sedimentation medium where faeces are processed.

Objective: To evaluate the concordance between zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation in the recovery of parasites in faecal samples of children.

Materials and methods: Faecal samples of 330 children from day care centers were evaluated by zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation techniques. The frequencies of detection of parasites by each method were determined and the agreement between the diagnostic techniques was evaluated using the kappa index, with 95% confidence intervals.

Results: The faecal flotation in zinc sulphate diagnosed significantly more cases of *Trichuris trichiura* infection when compared to centrifugal sedimentation (39/330; 11.8% vs. 13/330; 3.9%, $p < 0.001$), with low diagnostic concordance between methods (kappa=0.264; 95% CI: 0.102-0.427). Moreover, all positive samples for *Enterobius vermicularis* eggs (n=5) and *Strongyloides stercoralis* larvae (n=3) were diagnosed only by zinc sulphate. No statistical differences were observed between methods for protozoa identification.

Conclusions: The results showed that centrifugal flotation in zinc sulphate solution was significantly more likely to detect light helminths eggs such as those of *T. trichiura* and *E. vermicularis* in faeces than the centrifugal sedimentation process.

Key words: Intestinal parasites/diagnosis; child; flotation; sedimentation.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2799>

Concordancia entre los métodos de flotación con sulfato de zinc y sedimentación centrífuga para el diagnóstico de parásitos intestinales

Introducción. El diagnóstico de infecciones parasitarias intestinales depende de la carga de parásitos, la densidad de la gravedad específica de los huevos, oquistes o quistes de parásitos, y de la densidad y viscosidad de los reactivos de flotación o sedimentación usados para procesar las heces.

Objetivo. Evaluar la concordancia entre el método de flotación de sulfato de zinc y la sedimentación por centrifugación en la recuperación de parásitos en muestras fecales de niños.

Materiales y métodos. Se evaluaron las muestras fecales de 330 niños de guarderías mediante las técnicas de flotación con sulfato de zinc y de sedimentación por centrifugación. Se determinó la frecuencia de detección de parásitos con cada método y se evaluó la concordancia entre las técnicas de diagnóstico mediante el índice kappa, con intervalos de confianza del 95 %.

Resultados. Mediante la flotación fecal con sulfato de zinc, se diagnosticó un número significativamente mayor de casos de infección por *Trichuris trichiura* que con la sedimentación por centrifugación (39/330; 11,8 % Vs. 13/330; 3,9 %) ($p < 0,001$), con poco acuerdo entre los métodos (kappa=0,264; IC_{95%} 0,102-0,427). Además, todas las muestras positivas para huevos de *Enterobius vermicularis* (n=5) y larvas de *Strongyloides stercoralis* (n=3) se diagnosticaron solamente por sulfato de zinc. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los métodos para la identificación de protozoos.

Author's contributions:

Márcia Cristina Aquino Teixeira and Patrícia Silva de Almeida Mendes designed the study and collected the samples. Milena Carneiro Pinto, Elizabete de Jesus Inês and Flávia Thamires Figueiredo Pacheco performed the laboratory work. Elizabete de Jesus Inês and Milena Carneiro Pinto analyzed the results. Márcia Cristina Aquino Teixeira, Elizabete de Jesus Inês, Hugo Costa-Ribeiro Jr, Neci Matos Soares wrote the paper.

Conclusiones. La flotación centrífuga en una solución de sulfato de zinc presentó una probabilidad significativamente mayor de detectar los huevos livianos de helmintos como *T. trichiura* y *E. vermicularis* en heces, que el proceso de sedimentación por centrifugación.

Palabras clave: parásitos intestinales/diagnóstico; niño; flotación; sedimentación.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2799>

The most commonly used parasitological diagnostic methods for detection of intestinal helminthic and protozoan infections in humans are inexpensive and simple to perform; however, they have important limitations, particularly regarding their sensitivity. Therefore, the use of more than one diagnostic method is necessary to detect different parasitic evolving forms, such as eggs, larvae, cysts, oocysts and trophozoites, due to the differences in size, morphology, density, and mobility among them. Moreover, the use of different parasitological methods is essential to improve sensitivity for helminth and protozoa diagnosis in patients with low parasite burdens (1).

Laboratory diagnosis of intestinal protozoa is performed by identifying the parasite cysts in faecal smears stained with iodine or by detecting the typical trophozoites in a wet or a permanent stained preparation (2). On the other hand, as the adult forms of most worms are rarely seen in faeces, the parasitological diagnosis relies on the identification of helminth eggs or larvae after concentrating the stools, which is usually realized by sedimentation or flotation techniques (3,4).

Spontaneous sedimentation, centrifugal sedimentation, or formalin-ethyl acetate are widely used for the diagnosis of intestinal protozoa and helminths in human and animal stool samples (5-8). The faecal concentration methods based on sedimentation of parasites are useful for recovering heavy parasite eggs due to the concentration of the organisms in the sediment, whereas the centrifugal-flotation in zinc sulphate (9) is used preferentially to recover protozoa cysts because of the low density of parasitic forms as compared to the salt solution. The result is a clean preparation for microscopic examination with a minimal amount of faecal debris. For instance, if the density of a helminth egg is lower or close to the density of the flotation solution, it will float along with cysts of faecal homogenate.

Corresponding author:

Márcia Cristina Aquino Teixeira, Av. Barão de Jeremoabo, N° 147, Campus Universitário de Ondina 40170-115, Salvador, Bahia, Brasil

Telephone: (5571) 3283 6950; fax: (5571) 3283 6949
marciat@ufba.br

Received: 13/05/15; accepted: 16/04/16

The purpose of this study was to evaluate the agreement between the zinc sulphate flotation and the centrifugal sedimentation for diagnosing protozoa and helminths in children's faecal samples.

Materials and methods

Faecal samples from 330 children attending day care centers in Salvador, Bahia, Brazil, whose ages ranged between 0 and 8 years, were examined by zinc sulphate flotation (ZS) (9) and centrifugal sedimentation (CS) (7) methods. Briefly, two grams of faeces were homogenized in 10 ml of water and filtered through gauze for each diagnostic method. Subsequently, faecal homogenate was centrifuged in a 15 ml tube for 2 minutes at 400 g twice and the sediment was examined by preparing wet mounts with iodine (CS) or resuspended in zinc sulphate solution (1.18 g/mL) for the flotation process (ZS). Faecal smears from the sedimentation technique were also stained by modified Ziehl-Neelsen (mZN) for coccidian diagnosis. Three slides per sample were examined with each technique.

We determined and compared the proportion of specific parasites identified by each diagnostic method in the faecal samples analysed. We evaluated the concordance between diagnostic methods by calculating kappa indices using the Graph Pad (San Diego, USA) statistical software. The reference kappa values were inferred as follows: (<0) no agreement, (0-0.19) poor, (0.20-0.39) low, (0.40-0.59) moderate, (0.60-0.79) substantial and (0.80-1.00) excellent agreement (10). We performed the statistical analysis of the frequencies of intestinal parasites and the concordance of diagnostic results between the two parasitological methods using the chi-square test; values of $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Ethical aspects

This study was approved by the Committee of Ethics in Research of the Department of Health of Bahia. Stools were collected from children only after obtaining a formal signed consent from their parents or legal guardians, whom also received the parasitological test results. All children were attended by a pediatrician and treated for enteroparasite infections when necessary.

Results

Of the 330 children analyzed, 217 (65.8%) were infected with at least one intestinal parasite regardless of the diagnostic method employed. According to the combined results of ZS and CS, the most frequent pathogenic protozoa identified were *Giardia duodenalis* (83/330; 25.1%) and *Blastocystis* spp. (46/330; 13.9%). *Cryptosporidium* spp. and *Isospora belli* infections were found in five (1.5%) and in one child (0.3%), respectively. Regarding helminths, *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* had the highest occurrence in faecal samples (table 1).

Concerning the frequency of specific parasites detected by each diagnostic method, ZS presented a similar proportion of *A. lumbricoides* and *Hymenolepis nana* cases compared to CS, or identified significantly more helminths such as *T. trichiura* ($p < 0.001$) (table 1), with a low concordance between methods ($\kappa = 0.264$; 95% CI, 0.102-0.427) (table 2). Moreover, all positive samples for *Enterobius vermicularis* eggs ($n = 5$) and *Strongyloides stercoralis* larvae ($n = 3$) were diagnosed only by ZS (table 1). As expected, *Schistosoma mansoni* egg samples were found solely in CS faecal sediments. The ZS method also detected most of the *G. duodenalis* cases (74/83; 89.1%), compared to the CS technique (67/83; 80%). Conversely, the latter identified more frequently the protozoan *Blastocystis* spp. in infected children (38/46; 82.6%) vs. the ZS (33/46; 71.7%). However, no statistical differences were observed, and there was substantial agreement

between methods for both parasites: $\kappa = 0.775$; 95% CI: 0.691-0.859, and $\kappa = 0.669$; 95% CI: 0.537-0.801, respectively (table 2).

Discussion

The comparison of parasitological methods often requires study populations with high frequency of parasitic infections. In the present study, 217 out of 330 stools examined were positive for one or more intestinal parasites, allowing a correct assessment of the diagnostic concordance between the CS and ZS flotation parasitological techniques.

Usually, the goal in using the ZS flotation method is to improve the detection of protozoan cysts in stools because their densities are lower than the salt solution and they rise to the surface. Therefore, the increased quantity of *G. duodenalis* and amebae samples diagnosed in this study by ZS was expected, and it was in concordance with reports from other authors (11). Conversely, other studies, including this one, have shown that CS is a more effective technique for identification of *Blastocystis* spp. in faecal samples (12). The better performance of CS in *Blastocystis* spp. identification can be explained by the polymorphism of this protozoan, with different evolutionary forms (vacuolar, granular, amoeboid and cystic), and a wide range of sizes, varying from 2 to 200 micrometers (13-15). Moreover, the hypertonic zinc sulphate solution may not be appropriate for the detection of *Blastocystis* spp., due to the possibility of parasite membrane lysis (16,17).

In this work, we did not compare CS and ZS methods for *Cryptosporidium* spp. diagnosis. In a previous report, we showed that the concentration

Table 1. Frequency of enteroparasites in faecal samples of 330 children from day care centers, analysed by zinc sulphate (ZS) flotation and centrifugal sedimentation (CS) methods

Protozoa	Positivity			Helminths	Positivity						
	ZS	CS	ZS X CS		ZS	CS	ZS X CS				
	n	(%)	n		(%)	n	(%)	n	(%)	p	
<i>Giardia duodenalis</i> *	74	(22.4)	67	(20.3)	0.506	<i>Ascaris lumbricoides</i> *	67	(20.3)	68	(20.6)	0.923
<i>Endolimax nana</i> *	71	(21.5)	64	(19.4)	0.499	<i>Trichuris trichiura</i> *	39	(11.8)	13	(3.9)	<0.001**
<i>Entamoeba coli</i> *	51	(15.4)	47	(14.2)	0.661	<i>Hymenolepis nana</i> *	21	(6.4)	17	(5.1)	0.504
<i>Blastocystis</i> spp.*	33	(10.0)	38	(11.5)	0.530	<i>Enterobius vermicularis</i>	5	(1.5)	0	(0.0)	0.025**
<i>Iodamoeba butschlii</i> *	25	(7.6)	20	(6.1)	0.440	<i>Strongyloides stercoralis</i>	3	(0.9)	0	(0.0)	0.083
<i>E. histolytica/dispar/moshkovskii</i> *	14	(4.2)	14	(4.2)	1.000	<i>Hookworm</i>	3	(0.9)	1	(0.3)	0.316
<i>Chilomastix mesnilli</i>	3	(0.9)	2	(0.6)	0.653	<i>Schistosoma mansoni</i>	0	(0.0)	2	(0.6)	0.157

* $p < 0.05$: Parasites with statistically significant frequencies compared to total of parasitized children (217/330; 65.5%), considering results of both parasitological methods. ** $p < 0.05$: Statistically significant difference between ZS and CS methods for the diagnosis of *Trichuris trichiura* and *Enterobius vermicularis*; chi-square test.

Table 2. Concordance between zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation for diagnosing protozoan cysts and helminth eggs in faeces

	Zinc sulphate flotation			*Kappa (95% CI)	Concordance level
	Positive	Negative	Total		
Centrifugal sedimentation					
<i>Giardia duodenalis</i>					
Positive	58	9	67	0.775 (0.691-0.859)	Substantial
Negative	16	247	263		
Total	74	256	330		
<i>Blastocystis</i> spp.					
Positive	25	13	38	0.669 (0.537-0.801)	Substantial
Negative	8	284	292		
Total	33	297	330		
<i>Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii</i>					
Positive	14	0	14	1.000 (1.000 -1.000)	Excellent
Negative	0	316	316		
Total	14	316	330		
<i>Iodamoeba butschlii</i>					
Positive	17	3	20	0.738 (0.590-0.886)	Substantial
Negative	8	302	310		
Total	25	310	330		
<i>Endolimax nana</i>					
Positive	60	4	64	0.860 (0.792-0.929)	Excellent
Negative	11	255	266		
Total	71	259	330		
<i>Entamoeba coli</i>					
Positive	44	3	47	0.880 (0.807-0.953)	Excellent
Negative	7	276	283		
Total	51	279	330		
<i>Ascaris lumbricoides</i>					
Positive	55	13	68	0.767 (0.680-0.854)	Substantial
Negative	12	250	262		
Total	67	263	330		
<i>Trichuris trichiura</i>					
Positive	8	5	13	0.264 (0.102-0.427)	Low
Negative	31	286	317		
Total	39	291	330		
<i>Hymenolepis nana</i>					
Positive	17	0	17	0.888 (0.780-0.996)	Excellent
Negative	4	309	313		
Total	21	309	330		

* Only parasites with significant frequencies and detected by both parasitological methods were included for evaluation of concordance by kappa index.

of oocysts by CS, followed by mZn staining, proved to be a suitable protocol for *Cryptosporidium* detection in human faeces (7). Moreover, the ZS method showed lower sensitivity and specificity compared to saturated sugar solution flotation technique for *Cryptosporidium* spp. diagnosis (18).

The effective recovery of parasite eggs and cysts depends on their own densities and on the density and viscosity of the flotation medium. Considering these issues, the choice of a flotation solution must be matched with the characteristics of particular parasite species for optimal results. In this study, the relatively heavy helminth eggs, such as those of *S. mansoni*, were only detected by CS due to

their high density and subsequent tendency to settle along with various faecal debris (19). In addition, faecal components such as food debris, fat, bacteria, fungi, etc., may affect the performance of a specific parasitological method, which may interfere with the faecal concentration process as well as the microscopic visualization of the parasitic forms (7).

The specific gravities of helminth eggs have been determined previously using density gradients (20-22). In those studies, some eggs of animal or human helminths presented the following densities (g/cm³): *Ancylostoma duodenale* and *A. caninum*, 1.05; *A. lumbricoides*, 1.11-1.13 (fertile) and 1.20

(infertile) and *A. suum*, 1.13; *E. vermicularis*, 1.11; *Trichuris suis*, 1.13, *T. vulpis*, 1.14 and *T. trichiura*, 1.15. Considering the relatively lower density of helminth eggs compared to the zinc sulphate solution (1.18 g/cm³), their tendency to float to the surface is expected. However, average dimensions of eggs may influence their flotation in salt or sugar solutions, as well as their sedimentation velocity in water (22). As we observed in our study, despite the closer specific gravity of *T. trichiura* eggs (size range 50 x 22 µm) to *A. lumbricoides* eggs (size range 60 x 45 µm – fertile and 90 x 40 µm - infertile), there was no significant difference in the diagnosis of the latter between ZS or CS. It is also important to note that an *A. lumbricoides* female can eliminate 10 times more eggs than a *T. trichuris* female, favouring the identification by different diagnostic techniques.

When we analyzed the diversity of helminths identified by the method employed in this work, we noticed a higher frequency of *T. trichiura* eggs when diagnosed by ZS. Previous studies have shown that ZS is very effective in detecting *T. vulpis* infections in dogs (11). In our study, CS failed to detect 31 of 44 cases of trichiuriasis, which were diagnosed exclusively by ZS. Despite the lower detection of *T. trichiura* infected children, the CS method identified five positive cases that were not diagnosed by ZS. This emphasizes the need to combine two or more methods, always including a flotation technique, for diagnosing light helminth eggs in faecal samples. As discussed above, it is feasible that the variation on the egg size range of a specific parasite population and, consequently, its density, or the low parasite load in faeces, may have accounted for the five *T. trichiura* samples diagnosed only by CS.

It is also notable that the faecal analysis identified four additional *H. nana*, and exclusively five *E. vermicularis* and three *S. stercoralis* cases by the ZS flotation method. Diagnosis of *E. vermicularis* and *S. stercoralis* infections is usually based on the recovery of typical eggs on perianal skin using a transparent tape (23) and by the Baermann-Moraes method (24), respectively, and rarely by sedimentation techniques. Thus, although it is a nonspecific laboratory tool for both parasites, the ZS may identify some enterobiasis and strongyloidiasis cases during coproparasitological analysis.

In conclusion, this study demonstrated that it is significantly more likely that the centrifugal flotation in zinc sulphate solution detect a faecal sample positive for *T. trichiura* or *E. vermicularis* than the centrifugal sedimentation process, whereas there

were no significant differences between methods in the identification of other intestinal parasites, including *G. duodenalis*. Therefore, the use of both methods in the clinical laboratory will maximize the precision and improve the diagnosis of parasitic infections in children.

Conflicts of interest

The authors confirm that there are no conflicts of interest.

Financial support

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) and Universidade Federal da Bahia (UFBA), Brazil.

References

1. **John DT, Petri WA.** Markell and Voge's Medical Parasitology. Ninth edition. Noida India: Saunders Elsevier; 2009. p. 463.
2. **Collier L, Balows A, Sussman M.** Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections: Parasitology. Tenth edition. Washington, D.C.: Hodder Arnold; 2005. p. 912.
3. **Garcia LS.** Diagnostic Medical Parasitology. Fifth edition. Washington, D.C.: ASM Press; 1997. p. 937.
4. **Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Utzinger J.** FLOTAC: New multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. Nat Protoc. 2010;5:503-15. <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2009.235>
5. **Katagiri S, Oliveira-Sequeira TC.** Comparison of three concentration methods for the recovery of canine intestinal parasites from stool samples. Exp Parasitol. 2010;126:214-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2010.04.027>
6. **Tello R, Terashima A, Marcos LA, Machicado J, Canales M, Gotuzzo E.** Highly effective and inexpensive parasitological technique for diagnosis of intestinal parasites in developing countries: Spontaneous sedimentation technique in tube. Int J Infect Dis. 2012;16:414-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2011.12.017>
7. **Pacheco FT, Silva RK, Martins AS, Oliveira RR, Alcântara-Neves NM, Silva MP, et al.** Differences in the detection of *Cryptosporidium* and *Isospora (cystoisospora)* oocysts according to the fecal concentration or staining method used in a clinical laboratory. J Parasitol. 2013;99:1002-8. <http://dx.doi.org/10.1645/12-33.1>
8. **Rocha NO, Portela RW, Camargo SS, Souza WR, Carvalho GC, Bahiense TC.** Comparison of two coproparasitological techniques for the detection of *Platynosomum* sp. infection in cats. Vet Parasitol. 2014;29:392-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.04.022>
9. **Faust EC, Sawitz W, Tobie J, Odom V, Peres C, Lincicome DR.** Comparative efficiency of various techniques for the diagnosis of protozoa and helminth in feces. J Parasitol. 1939;25:241-62.
10. **Landis JR, Koch GG.** The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 1977;33:159-74.

11. **Zajac AM, Johnson J, King SE.** Evaluation of the importance of centrifugation as a component of zinc sulphate fecal flotation examinations. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2002;38:221-4. <http://dx.doi.org/10.5326/0380221>
12. **Eymael D, Schuh GM, Tavares RG.** Padronização do diagnóstico de *Blastocystis* spp. por diferentes técnicas de coloração. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43:309-12. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822010000300019>
13. **Pirajá SC, Jeremiah S.** *Blastocystis*: Taxonomy, biology and virulence. *Trop Parasitol.* 2013;3:17-25. <http://dx.doi.org/10.4103/2229-5070.113894>
14. **Tan KS.** *Blastocystis* in humans and animals: New insights modern methodologies. *Vet Parasitol.* 2004;126:121-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.017>
15. **Stenzel DJ, Boreham PFL, McDougall R.** *Blastocystis hominis* revisited. *Clin Microbiol Rev.* 1996;9:563-84.
16. **Alarcón RSR, Amato Neto V, Gakiya E, Bezerra RC.** Observações sobre *Blastocystis hominis* e *Cyclospora cayetanensis* em exames parasitológicos efetuados rotineiramente. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40:253-5. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822007000200024>
17. **Amato Neto VA, Alarcón RS, Gakiya E, Bezerra RC, Ferreira CS, Braz LM.** Blastocistose: controvérsias e indefinições. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36:515-7. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822003000400014>
18. **Bhat SA, Dixit M, Juyal PD, Singh NK.** Comparison of nested PCR and microscopy for the detection of cryptosporidiosis in bovine calves. *J Parasit Dis.* 2014;38:101-5. <http://dx.doi.org/10.1007/s12639-012-0201-5>
19. **Scandrett WB, Gajadhar AA.** Recovery of putative taeniid eggs from silt in water associated with an outbreak of bovine cysticercosis. *Can Vet J.* 2004;45:758-60.
20. **Sawitz W.** The buoyancy of certain nematode eggs. *J Parasitol.* 1942;28:95-102.
21. **David ED, Lindquist WD.** Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *J Parasitol.* 1982;68:916-9.
22. **Mara D, Horan NJ.** The handbook of water, wastewater and microbiology. Amsterdam: Academic Press; 2003.
23. **Graham DF.** A device for the diagnostic on the *Enterobius vermicularis* infection. *Am J Trop Med Hyg.* 1941;21:150-1.
24. **Moraes RG.** Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidose no Brasil. *Rev Serv Espec Saúde Pública* 1948;1:507-624.

ARTÍCULO ORIGINAL

Determinación de enteroparásitos en *Lactuca sativa* en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Colombia

Giovanni Andrés Polo, Carmenza Janneth Benavides, Juan Manuel Astaiza, Darío Antonio Vallejo, Patricia Betancourt

Grupo de Investigación de Medicina Interna y Farmacología Veterinaria, Universidad de Nariño, Pasto, Colombia

Introducción. Actualmente se recomienda incluir en la dieta diaria verduras como la lechuga por su gran aporte nutricional; sin embargo, atraídos por tales beneficios, los consumidores pueden estar expuestos a infecciones con parásitos intestinales.

Objetivo. Determinar la presencia o ausencia de enteroparásitos en la lechuga (*Lactuca sativa*) cultivada en la zona rural del municipio de Pasto y, una vez caracterizados los predios, analizar los factores asociados.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio transversal doble ciego de tipo descriptivo. Se tomaron 105 muestras de 21 predios entre junio y diciembre de 2013 y se procesaron mediante pruebas de flotación y sedimentación. Además, se encuestó a los propietarios de los predios para obtener información sobre las variables que pudieran determinar la aparición de enteroparásitos.

Resultados. Se encontró contaminación con huevos y larvas de parásitos en 100 % de las muestras: 95,25 % con quistes de *Entamoeba* spp.; 71,43% con ooquistes de *Isospora* spp.; 61,90% con larvas (L3) de *Strongyloides stercoralis*; 28,57 % con huevos de *Toxocara* spp., y 4,76 % con ooquistes de *Eimeria* spp. En cuanto a los factores asociados según la prueba de ji al cuadrado, se encontró relación entre *Entamoeba* spp. y las acequias ($p=0,008$), los perros ($p=0,008$) y los pozos sépticos ($p=0,029$); entre *Isospora* spp. y el compost ($p=0,0001$), los perros ($p=0,0001$) y las babosas ($p=0,002$); entre *S. stercoralis* y la manipulación ($p=0,003$), y entre *Toxocara* spp. y el hecho de no utilizar biodigestores ($p=0,002$).

Conclusiones. En las áreas de cultivo del municipio de Pasto se encontró contaminación de las muestras de lechuga con enteroparásitos provenientes principalmente de reservorios animales y humanos, aunque también presentes en el medio ambiente.

Palabras clave: lechuga; verduras; contaminación de alimentos; parásitos; cultivos agrícolas; reservorios.
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2914>

Enteroparasite determination in *Lactuca sativa* from farms dedicated to its production in Pasto, Colombia

Introduction: Currently, vegetables like lettuce are widely recommended as part of the daily diet given their high nutritional value; however, while consumers feel attracted to the benefits provided by the vegetable, they may also be exposed to parasitic intestinal infections.

Objective: To determine the presence or absence of enteroparasites in lettuce (*Lactuca sativa*) grown in the rural area in the municipality of Pasto, and to analyze associated factors based on the characterization of the lands.

Materials and methods: We conducted a descriptive double blind cross-sectional study. We took a total of 105 samples from 21 properties from June to December, 2013, and we processed them by sedimentation and flotation tests. Additionally, the owners were surveyed in order to obtain information about the possible variables influencing the occurrence of enteroparasites.

Results: We detected contamination in 100% of the lettuce samples and we found parasite eggs and larvae as follows: 95.25% with *Entamoeba* spp. cysts; 71.43% with *Isospora* spp. oocysts; 61.90% with *Strongyloides stercoralis* larvae (L3); 28.57% with *Toxocara* spp. eggs, and 4.76% with *Eimeria* spp. oocysts. Using the chi-square test we found association between *Entamoeba* spp. and ditches

Contribución de los autores:

Giovanni Andrés Polo: trabajo de campo
Carmenza Janneth Benavides y Juan Manuel Astaiza: asesoría metodológica
Darío Antonio Vallejo: asesoría estadística
Patricia Betancourt: procesamiento y análisis de muestras
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

($p=0.008$), dogs ($p=0.008$) and septic tanks ($p=0.029$); between *Isospora* spp. and compost ($p=0.0001$), dogs ($p=0.0001$) and slugs ($p=0.002$); between *S. stercoralis* and handling ($p=0.003$), and between *Toxocara* spp. and no use of biodigesters ($p=0.002$).

Conclusions: We found contamination with enteroparasites in lettuce samples from growing areas in the municipality of Pasto with animal and human sources as their main reservoirs, although others were present in the environment.

Key words: Lettuce; vegetables; food contamination; parasites; agricultural cultivation; reservoirs.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2914>

La lechuga es un vegetal muy común en la canasta familiar por su fácil producción y disponibilidad; se consume cruda en sándwiches y ensaladas, y se usa para la decoración de platos (1). En varios estudios se ha sugerido la posibilidad de la transmisión de parásitos intestinales a los seres humanos por la ingestión de frutas y verduras crudas procedentes de áreas de cultivo contaminadas por residuos fecales de animales o del hombre presentes en el agua sucia que se emplea para regar los huertos o en el abono orgánico (2,3).

En el mundo, más de 2.000 millones de personas están infectadas con parásitos intestinales, lo cual constituye un problema de salud pública, principalmente en países en desarrollo (4). En las zonas rurales y urbanas de estos países las malas condiciones sanitarias permiten la propagación de parásitos intestinales y las verduras son un vehículo importante de su transmisión (5).

Múltiples factores ecológicos, ambientales, inmunológicos y genéticos, así como del ámbito sociocultural y económico, intervienen en el problema (6). Las infecciones parasitarias afectan a individuos de todas las edades, pero son los niños los que padecen en mayor medida sus síntomas clínicos. Si bien las poblaciones pobres son las más expuestas, en niveles sociales más altos también prevalecen infecciones que se adquieren con los alimentos (carne poco cocinada, vegetales y pescado crudo), el agua y los fómites (vectores pasivos) (6).

Las parasitosis tienen graves consecuencias, como alteraciones cognitivas, disentería grave o anemia (4). El mecanismo fisiopatológico del daño varía según la naturaleza del parásito. Los protozoos normalmente producen diarreas agudas o crónicas, por lesiones o debido a la reducción del número

de vellosidades intestinales, lo que, a su vez, disminuye la superficie de reabsorción del intestino delgado; también, forman úlceras en el intestino grueso que provocan diarreas disintéricas con moco y sangre. Los helmintos pueden producir daños menores en las mucosas, pero compiten por el alimento preformado del intestino delgado, sustrayendo del huésped aminoácidos, proteínas, hierro y oligoelementos. Esta pérdida de los nutrientes más ricos durante varios años conduce a la desnutrición crónica, a la disminución de peso y talla, y a un deterioro irreversible de la capacidad cognitiva. En sus estadios larvarios, algunos parásitos desarrollan migración tisular y provocan diferentes enfermedades según los órganos afectados (7).

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia o ausencia de enteroparásitos en la lechuga (*Lactuca sativa*) cultivada en la zona rural del municipio de Pasto, y establecer los factores asociados.

Materiales y métodos

Población de estudio

Se localizaron todos los 21 predios dedicados exclusivamente al cultivo de lechuga en el municipio de Pasto, durante el período de junio a diciembre de 2013. Su ubicación comprendió las veredas de Chávez (13 predios), Fray Bartolomé (1 predio) y Gualmatán (3 predios) en el corregimiento de Catambuco, y la vereda Riopamba (4 predios) en el corregimiento de La Laguna.

La información se recolectó inicialmente mediante entrevistas personales con los propietarios de los predios y, en una segunda fase, se tomaron las muestras previa autorización de los dueños de los predios.

Recolección de información

Entrevista con los propietarios. Se hizo una encuesta con preguntas de selección múltiple a los propietarios de los 21 predios para obtener información sobre las posibles variables que influyen en la aparición de enteroparásitos. La información

Correspondencia:

Darío Antonio Vallejo, Clínica Veterinaria "Carlos Martínez H", Universidad de Nariño, Ciudadela Universitaria Torobajo, Pasto, Nariño

Teléfono: (301) 633 4002

dariovallejo1@gmail.com

Recibido: 13/07/15; aceptado: 20/04/16

recolectada hacía referencia a la preparación del terreno, como uso de abonos químicos o biológicos, extensión del terreno, relación con otros cultivos y fuentes de riego; a la relación con los animales, como animales domésticos en el predio o plagas; a los métodos de recolección de la lechuga, y a las prácticas sanitarias, como conocimiento de prácticas eficientes de agricultura, manejo de aguas residuales y prácticas de aseo personal.

Registros. Para el registro de campo se elaboraron 21 fichas con el objeto de incluir las observaciones y las características del predio con ayuda de equipos especializados (GPS *Etrex* – Garmin® e higrómetro Thermo-Hygro), entre ellas, la altura sobre el nivel del mar, las coordenadas geográficas, el grado de humedad y la temperatura, así como la descripción del predio.

Toma de muestras

Con el propósito de cubrir la mayor parte de cada cultivo, se tomaron muestras de lechuga en cada extremo del lote cultivado y en el centro. Se recolectaron e identificaron cinco muestras por cada predio, para un total de 105, las cuales se enviaron al Laboratorio de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño.

Procesamiento de las muestras

Las muestras se procesaron siguiendo los procedimientos de la técnica de Álvarez, modificada por Travieso (8). Se tomaron hojas de la parte externa y de la parte interna de cada lechuga, se empacaron en bolsas con cierre hermético y se almacenaron en cajas de poliestireno expandido (icopor) con gel refrigerante para evitar su descomposición.

En el laboratorio, se lavó cada hoja con agua destilada y un cepillo de cerda suave, y el material turbio resultante se recolectó en recipientes metálicos. Una vez terminado este procedimiento, el material obtenido de cada hoja se dejó durante 24 horas en reposo cubierto con papel aluminio para evitar la contaminación externa. El sedimento obtenido al cabo de este tiempo se aspiró con goteros de 10 ml y el aspirado se depositó en tubos de ensayo y se lo centrifugó a 3.000 rpm durante 10 minutos; posteriormente, se retiró el exceso de agua, se aspiró el sedimento para colocarlo en láminas portaobjetos y aplicar lugol al 10 % y se lo dejó en reposo durante 45 minutos a temperatura ambiente. La muestra tratada se observó en el microscopio óptico con aumentos de 10X y 40X.

La carga parasitaria se determinó según las medidas de observación del parámetro establecido por Vélez, es decir, 1 a 3 estructuras parasitarias por campo (+), 4 a 7 por campo (++), y más de 7 por campo (+++) (9).

Análisis estadístico

Se hizo un análisis estadístico descriptivo de la información obtenida en las encuestas y registros, y se determinó la participación porcentual de cada variable en la población mediante tablas de frecuencia.

La presencia de enteroparásitos y su participación porcentual en el estudio se estableció mediante la siguiente fórmula:

$$p = \frac{\text{Número de sistemas contaminados por cada parásito}}{\text{Total de sistemas de producción}} \times 100$$

La asociación entre la contaminación de la lechuga con enteroparásitos y las variables evaluadas en la encuesta se estableció mediante la prueba de ji al cuadrado y el test exacto de Fisher. Además, se determinó la magnitud de la asociación mediante la corrección V de Cramer, todo ello utilizando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20.0.

Resultados

Caracterización de los predios

En los predios se empleaba un sistema de producción rotatoria de hortalizas y tubérculos como la papa. La mayor producción de lechuga correspondió a la vereda de Chávez, con un 57,14 %, seguida por las veredas de Riopamba, con 19,04 %, Gualmatán, con 14,52 %, y Fray Bartolomé, con 9,52 %. En ese mismo periodo, el corregimiento de Catambuco registró el mayor porcentaje de producción de lechuga, con 80,94 %, seguido del corregimiento de La Laguna, con 19,04 %. El 90,47 % de los productores destinaban a la producción de lechuga áreas menores a una hectárea y, el 9,5 %, extensiones de dos a tres hectáreas.

Además, se registraron la temperatura, la humedad relativa y la altitud sobre el nivel del mar de cada predio, con el fin de determinar las condiciones del medio ambiente en cada zona, y se encontró que las cuatro veredas eran similares (cuadro 1). Las mediciones medioambientales se hicieron en el momento de la recolección de las muestras y se concluyó que estos factores no guardaban relación con la presencia o la ausencia de enteroparásitos.

Cuadro 1. Registro de variables ambientales por vereda en el momento de la toma de muestras

Variable/Vereda (municipio)	Gualmatán (Catambuco)	Bartolomé (Catambuco)	Chávez (Catambuco)	Riopamba (La Laguna)	Promedio
Temperatura (° C)	19,43	19,2	19,48	19,63	19,43
Humedad (%)	66,87	49,5	49,33	63,25	57,24
Altitud (msnm)	2.857,33	2.708,5	2.658,75	2.798,50	2.755,77

El resultado corresponde al promedio por vereda de las mediciones de temperatura, humedad y altitud de cada predio evaluado.

La mayoría de los propietarios preparaba los suelos antes de la siembra (95,20 %) y usaba abonos inorgánicos (52,40 %), actividades que se consideran normales en los procesos agrícolas. Asimismo, los agricultores rotaban el cultivo de la lechuga con otros, como la papa, la cebolla y el cilantro, para evitar el agotamiento de los suelos y tener un ingreso económico estable en cada periodo ajustado a las variaciones de los precios en el comercio de alimentos (cuadro 2).

Durante el periodo de estudio, 42,9 % de los sistemas de producción se abastecía de agua en quebradas o acequias, y 33,3% en los ríos (cuadro 2).

En cuanto a la bioseguridad, los propietarios afirmaron usar principalmente pozos sépticos para el manejo de las aguas residuales (52,40 %), seguidos de su dispersión en el cultivo y el uso de biodigestores (cuadro 2).

En materia de certificación agrícola, de buenas prácticas agrícolas, del llamado sello verde y de otras certificaciones, el 76,20 % de los propietarios no conocía los procesos de certificación o cómo etiquetar sus productos; el 14,30 % afirmó conocer las buenas prácticas agrícolas y, el 9,2 %, el sello verde; sin embargo, ninguno tenía certificación oficial otorgada por los organismos competentes (cuadro 2).

En cuanto a la presencia de animales domésticos, en el 57,3 % de los predios había perros, los cuales acompañaban a los propietarios en las labores diarias del campo (cuadro 2). Además, se encontraron babosas en los diferentes estadios de crecimiento de los cultivos. Según el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), las plagas que más atacan los cultivos de lechuga corresponden a la especie de babosas *Deroceras reticulatum* Muller, *Limax marginatus* Muller y *Milax gagates* Draparnaut, y la especie de caracol *Helix aspersa* (10).

Por otra parte, se estableció que la mayoría de los productores se lavaba las manos para cosechar la lechuga (85,71 %), y usaba guantes de caucho para cortarlas y empacarlas (90,47 %), ya que con el corte la hortaliza produce una sustancia

Cuadro 2. Frecuencia de las medidas de manejo de suelos, cultivos y sanidad en los predios

Variable	Resultado	n	%
Preparación del terreno	Sí	20	95,2
	No	1	4,8
Fertilizantes	Inorgánicos	11	52,4
	Compost	5	23,8
	Inorgánico/compost	5	23,8
Sistema de riego	Acueducto	2	9,6
	Río	7	33,3
	Quebrada/acequia	9	42,9
	Ninguno	3	14,2
Manejo de aguas residuales	Pozo séptico	11	52,4
	Dispersión al cultivo	4	19,0
	Biodigestores	4	19,0
	Ausencia de aguas residuales	2	9,5
Conocimiento de técnicas de buenas prácticas agrícolas o sello verde	Buenas prácticas	3	14,3
	Sello verde	2	9,5
	No conoce	16	76,2
Animales domésticos en el predio	Perros	12	57,1
	Vacas	2	9,5
	Ninguno	7	33,4
Otras especies en el predio	Pájaros	2	9,5
	Ratones	5	23,8
	Babosas	12	57,1
	Escarabajos	16	76,1
Lavado de manos para cosecha	Sí	18	85,7
	No	3	14,3
Uso de guantes en cosecha	Sí	19	90,5
	No	2	9,5

lechosa que causa irritación al tacto. Esto quiere decir que no se daba el contacto directo de las manos con el producto, pero no se descarta la contaminación debida a la manipulación continua con unos mismos guantes (cuadro 2).

Se determinó que los productores recolectaban el vegetal de forma manual y la empacaban en cajas de cartón con destino a los intermediarios que compran y acopian la lechuga, para luego transportarla y comercializarla en la plaza de mercado El Potrerillo, principal central de abastos de Pasto.

Determinación de enteroparásitos en la lechuga

Todas las muestras procesadas presentaban huevos y larvas de parásitos: 95,25 % de ellas contenía quistes de *Entamoeba* spp.; 71,43 %, ooquistes de

Isospora spp.; 61,90 %, larvas (L3) de *S. stercoralis*; 28,57 %, huevos de *Toxocara* spp., y 4,76 %, ooquistes de *Eimeria* spp. (cuadro 3).

Carga parasitaria

Las mayores cargas parasitarias entre los protozoarios fueron de *Entamoeba* spp., mientras que entre los helmintos fueron las de *S. stercoralis* (cuadro 4).

Factores asociados a la presencia de parásitos

Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la presencia de *Entamoeba* spp. en las lechugas y las variables de suministro de agua de acequias, presencia de perros y pozo séptico (cuadro 5).

Se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre *Isospora* spp. y las variables de uso de compost, presencia de perros y de babosas. Cabe resaltar que se encontró una fuerte correlación entre la contaminación de la lechuga por este parásito y la presencia de perros en el predio al aplicar la corrección de la V de Cramer (cuadro 5).

El 100 % de las muestras de lechuga positivas para *S. stercoralis* provenía de predios donde se hacía un manejo manual de las lechugas, asociación que fue estadísticamente significativa. También, se encontró asociación estadísticamente

significativa entre las muestras de lechuga positivas para *Toxocara* spp. y el hecho de no emplear biodigestores (cuadro 5).

Discusión

Como la mayoría de los estudios sobre la contaminación de la lechuga con parásitos se ha hecho en ferias y supermercados, las comparaciones forzosamente se hicieron con base en ellos, a pesar de que el presente estudio se desarrolló en fincas dedicadas a su producción.

En el presente estudio, los resultados sobre la contaminación de la lechuga con enteroparásitos (100 %) concuerdan con lo reportado por otros autores, como Cantos (100 %) en Florianópolis, Estado de Santa Catarina (11), y Santos, *et al.* (95 %), en Salvador, Estado de Bahía, ambos en Brasil (2).

En las muestras examinadas, la proporción de *Entamoeba* spp. (95,4 %) fue superior a la encontrada en otros estudios. En Brasil, Sena-Barnabé, *et al.*, reportaron una contaminación de 21 % de las muestras con quistes de *Entamoeba coli* y de 5 % con *E. histolytica* en Sao Paulo (12); en Ipatinga, Silva, *et al.*, informaron 60 % de contaminación parasitaria, principalmente con quistes de *Entamoeba* spp. (13); en Curitiba, Montanher, *et al.*, reportaron *E. histolytica* en el 2 % de las muestras analizadas (1), en tanto que en Costa Rica, Monge, *et al.*, encontraron 3,8 % de contaminación con *E. histolytica* (14).

Cuadro 3. Proporción de enteroparásitos en las muestras de lechuga examinadas

Parásito	Muestras positivas por localidad									
	Gualmatán		La Laguna		Chávez		Fray Bartolomé		Total (n)	Total (%)
	n	%	n	%	n	%	n	%		
Protozoarios										
<i>Entamoeba</i> spp.	15	14,29	18	17,14	63	60	4	3,81	100	95,24
<i>Isospora</i> spp.	0	0	19	18,10	51	48,57	5	4,76	75	71,43
<i>Eimeria</i> spp.	1	0,95	0	0	4	3,81	0	0	5	4,76
Helmintos										
<i>Strongyloides stercoralis</i>	0	0	16	15,24	44	41,90	5	4,76	65	61,90
<i>Toxocara</i> spp.	13	12,38	5	4,76	10	9,52	2	1,90	30	28,57

Cuadro 4. Porcentajes de carga parasitaria por campo

Parásito	Ninguno	1 a 3 por campo	4 a 7 por campo	Más de 7 por campo
Protozoarios				
<i>Entamoeba</i> spp.	4,76	19,04	47,61	28,57
<i>Isospora</i> spp.	28,57	61,90	9,52	0
<i>Eimeria</i> spp.	95,23	4,76	0	0
Helmintos				
<i>Strongyloides stercoralis</i>	38,09	42,85	4,76	14,28
<i>Toxocara</i> spp.	71,42	28,57	0	0

Cuadro 5. Asociaciones entre los enteroparásitos encontrados en las muestras de lechuga y los aspectos relacionados con el manejo de suelos y cultivos y la sanidad en los predios

Parásito	Variable			Asociación						
				χ^2		Test de Fisher		V de Cramer		
				Valor	p	Valor	p	Valor	p	
<i>Entamoeba</i> spp.	Acequia			4,764	0,008	8,808	0,013	0,258	0,008	
	No	0	5							5
	Sí	60	40							100
	Total	60	45							105
<i>Entamoeba</i> spp.	Perros			4,764	0,008	8,808	0,013	0,258	0,008	
	No	5	0							5
	Sí	40	60							100
	Total	45	60							105
<i>Entamoeba</i> spp.	Pozo séptico			2,979	0,029	6,693	0,058	0,213	0,029	
	No	0	5							5
	Sí	50	50							100
	Total	50	55							105
<i>Isoospora</i> spp.	Compost			11,352	0,0001	19,786	0,0001	0,354	0,0001	
	No	30	0							30
	Sí	50	25							75
	Total	80	25							105
<i>Isoospora</i> spp.	Perros			25,831	0,0001	29,390	0,0001	0,517	0,0001	
	No	25	5							30
	Sí	20	55							75
	Total	45	60							105
<i>Isoospora</i> spp.	Babosas			8,409	0,002	9,743	0,002	0,304	0,002	
	No	20	10							30
	Sí	25	50							75
	Total	45	60							105
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Manipulación			5,998	0,003	10,062	0,007	0,285	0,003	
	No	5	35							40
	Sí	0	65							65
	Total	5	100							105
<i>Toxocara</i> spp.	Biodigestores			8,229	0,002	15,264	0,001	0,307	0,002	
	No	55	20							75
	Sí	30	0							30
	Total	85	20							105

En cuanto a los protozoarios, en este estudio se evidenció una proporción de *Isoospora* spp. (71,43 %) en la lechuga superior a la reportado en otros sitios de Latinoamérica: por ejemplo, Devera *et al.*, reportaron 2 % en Ciudad Bolívar, Venezuela (3); Osaki, *et al.*, informaron de una contaminación de 7,7 % con ooquistes de coccidios (15), y Tanata informó 30,76 % de contaminación con *Isoospora* spp. en Lima, Perú (16). También, se encontró *Eimeria* spp. (4,76 %) en este estudio, lo cual no es frecuente, como se informa en otros estudios (13,15,16).

Strongyloides stercoralis se encontró en 61,9 % de las muestras, una proporción superior a lo reportado en trabajos similares. Por ejemplo, Ono, *et al.*, encontraron *Strongyloides* sp. en 28,50 % de las muestras en Guarapuava, Estado Paraná, Brasil (17), en tanto que Devera, en Ciudad Bolívar, Venezuela, registró un 15,70 % de *S. stercoralis* (3), y Muñoz, *et al.*, informaron 6,40 % de *Strongyloides* sp. en La Paz, Bolivia (18).

Toxocara spp. se encontró en el 28,57 % de las muestras examinadas, a diferencia de otros estudios que no reportan su presencia en la lechuga (17,18).

En cuanto a la determinación de la asociación entre la presencia de enteroparásitos en la lechuga y la variable de suministro de agua de acequias, quebradas y ríos, los hallazgos de este estudio ratifican los de Campos, *et al.*, quienes evaluaron el comportamiento de los indicadores de contaminación fecal en diferentes tipos de agua de la sabana de Bogotá y encontraron microorganismos, entre ellos, huevos de helmintos y protozoos de importancia en salud pública (19). Mora, *et al.*, en el municipio de Montes, Estado Sucre, Venezuela, encontraron protozoarios, *Trichuris* sp., ancilostomídeos, *Hymenolepis* sp. y *Paramecium* sp., entre otros agentes, después de analizar muestras superficiales de afluentes de los ríos Orinoco, Quebrada Seca y San Juan (20). En otro estudio en muestras de pozos de agua escolares en Trujillo, Perú, se identificaron parásitos como *Giardia lamblia*, *Blastocystis hominis*, *E. coli*, *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium* spp. y *Balantidium coli*. Sin embargo, no se encontraron ni huevos ni larvas de helmintos (21). En un estudio en el municipio de El Rosal, Cundinamarca, se tomaron muestras de aguas residuales crudas y se encontró contaminación con huevos de *Ascaris* sp. en 70 % de las muestras y de tricocéfalos, en 10 % de ellas (4).

Por otra parte, la presencia de babosas en los cultivos puede relacionarse con parásitos que actúan como vectores mecánicos. En estudios realizados en la región de Valparaíso, Chile, para detectar especies del caracol *H. aspersa* y la babosa *D. reticulatum*, se encontraron ooquistes en mezclas de muestras de deposiciones de caracoles y babosas, cuyas características concordaban con las observadas en las especies de *Cryptosporidium* spp. (22).

El contacto directo de la mayoría de las hortalizas con la tierra húmeda favorece la contaminación con formas evolutivas de los parásitos, como los quistes de protozoarios y los huevos y larvas de helmintos (18). Se ha demostrado que la contaminación del suelo por el riego repetido con agua contaminada por heces de animales contrarresta los factores ambientales adversos y permite que los agentes patógenos permanezcan viables en la tierra durante dos meses o más, especialmente en áreas húmedas y sombreadas (23), debido a que las bacterias y los parásitos depositados en el suelo, principalmente en las heces, se inmovilizan y se fijan en un sitio específico (24). La contaminación fecal del suelo o el agua son los factores más importantes en

la propagación de los parásitos intestinales, especialmente en las regiones pobres donde no hay servicios sanitarios, pues permite que los huevos y las larvas de helmintos y protozoarios eliminados en las heces se desarrollen hasta ser infecciosas (11).

Los agentes parasitarios hallados en este estudio se relacionan en gran medida con la presencia de animales domésticos y con actividades humanas que se convierten en una fuente de contaminación permanente y tienen implicaciones para la salud pública por su gran potencial para provocar enfermedades gástricas debidas al consumo de alimentos crudos no tratados adecuadamente; además, los productores desconocen los riesgos de la exposición de las hortalizas a las heces, aguas no tratadas y animales domésticos, como los perros que deambulan por los cultivos o las vacas que se comen los residuos después de la cosecha, situación que coincide con lo encontrado por Devera, *et al.*, quienes afirman que algunas especies parasitarias pueden ser introducidas por la manipulación de los propios horticultores (3).

También, debe tenerse en cuenta que en las zonas rurales la inadecuación de los pozos sépticos debido a la falta de recursos económicos para su mantenimiento los sobrecarga y obliga a los afectados a usar otros medios, y aunque esto no necesariamente se relaciona con la contaminación microbiológica en los cultivos, sí puede suceder cuando el productor decide usar las aguas residuales sin tratamiento como fertilizante del suelo, tal como se constató en los predios investigados (18).

La asociación encontrada entre la contaminación de la lechuga con *Toxocara* spp. y el hecho de no emplear biodigestores ratifica el concepto de que su uso permite mejorar las condiciones sanitarias de la granja y reducir la propagación de parásitos y bacterias potencialmente dañinas, al eliminar y descontaminar el estiércol y otros desechos orgánicos (25).

Otro hallazgo relevante fue la presencia de *S. stercoralis*. Si bien este parásito tiene un ciclo de vida complejo y no se transmite por vía oral, sí evidencia la contaminación de los cultivos con materia fecal y conlleva el riesgo de infección por la piel, principalmente entre los habitantes de zonas rurales, con lo cual se perpetúa el ciclo del parásito (26).

Los resultados obtenidos en el presente estudio confirman que los alimentos pueden actuar como vectores de microorganismos dañinos para la

salud humana. Las hortalizas están muy expuestas a la contaminación parasitaria, y la lechuga se menciona en la mayoría de los estudios en Latinoamérica. Es el caso del estudio de Muñoz, *et al.*, en el cual la lechuga presentó la mayor cantidad de parásitos contaminantes con diez especies diferentes, seguida del tomate, el apio, la quilquiña y el berro, con nueve, la espinaca, la zanahoria y la cebolla, con ocho, y el rábano y la acelga, con siete especies (18).

Por otra parte, los parásitos intestinales en las hojas y los pies de las lechugas observados en otros estudios son motivo de preocupación (5), y alerta sobre la necesidad de implementar medidas sanitarias para el control de agentes patógenos desde el momento de la producción y la comercialización.

La producción de lechuga en el área rural del municipio de Pasto evidenció grandes fallas que se reflejan en la contaminación del producto con enteroparásitos; de ahí, la necesidad de iniciar transformaciones para adecuarla a las necesidades de los consumidores y su preferencia por alimentos más sanos, de origen natural, funcionales, y cuya producción sea amigable con el medio ambiente, sin descuidar las condiciones de vida de los trabajadores rurales y las de sus familias, como lo recomienda Fonseca (27).

El sector agropecuario, en general, y la producción primaria, en particular, requieren planes y programas para la producción de alimentos inocuos, entre ellos, la adopción de buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de manufactura y procedimientos operativos estandarizados (Fonseca J, Cleves J. Los sistemas de gestión de la calidad en la producción de ajo y cebolla en Colombia. Tercer Congreso Colombiano de Horticultura y Simposio Internacional de Cebolla y Ajo en el Trópico. Paipa: Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas; 2009. p. 174).

En Colombia, las autoridades sanitarias, las empresas comercializadoras y, en menor medida, los productores, han venido impulsando y adoptando buenas prácticas agrícolas (28). En este marco, es necesario adoptar mecanismos que permitan a los pequeños y medianos productores hortícolas desarrollar un sistema de gestión de calidad en su unidad productiva y adoptar, administrativamente y sin mayores traumatismos, acciones relacionadas con la producción, inocuidad, calidad y sostenibilidad de su actividad (Fonseca J, Vega C. Diseño del sistema de gestión de calidad para empresas ovinocultoras en el departamento de

Boyacá. Segundo Seminario Nacional y Primero Internacional en Salud y Producción Animal. Tunja: Universidad Pedagógica y Tecnológica). El proceso de desarrollo e implementación de dicho sistema requiere la elaboración de manuales sobre los aspectos administrativos, productivos y organizativos de los productores, cuyo cumplimiento debe verificarse mediante auditorías conducentes al otorgamiento de la certificación o del sello de calidad del producto o servicio; este proceso lo puede desarrollar cada productor por separado o una organización de productores (27).

Las organizaciones sociales y los gobiernos deben propender por la inocuidad en todos los eslabones de la cadena de producción y provisión de alimentos. En Colombia, el Decreto 1840 de 1994 establece que el Instituto Colombiano Agropecuario es el responsable del control sanitario en el proceso de movilización de material vegetal, así como del sistema de supervisión y certificación de la inocuidad en la producción primaria, el cual incluye el diseño de referentes normativos y procedimientos de inspección y certificación de buenas prácticas agrícolas de especies prioritarias, entre las cuales se incluyen frutas y otros vegetales de interés para el país (29).

Asimismo, en el país se cuenta con un sistema de inspección, vigilancia y control de la calidad de los recursos naturales ambientales, el cual aún no ha sido integrado y complementado, para garantizar la calidad de los recursos naturales en la producción primaria de alimentos y el control de la contaminación generada. Además, el país cuenta con la norma técnica colombiana (NTC 5400) "Buenas prácticas agrícolas para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas" y la NTC 5522 "Buenas prácticas agrícolas. Trazabilidad en la cadena alimentaria para frutas, hierbas aromáticas culinarias y hortalizas frescas", pero su adopción no ha tenido la cobertura necesaria (29). Tampoco se ha evaluado ni caracterizado la situación de los residuos de plaguicidas y contaminantes químicos y microbiológicos, y solo se cuenta con algunos estudios del ICA y de algunas universidades en torno a productos y zonas productoras específicas (29), por lo cual es necesario incluir este tema de investigación en futuras convocatorias del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y de Colciencias.

Por último, la implementación de planes de mejoramiento con los productores de la región exige crear y ejecutar convenios con Corponariño para

la inspección, la vigilancia y el control ambiental regionales; capacitar a los inspectores ambientales de las corporaciones autónomas regionales (CAR); fortalecer los laboratorios especializados mediante protocolos para la determinación de microorganismos patógenos, y capacitar los productores en la implementación de buenas prácticas agrícolas mediante la intervención del SENA y SOHOFRUCOL, siguiendo los parámetros de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO/OMS), la GLOBAL G.A.P., la guía de minimización de riesgos de la FDA, la norma NTC 5400 de Colombia y otras. Esto permitiría intervenir en aspectos relevantes, como el control integral de plagas y el uso de biodigestores, que en este estudio resultaron asociados con la presencia de enteroparásitos. Teniendo en cuenta que estos procesos requieren tiempo, los consumidores de hortalizas deberán tomar medidas higiénicas preventivas, principalmente su lavado y desinfección.

Agradecimientos

Al Grupo de Investigación de Medicina Interna y Farmacología Veterinaria, al Laboratorio de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Nariño y a los propietarios de los predios rurales de las veredas en que se desarrolló el estudio, por su colaboración.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

Financiación

Este trabajo fue financiado con recursos propios de los autores.

Referencias

1. **Montanher C, Camargo C, Fontoura-Da-Silva SE.** Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em restaurantes self-service por quilo da cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. *Estud Biol.* 2007;29:63-71.
2. **Santos NM, Sales EM, Dos Santos AB, Damasceno KA, The TS.** Avaliação parasitológica de hortaliças comercializadas em supermercados e feiras livres no município de Salvador/Ba. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas.* 2009;8:146-52.
3. **Devera R, Blanco Y, González, García L.** Parásitos intestinales en lechugas comercializadas en mercados populares y supermercados de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2006;26:100-7.
4. **Ortiz C.** Prevalencia de huevos de helmintos en lodos, agua residual cruda y tratada, provenientes de un sistema de tratamiento de aguas residuales del municipio el Rosal, Cundinamarca (tesis). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2010. p. 125.
5. **Santos F, Cabrera GP.** A alface (*Lactuca sativa*) como fonte de infecção por enteroparasitas em alguns municípios brasileiros (tesis). Minas Gerais: Universidade Vale do Rio Doce; 2011. p. 16. Fecha de consulta: 6 de marzo de 2014. Disponible en: <http://srvwebbib.univale.br/pergamum/tcc/Aalfacelactucasativacomofontedeinfeccaooporenteroparasi tasemalgunsmunicipiosbrasileiros.pdf>
6. **Quevedo F, Michanie S, Gonzáles S.** Actualización de enfermedades transmitidas por alimentos. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 1990.
7. **Pérez G.** Formación de escuelas saludables: estudio de parásitos intestinales en niños de la provincia de Trujillo (Perú) (tesis). Granada: Universidad de Granada; 2007.
8. **Traviezo-Valles LE, Salas A, Lozada C, Cárdenas E, Martín J, Agobian G.** Detección de enteroparásitos en lechugas que se comercializan en el estado de Lara, Venezuela. *Rev Méd-Cient "Luz Vida".* 2013;4:7-11.
9. **Vélez A.** Guías de Parasitología Veterinaria. Medellín: Exitodinámica Editores; 1995.
10. **Instituto Colombiano Agropecuario.** Manejo fitosanitario del cultivo de hortalizas – Medidas para la temporada invernal. Bogotá: Instituto Colombiano Agropecuario; 2012. Fecha de consulta: 6 de marzo 2014. Disponible en: <http://www.ica.gov.co/getattachment/e16a4b6e-d0fa-49da-a400-dc31e40fe643/-nbs;Manejo-fitosanitario-del-cultivo-de-hortaliz.aspx>.
11. **Cantos Ga, Soares B, Maliska C, Gick D.** Estruturas parasitárias encontradas em hortaliças comercializadas em Florianópolis, Santa Catarina. *News Lab.* 2004;66:154-63. Fecha de consulta: 6 de marzo 2014. Disponible en: http://www.newslab.com.br/ed_anteriores/66/ESTRUTURAS.pdf.
12. **Sena-Barnabé A, Nogueira-Ferraz RR, de Carvalho-Pincinato E, Ferreira-Gomes RC, Brassea-Galleguillos TG, Zabeu-Cerqueira M, et al.** Análisis comparativo de los métodos para la detección de parásitos en las hortalizas para el consumo humano. *Rev Cubana Med Trop.* 2010;62:24-34.
13. **Silva D, De Brito J, Carvalho M.** Avaliação parasitológica em amostras de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em supermercados de Ipatinga, Minas Gerais. *Nutrir Gerais, Ipatinga.* 2012;6:933-44.
14. **Monge R, Chinchilla M, Reyes L.** Estacionalidad de parásitos y bacterias intestinales en hortalizas que se consumen crudas en Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 1996;44:369-75.
15. **Osaki Sc, De Moura Ab, Zulpo DI, Calderon F.** Enteroparasitas em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na cidade de Guarapuava. *Ambiência Guarapuava (PR).* 2010;6:89-96.
16. **Tananta I, Chávez A, Casas E, Suárez F, Serrano E.** Presencia de enteroparásitos en lechuga (*Lactuca sativa*) en establecimientos de consumo público de alimentos del distrito del Cercado de Lima. *Rev Inv Vet Perú.* 2004;15:157-62.
17. **Ono L, Zulpo D, Peretti J, García J.** Ocorrência de helmintos e protozoários em hortaliças cruas comercializadas no município de Guarapuava, Paraná, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina,* 2005;26:543-6.

18. **Muñoz-Ortíz V, Laura N.** Alta contaminación por enteroparásitos de hortalizas comercializadas en los mercados de la ciudad de La Paz, Bolivia. *BIOFARBO*. 2008;16:1-8.
19. **Campos-Pinilla C, Cárdenas-Guzmán M, Guerrero-Cañizares A.** Comportamiento de los diferentes indicadores de contaminación fecal en diferente tipo de aguas de la sabana de Bogotá (Colombia). *Universitas Scientiarum*. 2008;13:103-8.
20. **Mora L, Martínez I, Figuera L, Segura M, Del Valle G.** Protozoarios en aguas superficiales y muestras fecales de individuos de poblaciones rurales del municipio Montes, estado Sucre, Venezuela. *Invest Clin*. 2010;51:457-66.
21. **Pérez-Cordón G, Rosales M, Valdéz R, Vargas-Vásquez F, Córdova O.** Detección de parásitos intestinales en agua y alimentos de Trujillo, Perú. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 2008;25:144-8.
22. **Neira P, Muñoz N, Stanley B, Gosh M, Rosales J.** *Cryptosporidium parvum* en gastrópodos silvestres como bioindicadores de contaminación fecal en ecosistemas terrestres. *Rev Chil Infectol*. 2010;27:211-8. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182010000300006>
23. **Johnston L, Jaykus L, Moll D, Martínez M, Anciso J, Mora B.** A field study of the microbiological quality of fresh produce. *J Food Prot*. 2005;68:1840-7.
24. **Blumenthal UJ, Peasey A, Ruiz-Palacios G, Mara DD.** Guidelines for wastewater reuse in agriculture and aquaculture: Recommended revisions based on new research evidence. *WELL Study*. Loughborough: Loughborough University; 2000. p. 67.
25. **Preston TR.** Los biodigestores en los sistemas agrícolas ecológicos. *Leisa Revista de Agroecología*. 2005;21:18-22.
26. **Carrada-Bravo T.** *Strongyloides stercoralis*: ciclo vital, cuadros clínicos, epidemiología, patología y terapéutica. *Rev Latinoamer Patol Clin*. 2008;55:88-110.
27. **Fonseca J, Muñoz N, Cleves J.** El sistema de gestión de calidad: elemento para la competitividad y la sostenibilidad de la producción agropecuaria colombiana. *RIAA*. 2011;2:9-22.
28. **Montañéz S.** Diseño del sistema de certificación de conformidad de producto para BCS Oko garantie (tesis). Duitama: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia; 2009.
29. **Consejo Nacional de Política Económica y Social.** Documento Conpes 3514. Política nacional fitosanitaria y de inocuidad para las cadenas de frutas y otros vegetales. Bogotá D.C.: CONPES; 2008.

ARTÍCULO ORIGINAL

Factores asociados a la mortalidad por enfermedades no transmisibles en Colombia, 2008-2012

Julio César Martínez

Grupo de Evaluación del Riesgo e Inocuidad de Alimentos, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. Las enfermedades no transmisibles son la principal causa de muerte y discapacidad en el mundo.

Objetivo. Describir la tendencia de la mortalidad por enfermedades no transmisibles y explorar la asociación con ciertos factores de riesgo en Colombia entre el 2008 y el 2012.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo y se analizó la tendencia de las tasas de mortalidad a partir del registro oficial de estadísticas vitales (certificados de defunción) entre el 2008 y el 2012.

Resultados. Durante el periodo de estudio, 727.146 defunciones se atribuyeron a enfermedades no transmisibles, y 58,5 % de ellas ocurrieron en hombres menores de 75 años. La tasa de mortalidad durante el periodo de estudio fue de 319,5 muertes por 100.000 habitantes. La tendencia mostró un patrón de descenso estadísticamente significativo, aunque muy leve (-3 %), en todo el territorio nacional. Por cada mujer fallecida por lesiones de causa externa (no relacionada con enfermedad o edad), cinco hombres fallecieron en las mismas circunstancias (razón de probabilidades, OR=5,295; IC_{95%} 5,143-5,454). Las cinco primeras causas de muerte fueron: las enfermedades del sistema circulatorio, las agresiones, los tumores malignos, las enfermedades de las vías respiratorias inferiores y los accidentes de transporte.

Conclusiones. Las causas de mortalidad difirieron significativamente según el sexo y la edad. Las principales causas de muerte en Colombia fueron las enfermedades del corazón y las agresiones (homicidios). La mortalidad por lesiones de causa externa fue mayor en los hombres de todas las edades que en las mujeres, y la mayor probabilidad de morir se concentró en el grupo de 15 a 45 años.

Palabras clave: mortalidad/tendencias; causa de muerte; cardiopatías; salud pública; estadísticas vitales.
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3069>

Factors associated to mortality by non-communicable diseases in Colombia, 2008-2012

Introduction: Non-communicable diseases are the leading cause of premature mortality and disability in the world.

Objective: To describe the trend pattern and to explore which risk factors were associated with mortality rates in Colombia from 2008 to 2012.

Materials and methods: A descriptive study was conducted to analyze mortality rate trends from the official vital statistics (death certificates) from 2008 to 2012.

Results: Between 2008 and 2012 there were 727,146 deaths due to non-communicable diseases, and 58.5% of them occurred among men aged less than 75 years. The mortality rate during the study period was 319.5 deaths per 100,000 people. The trend showed a statistically significant decline in mortality rates (-3%) across the country. For each woman who died due to external causes (i.e., not related to illness or old age), five men died under the same circumstances (OR=5,295; IC 95%: 5,143-5,454). The five most important causes of mortality were heart diseases, injuries due to aggressions, malignant tumors, chronic lower respiratory diseases and road traffic accidents.

Conclusion: The cause of death differed significantly by sex and age. The main causes of death in Colombia were heart diseases and injuries (homicide). Mortality was higher among men of all ages than among women, but 15 to 45 year-old males were more likely to die due to external causes.

Key words: Mortality/trends; cause of death; heart diseases; public health; vital statistics.
doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3069>

Las enfermedades no transmisibles se perfilan como un problema de salud pública creciente en todo el mundo, pues constituyen la principal causa de mortalidad y discapacidad, y ocasionan

más muertes que todas las otras causas combinadas. En el 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS) señaló que, de los 56 millones de defunciones ocurridas, 38 millones (63 %)

se atribuyeron directamente a enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes y enfermedades respiratorias crónicas. Cerca de tres cuartas partes (28 millones) ocurrieron en países con bajos y medianos ingresos. El informe reveló, además, que de los 38 millones de vidas perdidas en el 2012 por enfermedades no transmisibles, 16 millones (42 %) fueron defunciones prematuras y evitables (antes de los 70 años), lo cual evidencia un aumento importante con respecto a los 14,6 millones de muertes ocurridas durante el 2000 (1).

La epidemia global de este tipo de enfermedades ha afectado de manera acelerada a todas las regiones del mundo desde el año 2000, aunque el aumento ha sido mayor en el sureste asiático y en el Pacífico occidental (1). En la región de las Américas, estas enfermedades continúan siendo la principal causa de muerte y discapacidad, y representan una carga de más de 3,9 millones de vidas humanas perdidas cada año, es decir, cerca del 75 % del total de las muertes en la región. Aunque no se dispone de cifras exactas para la región de las Américas, se estima que el número de personas con una enfermedad no transmisible es considerable y que muchas padecen varias de dichas enfermedades, o padecen una simultáneamente con alguna enfermedad infecciosa, como la tuberculosis, asociada principalmente con la diabetes, el tabaquismo o el abuso de alcohol (2).

Los cambios demográficos y en los estilos de vida en los países de la región, cuyas poblaciones han pasado de ser predominantemente jóvenes a crecientemente envejecidas, han ubicado los factores de riesgo de las enfermedades no transmisibles en niveles nunca antes registrados. En el 2011, el 10 % de la población de América Latina y el Caribe estaba constituido por personas mayores de 60 años, y se estima que dicha cifra aumente a 25 % antes del 2050 (3). Existe una gran variedad de factores de riesgo biológicos (obesidad, sexo, edad, etc.) y conductuales (sedentarismo, tabaquismo, etc.) que influyen en las poblaciones (2).

Por otra parte, las desigualdades sociales, económicas y de sexo entre los países y dentro de ellos, constituyen factores determinantes de la

exposición al riesgo, la debilidad de los sistemas de salud, la falta de acceso a la atención y los tratamientos oportunos, lo cual se suma a la falta de recursos financieros y afecta particularmente a las personas más vulnerables aquejadas por una o varias enfermedades no transmisibles (4).

La evolución de la mortalidad evidencia la combinación de los problemas característicos de las condiciones de vida de las poblaciones y los conflictos propios de los países en desarrollo. Además, los patrones de mortalidad están cambiando el perfil epidemiológico de algunos grupos específicos. Según el informe del 2012 sobre la situación de salud en Colombia, entre las enfermedades no transmisibles, las neoplasias malignas linfáticas y sanguíneas constituyen las primeras causas de muerte en la población escolar y adolescente (de 5 a 9 y de 10 a 19 años de edad, respectivamente) (5).

Entre los adultos jóvenes (de 20 a 29 años de edad) y los adultos (de 30 a 64 años de edad), los eventos caracterizados como de causa externa, principalmente los de causa violenta, y los accidentes de transporte terrestre han registrado un incremento considerable y se han convertido en uno de los principales problemas de salud pública en el país, tanto que registran uno de los índices más altos de violencia de los países de la región (5). Se estima que cerca del 15 % de los sucesos violentos se deben a causas políticas y, el 85 % restante, a conflictos cotidianos.

Por otro lado, las enfermedades no transmisibles, entre ellas las enfermedades isquémicas del corazón, las cerebrovasculares, las crónicas de las vías respiratorias, la hipertensión y la diabetes, continúan siendo las principales causas de muerte en adultos de 65 o más años de edad (5,6). La información sobre las causas de muerte permite determinar la magnitud de los problemas de salud de una población, definir políticas y programas en el sector de la salud, y hacer seguimiento y evaluación del impacto que producen las enfermedades en una determinada población (7,8). En un sentido más amplio, mediante esta información se pueden evidenciar los avances en el cumplimiento a nivel mundial de las metas establecidas en el plan de acción global para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles (1).

En este sentido, el estudio de la tendencia de la mortalidad por estas enfermedades aporta información epidemiológica que permite explorar la

Correspondencia:

Julio César Martínez, Avenida Calle 26 N° 51-20, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (571) 220 77 00
jucer1023@hotmail.com

Recibido: 30/09/15; aceptado: 21/04/16

relación de sus posibles factores de riesgo en el contexto del país y, además, detectar los sectores de la población más afectados, con el fin de proponer programas y estrategias más efectivas de promoción y prevención.

El objetivo de este trabajo fue describir la tendencia de la mortalidad por enfermedades no transmisibles y explorar su asociación con ciertos factores de riesgo, durante el periodo comprendido entre el 2008 y el 2012.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo para caracterizar la mortalidad por enfermedades no transmisibles en Colombia entre el 2008 y el 2012, a partir de los certificados individuales de defunción registrados en la base oficial de datos del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), única fuente secundaria de información utilizada, la cual fue suministrada por el Observatorio Nacional de Salud del Instituto Nacional de Salud.

Para determinar la causa básica de muerte, se tomó la Clasificación Internacional de Enfermedades en su décima revisión (CIE-10); se tuvieron en cuenta las enfermedades no transmisibles responsables del mayor número de defunciones agrupadas en las cinco grandes categorías establecidas por la Organización Panamericana de la Salud (Lista 6/67, OPS): neoplasias (tumores) (C00-D48); enfermedades del sistema circulatorio (I00-I99); enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores (J40-J47); diabetes mellitus (E10-E14), y lesiones de causa externa (V01-Y89).

El universo incluía 989.865 defunciones por todas las causas; se analizaron los 727.146 registros de defunciones cuya causa básica de muerte eran las enfermedades no transmisibles, de los cuales se excluyeron aquellos en los que no se determinaba el sexo o los de personas que residían en el extranjero. La población de análisis para la variable de edad fue de 724.035, debido a que 3.111 registros carecían de este dato en la casilla correspondiente en la base de datos.

Se incluyeron todas las defunciones cuyas variables cumplieran con una integridad de información superior a 70 %. La integridad de las variables se determinó con base en la proporción de datos recopilados frente a aquellos sin información o no diligenciados. En cuanto a las variables de sexo, código de departamento y de municipio, y causa básica de defunción, la integridad de los datos fue total. En la variable de edad, la integridad fue de

99,5 %, en la de nivel educativo, de 74,6 %, en la de área de residencia, de 97,2 %, y en la variable de régimen de afiliación al sistema general de seguridad social en salud, de 94,0 %.

Mediante un análisis univariado se caracterizó el comportamiento de las defunciones registradas según las siguientes variables sociodemográficas: año de la defunción, número de muertes agrupadas en las cinco grandes categorías de enfermedades no transmisibles, grupos de edad, sexo, departamento de residencia habitual, código de causa básica de defunción, nivel educativo, grupo étnico, área de residencia y tipo de afiliación al sistema general de seguridad social en salud.

El análisis se hizo calculando las frecuencias relativas y absolutas, así como las tasas de mortalidad por 100.000 habitantes y por año; como denominador se empleó la población proyectada a mitad de periodo de los respectivos grupos de edad reportadas por el DANE para los años de estudio. Se establecieron cuatro grupos de edad (14 años o menos; 15 a 45 años; 45 a 64 años y 65 o más años).

Se hizo un análisis bivariado para explorar la relación de las características sociodemográficas con la probabilidad de muerte entre hombres y mujeres, siendo el sexo la variable dependiente; se aplicaron pruebas de ji al cuadrado para las asociaciones y un análisis de regresión logística para determinar la probabilidad de muerte por enfermedades no transmisibles en hombres; el nivel de significación se estableció en menos de 5 %.

El procesamiento de los datos y el análisis de la información se hicieron mediante el paquete estadístico R Studio, versión 0.99.878, con apoyo de los componentes de Microsoft Office 2010.

Resultados

Entre el 2008 y el 2012, se registraron en Colombia 989.865 defunciones por todas las causas, de las cuales 727.146 (75 %) se atribuyeron directamente a enfermedades no transmisibles. La tasa de mortalidad global en los cinco años de estudio fue de 319,5 fallecidos por 100.000 habitantes; la tasa más alta se observó en el 2008 con 325, y se presentó una leve reducción a lo largo de los tres años siguientes, para volver a aumentar en el 2012 a 316 muertes por 100.000 habitantes (figura 1).

Las enfermedades del sistema circulatorio aportaron el mayor número de defunciones, con una tasa de mortalidad global de 129,8, seguidas

por las neoplasias (tumores) y las lesiones de causa externa, con 78,3 y 72,2 por cada 100.000 fallecidos, respectivamente. Por otra parte, las tasas de mortalidad por año debidas a enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores y diabetes mellitus presentaron variaciones mínimas desde el inicio del periodo de estudio, con una tendencia constante a la disminución (figura 2).

De los registros asociados a muertes por enfermedades no transmisibles, 454.452 (62 %) contaban con la información completa para la caracterización sociodemográfica. Al considerar el sexo, las defunciones se presentaron con mayor frecuencia en la población masculina (58,5 %). En cuanto al nivel educativo, el 40,9 % de las personas fallecidas contaba con un nivel básico de educación y el 78,5 % residía en la cabecera municipal. En relación con el tipo de afiliación al sistema general de seguridad social en salud, el 43,2 % (n=313.729) pertenecía

al régimen subsidiado, el 34,6 % (n=251.937), al régimen contributivo, y el 13,2 % (n=95.808) no estaba afiliado. El 78,4 % de las personas fallecidas se clasificaba en la categoría de otros grupos étnicos, con una proporción de 5,6 % de la población que se reconocía como negra, mulata, afrocolombiana o afrodescendiente. En cuanto a los grupos de edad, se encontró una mayor proporción de fallecimientos en el grupo de adultos mayores (de 65 o más años), con 58,2 %, seguido por el de adultos medios (de 44 a 64 años), con 20,6 %, y el de adultos jóvenes (de 15 a 44 años), con 19,4 % (cuadro 1).

La variación proporcional de la mortalidad global por enfermedades no transmisibles según el ente territorial de residencia del fallecido en los cinco años de estudio presentó tres patrones importantes: un descenso estadísticamente significativo en las tasas de mortalidad en Vichada, La Guajira, César, Chocó, Santander, Arauca, Atlántico, Risaralda, Caldas y Caquetá; un aumento estadísticamente significativo en Putumayo, Casanare, Guainía, Santa Marta, D.E., Córdoba, Bolívar, Sucre, Archipiélago de San Andrés y Providencia, Tolima y Amazonas, en tanto que en Nariño, Quindío y Vaupés no se observó variación de la mortalidad proporcional (cuadro 2).

Durante el periodo de estudio, las diez primeras causas ocasionaron más del 70 % (n=316.631) de los fallecimientos en hombres, principalmente por enfermedades isquémicas del corazón y causas externas como las agresiones (homicidios), cada una con 19 %, las enfermedades cerebrovasculares y las enfermedades crónicas de las vías inferiores, con 7 % cada una, y los accidentes de transporte, con el 6 %. Las enfermedades isquémicas del corazón continuaron aportando la mayor carga de mortalidad en ambos sexos, siendo mayor entre las mujeres, con 22 % (n=65.073) del total de las defunciones, seguidas por las enfermedades cerebrovasculares, con 12 % (n=37.379), y las enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores, con 8 % (cuadro 3).

Al considerar las principales características socio-demográficas de las personas fallecidas, se encontró una asociación significativa entre el sexo y las muertes por enfermedades no transmisibles. Las lesiones de causa externa siguieron cobrando vidas con mayor probabilidad en los hombres, mientras que el comportamiento de las enfermedades del sistema circulatorio fue muy similar en ambos sexos ($\chi^2=34,247$; $p<0,001$).

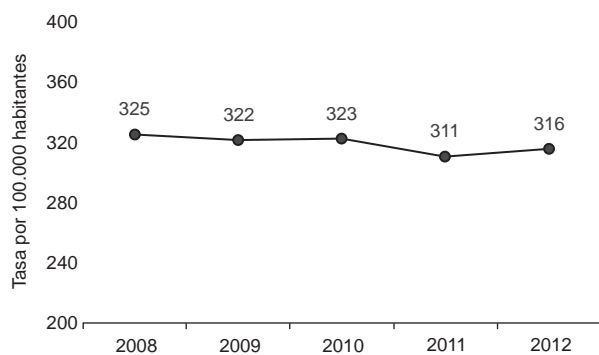


Figura 1. Tendencia de las tasas de mortalidad global por enfermedades no transmisibles en Colombia, 2008-2012

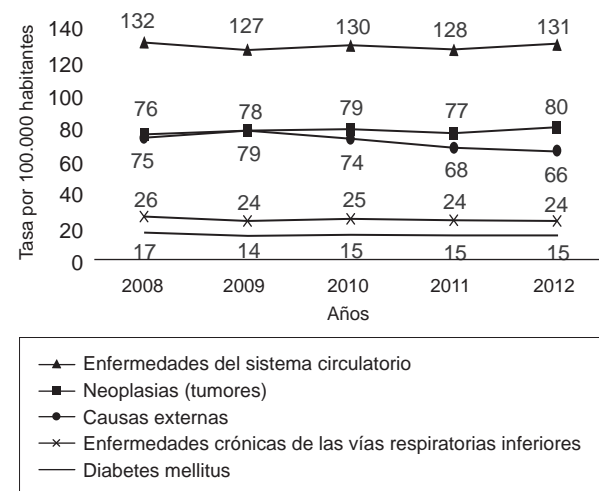


Figura 2. Tendencia de la mortalidad por grupos de enfermedades no transmisibles en Colombia, 2008-2012

Cuadro 1. Comportamiento de las características sociales y demográficas de las defunciones por enfermedades no transmisibles, Colombia, 2008-2012

Variable	Categoría	Casos	%
Sexo	Hombre	424.997	58,5
	Mujer	302.149	41,5
Nivel educativo	Total general	727.146	100
	Sin escolaridad	100.863	13,8
	Básica primaria	297.237	40,9
	Básica secundaria	66.419	9,1
	Educación media*	46.283	6,4
	Educación superior**	31.795	4,4
	Sin información	184.549	25,4
Área de residencia	Total general	727.146	100
	Cabecera municipal	570.524	78,5
	Centro poblado***	43.237	5,9
	Rural disperso	92.774	12,8
	Sin información	20.611	2,8
Grupo étnico	Total general	727.146	100
	Indígena	8.608	1,2
	Negro****	40.984	5,6
	Palenquero de San Basilio	291	0,04
	Raizal del Archipiélago de San Andrés y Providencia	744	0,1
	Rom (gitano)	1.153	0,2
	Otros	570.141	78,4
	Sin información	105.225	14,5
	Total general	727.146	100
Régimen de afiliación al SGSSS	Contributivo	251.937	34,6
	Subsidiado	313.729	43,2
	Especial	3.433	0,47
	Excepción	18.394	2,5
	No afiliado	95.808	13,2
	Sin información	43.845	6,03
Grupos de edad (años) [§]	Total general	727.146	100
	14 o menos	13.339	1,8
	15 a 44	140.428	19,4
	45 a 64	148.885	20,6
	65 o más	421.383	58,2
	Total general	724.035	100

Fuente: DANE. Estadísticas vitales. Colombia

*Educación media: incluye media académica, media técnica y normalista

**Educación superior: incluye técnica profesional, tecnológica, universitaria y posgrados

***Centro poblado: incluye inspección, corregimiento o caserío

****Negro: incluye mulato, afrocolombiano o afrodescendiente

§ No se incluyeron 3.111 individuos en los que no se determinó la edad.

SGSSS: Sistema General de Seguridad Social en Salud

En cuanto al nivel educativo, no se observaron diferencias significativas, pero sí una diferencia importante entre los hombres fallecidos no escolarizados y las mujeres (15 y 22 %, respectivamente; $p < 0,001$).

Más del 80 % ($\chi^2=1,674$; $p < 0,001$) de las muertes debidas a este grupo de afecciones crónicas ocurrieron en las grandes ciudades del país, lo que indica que la residencia en la cabecera municipal implicó una alta probabilidad de enfermar o de morir por enfermedades crónicas no transmisibles, dada la importante exposición a un gran número de factores de riesgo.

Ser mujer y tener 65 años o más podría entrañar un factor de riesgo inherente de muerte por enfermedades no transmisibles, lo cual quedaría corroborado en este estudio al encontrar una mayor proporción de muertes en este grupo comparado con el de los hombres (69 y 54 %, respectivamente; $\chi^2=18,143$; $p < 0,001$).

En cuanto a la pertenencia étnica reportada, no se observaron cambios importantes por sexo (cuadro 4).

El análisis de regresión logística simple mostró una asociación estadísticamente significativa entre el sexo, la edad (distribuida por grupos) y la mortalidad

Cuadro 2. Tasas de mortalidad global por enfermedades no transmisibles según el ente territorial de residencia habitual, Colombia, 2008-2012

Ente territorial	Tasa de mortalidad por 100.000 habitantes/año					Variación (2012 Vs. 2008) (%)	Razón de probabilidad (OR) de la mortalidad (2012 Vs. 2008)	IC _{95%}
	2008	2009	2010	2011	2012			
Amazonas	128	128	133	139	133	4	1,04	(0,78-1,38)
Antioquia	375	388	384	363	356	-5	0,95**	(0,93-0,97)
Arauca	329	310	316	263	298	-10	0,90**	(0,82-1,00)
Atlántico	202	193	167	143	183	-10	0,90**	(0,85-0,96)
Archipiélago de San Andrés y Providencia	224	195	243	246	236	5	1,05	(0,85-1,30)
Barranquilla, D.E.	336	325	309	277	330	-2	0,98	(0,94-1,03)
Bogotá, D.C.	278	263	278	279	283	2	1,02	(1,00-1,04)
Bolívar	177	178	174	175	193	9	1,09**	(1,02-1,16)
Boyacá	389	361	371	370	378	-3	0,97	(0,93-1,01)
Caldas	478	427	451	435	445	-7	0,93**	(0,89-0,97)
Caquetá	275	276	275	277	255	-7	0,93	(0,86-1,01)
Casanare	225	223	260	258	260	15	1,15**	(1,04-1,27)
Cartagena, D.E.	239	253	226	209	231	-3	0,97	(0,91-1,03)
Cauca	288	275	275	274	274	-5	0,95**	(0,91-1,00)
Cesar	268	250	242	240	231	-14	0,86**	(0,81-0,91)
Chocó	188	186	160	165	163	-13	0,87**	(0,79-0,96)
Córdoba	215	239	228	241	243	13	1,13**	(1,08-1,18)
Cundinamarca	324	305	321	322	322	-1	0,99	(0,96-1,02)
Guainía	86	93	123	110	99	14	1,14	(0,72-1,82)
La Guajira	133	140	139	122	113	-15	0,85**	(0,78-0,92)
Guaviare	210	259	230	160	211	1	1,01	(0,84-1,22)
Huila	332	333	323	314	324	-2	0,98	(0,93-1,02)
Magdalena	234	242	218	204	226	-4	0,96	(0,90-1,03)
Meta	360	331	352	346	347	-4	0,96	(0,92-1,01)
Nariño	270	282	281	271	270	0	1,00	(0,96-1,04)
Norte de Santander	359	358	360	349	366	2	1,02	(0,98-1,06)
Putumayo	189	186	200	219	221	17	1,17**	(1,05-1,30)
Quindío	468	465	474	451	470	0	1,00	(0,95-1,06)
Risaralda	463	438	444	427	430	-7	0,93**	(0,89-0,97)
Santa Marta, D.E.	290	307	286	300	330	14	1,14**	(1,06-1,23)
Santander	351	337	353	310	316	-10	0,90**	(0,87-0,93)
Sucre	235	260	254	227	247	5	1,05	(0,99-1,12)
Tolima	421	414	427	422	439	4	1,04**	(1,01-1,08)
Valle del Cauca	410	418	413	406	405	-1	0,99	(0,97-1,01)
Vaupés	111	129	113	124	111	0	1,00	(0,67-1,51)
Vichada	195	143	140	130	130	-33	0,67**	(0,51-0,88)
Total nacional	325	322	323	311	316	-3	0,97**	(0,97-0,98)

Fuente: DANE. Estadísticas vitales. Colombia

** Significación de 95 %

global por enfermedades no transmisibles. Se observó que, por cada mujer fallecida por lesiones de causa externa, cinco hombres murieron bajo las mismas circunstancias (OR=5,295; IC_{95%} 5,143-5,454). En cuanto a los grupos de edad, por cada dos hombres fallecidos entre los 14 y los 44 años, moría una mujer (OR=2,408; IC_{95%} 2,298-2,524). No se presentaron diferencias significativas relacionadas con el grado de escolaridad o la pertenencia étnica (cuadro 5).

Discusión

Entre el 2008 y el 2012 se presentaron en Colombia 989.865 defunciones, de las cuales el 75 % (727.146) tuvo como causa básica de muerte una

enfermedad no transmisible. En este contexto, dichas enfermedades adquieren una gran importancia, ya que son responsables de un alto porcentaje de muertes, muchas de ellas prematuras, o anteriores al cumplimiento de la esperanza de vida (70 años). La tasa de mortalidad global por estas enfermedades en el país durante los cinco años de estudio fue de 319,5 fallecimientos por 100.000 habitantes.

Al comparar las muertes agrupadas en las cinco grandes categorías de enfermedades no transmisibles con los reportes anteriores, se pudo observar que las enfermedades del sistema circulatorio tuvieron un aumento importante en

Cuadro 3. Principales causas de mortalidad por enfermedades no transmisibles según sexo, Colombia, 2008-2012

Hombres			Mujeres		
Causa de la muerte	Casos	%	Causa de la muerte	Casos	%
Enfermedades isquémicas del corazón	81.252	19	Enfermedades isquémicas del corazón	65.073	22
Agresiones (homicidios), incluidas secuelas	80.047	19	Enfermedades cerebrovasculares	37.379	12
Enfermedades cerebrovasculares	31.600	7	Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	25.607	8
Enfermedades crónicas de las vías respiratorias inferiores	29.889	7	Diabetes mellitus	19.754	7
Accidentes de transporte terrestre, incluidas secuelas	25.226	6	Enfermedades hipertensivas	16.381	5
Enfermedades hipertensivas	15.017	4	Otros tumores malignos	12.726	4
Diabetes mellitus	14.787	3	Tumor maligno de la mama	11.507	4
Tumor maligno del estómago	13.823	3	Enfermedad cardiopulmonar y de la circulación pulmonar	11.042	4
Otros tumores malignos	12.786	3	Tumor maligno del útero	10.261	3
Tumor maligno de la próstata	12.204	3	Tumor maligno del estómago	8.855	3
Otras causas	108.366	25	Otras causas	83.564	28
Total general	424.997	100	Total general	302.149	100

Fuente: DANE. Estadísticas vitales. Colombia

la carga de la mortalidad a partir de 1991, con 107,9, seguido por un ligero descenso a 103,7 en el 2001 (9), aunque primó la tendencia al aumento hasta alcanzar una tasa de mortalidad de 129,8 por 100.000 habitantes entre el 2008 y el 2012. El ligero descenso se podría explicar por la disminución significativa de la mortalidad debida a insuficiencia cardíaca e hipertensión arterial, en tanto que las enfermedades isquémicas del corazón y las enfermedades cerebrovasculares presentaron un notable incremento en las tasas de mortalidad (10). Este grupo de enfermedades continúa siendo la primera causa de muerte en el país, lo cual implica, además, una enorme carga en términos de costos financieros y sociales. Este comportamiento coincide con los informes de la Organización Panamericana de la Salud para la región de las Américas en el 2007, con cifras cercanas a 1,5 millones de defunciones debidas a enfermedades cardiovasculares (2).

El análisis de las características sociales y demográficas de los fallecimientos por enfermedades no transmisibles corrobora los resultados obtenidos en otros estudios, pues la afiliación al sistema general de seguridad social en salud influye en la posibilidad de acceso a los servicios de salud y a los programas de protección específicos, de detección temprana y de atención de enfermedades de interés en salud pública, aunque en el modelo de salud actual dicho acceso es más limitado para los afiliados al régimen subsidiado, lo cual evidencia que las personas llegan a los centros especializados estatales en

una distribución inversa a la de los países de ingresos altos y en estadios más avanzados de su enfermedad, con las consecuentes repercusiones en el pronóstico y en el ámbito económico (11,12). Los resultados de la regresión logística para esta variable presentaron diferencias estadísticamente significativas e indicaron que existe un mayor riesgo en las personas que no estaban afiliadas a ningún régimen de seguridad social en salud.

Según los resultados, hay diferencias importantes entre vivir en la ciudad y en el área rural: se observó un mayor riesgo de muerte por estas enfermedades en las personas que residían habitualmente en el área rural, lo cual podría responder al grado de accesibilidad a la prestación de los servicios de salud, así como a las deficiencias producto del déficit presupuestal del sector de la salud y de la limitada oferta en los territorios alejados de los centros urbanos (12,13). Sin embargo, también se ha reportado que en las áreas urbanas los factores de riesgo ambiental, los estilos de vida, la ingestión excesiva de alcohol, el hábito de fumar, los patrones de consumo alimentario no saludable, la actividad física insuficiente y una mayor prevalencia de la obesidad (14), influyen considerablemente en el desarrollo de las enfermedades no transmisibles.

En el periodo de estudio se presentó en Colombia una tendencia estadísticamente significativa, aunque muy leve (-3 %), al descenso en la mortalidad por enfermedades no transmisibles. El patrón de las defunciones debidas a dichas enfermedades presentó diferencias estadísticas según regiones.

Cuadro 4. Factores asociados a la mortalidad por enfermedades no transmisibles según sexo, Colombia, 2008-2012

	Sexo				χ^2	p
	Hombre		Mujer			
	Frecuencia	%	Frecuencia	%		
Enfermedades no transmisibles						
Causa externa	66.810	26,33	11.384	5,67	34.247 (4)	<0,001
Diabetes mellitus	9.740	3,84	12.788	6,37		
Enfermedades de las vías respiratorias inferiores	18.811	7,41	16.972	8,46		
Enfermedades del sistema circulatorio	96.466	38,01	93.442	46,56		
Neoplasias (tumores)	61.934	24,41	66.105	32,94		
Total general	253.761	100	200.691	100		
Grado de escolaridad						
Básica primaria	137.661	54,25	112.305	55,96	5.814 (4)	<0,001
Básica secundaria	35.215	13,88	21.904	10,91		
Educación media	24.160	9,52	13.281	6,62		
Educación superior	18.080	7,12	9.361	4,66		
Sin escolaridad	38.645	15,23	43.840	21,84		
Total general	253.761	100	200.691	99,99		
Grupo étnico						
Indígena	3.710	1,46	2.967	1,48	203 (5)	<0,001
Negro*	17.232	6,79	11.553	5,76		
Palenquero de San Basilio	122	0,05	88	0,04		
Raizal del Archipiélago de San Andrés y Providencia	287	0,11	215	0,11		
Rom (gitano)	458	0,18	384	0,19		
Otros	231.952	91,41	185.484	92,42		
Total general	253.761	100	200.691	100		
Lugar de residencia						
Cabecera municipal	202.215	79,69	169.339	84,4	1.679 (2)	<0,001
Centro poblado**	16.291	6,42	10.125	5,05		
Rural	35.255	13,89	21.169	10,55		
Total general	253.761	100	200.633	100		
Tipo de afiliación al SGSSS						
Contributivo	99.527	39,22	88.119	43,91	4.989 (4)	<0,001
Subsidiado	107.765	42,47	89.985	44,84		
Especial	1.259	0,5	1.140	0,57		
Excepción	8.721	3,44	5.598	2,79		
No asegurado	36.489	14,38	15.849	7,9		
Total general	253.761	100,01	200.691	100,01		
Edad						
14 o menos años	4.781	1,88	3.346	1,67	18.143 (3)	<0,001
15 a 44 años	57.154	22,52	16.609	8,28		
45 a 64 años	53.998	21,28	41.815	20,84		
65 o más años	137.828	54,31	138.921	69,22		
Total general	253.761	99,99	200.691	100		

*: incluye mulato, afrocolombiano o afrodescendiente

**: incluye inspección, corregimiento o caserío

Fuente: DANE. Estadísticas vitales. Colombia

En cuanto al porcentaje de variación de las tasas de mortalidad en el 2008 comparadas con las del 2012, se observó una disminución significativa en algunos departamentos menos desarrollados como Vichada y Chocó, pero en otros, como Putumayo, Casanare y Guanía, persistieron altas tasas de mortalidad. Además, se registraron reducciones en la costa Caribe, particularmente en La Guajira, César y Atlántico, así como en Santander. Por el

contrario, en entes territoriales de mayor desarrollo, como Santa Marta, D.E., Córdoba, Bolívar, Sucre y el archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, se observó una tendencia significativa al incremento, con cambios superiores al 5 % en promedio. Estos hallazgos evidencian diferencias importantes entre las entidades territoriales con relación al grado de desarrollo que han alcanzado a través del tiempo (9).

Cuadro 5. Análisis de regresión logística simple de la mortalidad global por enfermedades no transmisibles, Colombia, 2008-2012

	Parámetro	Error estándar	Prueba de Wald	p	Razón de probabilidad (OR)	IC _{95%}
Edad (años)						
Intercepto	0,357	0,023	250.708	<0,001	1.429	(1.366 - 1.495)
15 a 44	0,879	0,024	1.318.868	<0,001	2.408	(2.298 - 2.524)
45 a 64	-0,101	0,023	18.602	<0,001	0.904	(0.864 - 0.946)
65 o más	-0,365	0,023	254.683	<0,001	0.694	(0.664 - 0.726)
Enfermedades no transmisibles						
Intercepto	0,103	0,011	94.429	<0,001	1.108	(1.085 - 1.133)
Causa externa	1,667	0,015	12.927.984	<0,001	5.295	(5.143 - 5.454)
Diabetes mellitus	-0,375	0,017	480.399	<0,001	0.687	(0.665 - 0.711)
Enfermedades del sistema circulatorio	-0,071	0,012	37.889	<0,001	0.931	(0.910 - 0.954)
Neoplasias (tumores)	-0,168	0,012	197.004	<0,001	0.845	(0.826 - 0.865)
Grado de escolaridad						
Intercepto	0,658	0,013	2.672.441	<0,001	1.931	(1.882 - 1.981)
Básica primaria	-0,455	0,013	1.159.435	<0,001	0.635	(0.618 - 0.651)
Básica secundaria	-0,183	0,015	142.491	<0,001	0.832	(0.809 - 0.858)
Educación media	-0,060	0,017	12.864	<0,001	0.942	(0.911 - 0.974)
Sin escolaridad	-0,784	0,015	2.918.364	<0,001	0.456	(0.443 - 0.470)
Grupo étnico						
Intercepto	0,327	0,140	5.456	0,020	1.386	(1.054 - 1.825)
Indígena	-0,103	0,142	0.528	0,467	0.902	(0.683 - 1.192)
Negro*	0,073	0,140	0.271	0,602	1.076	(0.818 - 1.415)
Raizal del Archipiélago de San Andrés y Providencia	-0,038	0,166	0.052	0,820	0.963	(0.695 - 1.333)
Rom (gitano)	-0,150	0,156	0.930	0,335	0.860	(0.634 - 1.169)
Ninguno de los anteriores	-0,103	0,140	0.543	0,461	0.902	(0.686 - 1.187)
Lugar de residencia						
Intercepto	0,476	0,013	1.412.436	<0,001	1.609	(1.569 - 1.651)
Cabecera municipal	-0,299	0,013	521.139	<0,001	0.742	(0.723 - 0.761)
Rural	0,034	0,015	5.038	0,025	1.035	(1.005 - 1.065)
Tipo de afiliación al SGSSS						
Intercepto	0,443	0,017	670.085	<0,001	1.558	(1.506 - 1.610)
Contributivo	-0,322	0,018	328.621	<0,001	0.725	(0.700 - 0.751)
Subsidiado	-0,263	0,018	220.523	<0,001	0.769	(0.742 - 0.796)
Especial	-0,344	0,044	60.241	<0,001	0.709	(0.650 - 0.773)
No asegurado	0,391	0,020	397.478	<0,001	1.478	(1.422 - 1.538)

Fuente: DANE. Estadísticas vitales. Colombia

SGSSS: Sistema General de Seguridad Social en Salud

* Negro: incluye mulato, afrocolombiano o afrodescendiente

El comportamiento de la tendencia de la mortalidad global por enfermedades no transmisibles debe interpretarse con cautela y atendiendo a varias razones, así como a la calidad y la cobertura de las fuentes de información. Por otro lado, los entes territoriales con menor población e incrementos importantes influyeron sobre la tendencia global a nivel nacional.

Las causas de defunción difirieron notoriamente según el sexo: en general, la mayor proporción de muertes por enfermedades no transmisibles se registró en la población masculina de todos los grupos de edad. Las enfermedades cardiovasculares como causa de la muerte han aumentado de forma rápida y hoy ocupan el primer lugar

en Colombia y el mundo, principalmente las enfermedades isquémicas del corazón, las cerebrovasculares y las hipertensivas (15). Al comparar los hallazgos de este estudio con los reportados por el Observatorio Nacional de Salud sobre mortalidad evitable en Colombia entre 1998 y 2011, se pudo confirmar que a partir del 2005 las muertes evitables por enfermedad cardiovascular superaron las lesiones intencionales como principal causa de muerte en la población colombiana (16).

En el grupo de hombres de 15 a 45 años se registró el mayor número de muertes por las siguientes causas externas: agresiones (homicidios) y sus secuelas, lesiones por arma de fuego y arma corto-punzante, y accidentes de transporte. Esta

tendencia se ha informado en otros estudios y concuerda con los datos oficiales sobre la violencia en Colombia publicados por el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses en el 2013, los cuales documentan una tendencia similar a la del 2012, con 13.119 homicidios (92 %) ocurridos en hombres, en tanto que 1.163 (8 %) afectaron a mujeres, es decir, diez hombres por cada mujer asesinada.

Estas cifras reflejan la carga de esta causa en la mortalidad prematura, particularmente en este grupo de población (6,17,18), y concuerdan con las registradas para la región de las Américas en el 2014, según las cuales la tasa ajustada de mortalidad por causa externa alcanzó 100 muertes por cada 100.000 hombres, en comparación con una tasa ajustada de 26,6 muertes por 100.000 mujeres, siendo las agresiones la principal causa de muerte en el grupo de las lesiones de causa externa (19). El análisis de regresión logística arrojó un valor estadísticamente significativo, por lo cual se podría afirmar que hay relación entre morir por causa externa y pertenecer al sexo masculino, y que el riesgo de fallecer por causa violenta en los hombres adultos es cinco veces superior al de las mujeres.

Las defunciones por diabetes mellitus fueron más frecuentes en las mujeres, con 7 % (n=19.754) (20). En términos generales, el comportamiento de la mortalidad por año debida a esta enfermedad crónica tuvo variaciones mínimas con tendencia a la disminución y la tasa de mortalidad promedio se mantuvo en 15,2 muertes por 100.000 habitantes a lo largo de los cinco años de estudio; no obstante, esta cifra podría ser mayor dado al subregistro reconocido de esta enfermedad, ya que la mitad de las personas que la padecen desconoce su condición, o quienes la conocen mueren por sus complicaciones, las cuales, al ser más notorias, se registran en los certificados de defunción como causa básica de la muerte (21).

Las neoplasias (tumores) como causa de muerte continúan en ascenso. En este estudio se encontró que el cáncer de mama era la séptima causa de muerte entre las enfermedades no transmisibles, con 4 % (n=11.507), y constituían la primera causa de muerte por cáncer en las mujeres colombianas, lo cual coincide con otros análisis de tendencia de esta enfermedad en Colombia y con las estimaciones de la *International Agency for Research on Cancer*, IARC, en su reporte anual del 2012 para Colombia, en el cual se registraban 2.649 muertes

por esta causa y una tasa de mortalidad ajustada por edad de 10,8 por 100.000, lo cual perfila este tipo de cáncer como un problema creciente de salud pública (22-24).

En el caso de los hombres, aunque los tumores malignos en estómago y próstata aparecían como la octava y la décima causas de muerte (3 %, n=13.823 y 3 %, n=12.404, respectivamente), estos continúan aportando una carga considerable a la mortalidad por neoplasias malignas en la población masculina. Estos datos se vieron corroborados por un estudio en Medellín, en el cual se encontró que en el 2008 el cáncer de estómago entrañaba el mayor riesgo de morir (17,8 por 100.000 habitantes), seguido por el de pulmón (15,3 por 100.000) y el de próstata (14,6 por 100.000) (25).

El 58,2 % de las muertes por enfermedades no transmisibles se presentó en el grupo de mayores de 65 años, pues a medida que las personas avanzan en edad están más expuestas a factores desencadenantes, y además, debe considerarse su acumulación a lo largo de la vida, lo cual incrementaría el riesgo de padecer una o varias de estas enfermedades (26). La mortalidad en la población adulta mostró diferencias importantes entre hombres y mujeres; la enfermedad isquémica del corazón y la agresión por arma de fuego fueron los eventos de interés en salud pública que aportaron las mayores tasas de mortalidad en Colombia (27,28). La población masculina de todas las edades registró un riesgo más alto, sobre todo en el grupo de edad de 15 a 45 años. La tasa de mortalidad es un indicador de gran interés político, ya que expresa muertes evitables, innecesarias y prematuras, y puede orientar sobre posibles deficiencias en la accesibilidad y la oportunidad en la prestación de los servicios de salud.

Las limitaciones del estudio se refieren principalmente a la fuente de información. En la mayoría de países de las Américas la cobertura del sistema de registro de hechos vitales es incompleta, y en algunos es necesario precisar más los datos de mortalidad disponibles. El registro de defunciones de los países de la región en los últimos tres años con información disponible (alrededor del 2000), sitúa a Colombia con un subregistro estimado de 24,6 % en el periodo de 1997 a 1999, lo que dificulta la comparación con la situación de otros países y entre las regiones del país (29).

Aunque se hizo una revisión exhaustiva para detectar las inconsistencias y los errores debidos al mal diligenciamiento de la información en

cualquiera de las etapas del registro estadístico de los nacimientos y defunciones (por ejemplo, la inadecuada codificación de la causa básica de muerte) (30), en este estudio no se tuvieron en cuenta las inconsistencias encontradas con base en la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10). También, se debe mencionar que hubo registros que no se incluyeron en todos los análisis, particularmente aquellos que carecían del dato sobre la edad, la cual no se pudo determinar en 3.111 fallecidos. De igual manera, el 62 % (n=454.452) del total de certificados de defunción con causa de muerte por enfermedades no transmisibles tenía información completa sobre las variables sociodemográficas para el análisis bivariado.

Además, para comparar las tasas de mortalidad por ente territorial, solo se estimó la tasa global de las enfermedades no transmisibles, lo cual no permitió discriminar la mortalidad según los grupos de dichas enfermedades y, por consiguiente, no se pudo determinar cuáles eran los entes territoriales más críticos, es decir, aquellos con las tasas específicas de mortalidad más elevadas según los cinco grandes grupos establecidos por la Organización Panamericana de la Salud (Lista 6/67, OPS). El análisis de las causas de la reducción o el aumento en las tasas de mortalidad estaba fuera del alcance del presente estudio, pues se hubiera requerido un examen más detallado para evidenciar la relación de las variaciones con las medidas implementadas.

Agradecimientos

Al Observatorio Nacional de Salud del Instituto Nacional de Salud, por facilitar las bases de datos con las cifras oficiales consolidadas a partir de las estadísticas vitales del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) para el periodo de 2008 a 2012; a Alberto Rodríguez, por el tratamiento estadístico de los datos, y a Sandra Misnaza, del equipo funcional de enfermedades no transmisibles del Instituto Nacional de Salud, por los espacios de discusión y enriquecimiento en el proceso formativo.

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflicto de intereses en relación con la preparación y publicación de este manuscrito.

Financiación

No se recibió financiación para la elaboración de este artículo.

Referencias

1. **World Health Organization.** Global status report on noncommunicable diseases 2014. Fecha de consulta: 1º de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/en/>.
2. **Organización Panamericana de la Salud.** Enfermedades no transmisibles en las Américas: construyamos un futuro más saludable, 2011. Fecha de consulta: 1º de marzo de 2015. Disponible en: http://www.borderhealth.org/files/res_2126.pdf.
3. **Comisión Económica para América Latina y el Caribe.** Población y salud en América Latina y el Caribe: retos pendientes y nuevos desafíos, 2010. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/22422/S2010205_es.pdf?sequence=1.
4. **Centro de Investigación y Docencia Económica.** Non-communicable chronic diseases in the Americas: An economic perspective on health policies. The economic, fiscal and welfare implications of chronic diseases in the Americas, 2010. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.cide.edu/publicaciones/status/dts/DTE%20488.pdf>.
5. **Organización Panamericana de la Salud.** Salud de las Américas. Colombia, 2012. Fecha de consulta: 10 de mayo de 2015. Disponible en: http://www.paho.org/Saludenlasamericas/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=197&Itemid=
6. **Cardona D, Agudelo HB.** Tendencias de mortalidad en población adulta, Medellín, 1994-2003. *Biomédica.* 2007;27: 352-63. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v27i3.198>
7. **World Health Organization.** Summary measures of population health: Concepts, ethics, measurement and applications, 2002. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2002/9241545518.pdf>.
8. **Bonita R, Beaglehole R, Kjellström T.** Basic epidemiology. Second edition. Geneva: WHO; 2007. p. 212.
9. **González M.** Mortalidad por enfermedades crónicas no transmisibles en Colombia de 1990 a 2001. *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2007;12:177-87.
10. **González M, De la Hoz F.** Mortalidad por enfermedades cardiovasculares en Colombia durante el período de 1990 a 1999. *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2003;7:417-39.
11. **Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo.** Avance y retos para el logro de los Objetivos de Desarrollo del Milenio en Colombia, 2014. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.undp.org/content/dam/undp/library/MDG/english/MDG%20Country%20Reports/Colombia/informeanualodm2014.pdf>.
12. **Velásquez LC, Carrasquilla G, Roca S.** Equidad en el acceso al tratamiento para el cáncer de mama en Colombia. *Salud Pública Méx.* 2009;51(Supl.2):S246-53.
13. **Velásquez LC, Carrasquilla G, Roca S.** Equidad en la acceso en la detección del cáncer de seno en Colombia. *Rev Salud Pública.* 2008;10:571-82. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642008000400007>

14. **Hall SA, Kaufman JS, Millikan RC, Ricketts TC, Herman D, Savitz DA.** Urbanization and breast cancer incidence in North Carolina, 1995-1999. *Ann Epidemiol.* 2005;15:796-803. <http://dx.doi.org/10.1016/j.annepidem.2005.02.006>
15. **Observatorio Nacional de Salud.** Informe 3. Mortalidad evitable en Colombia para 1998-2011. 2014. Fecha de consulta: 1º de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/ons/SiteAssets/Paginas/publicaciones/Informe3-ME-ONS-Definitivo.pdf>.
16. **Chaparro P, Castañeda C, León W, De la Hoz F.** Cardiovascular disease mortality among under 75 years old population: An analysis in Colombia of 1998-2011 period. *Int J Health Sci Res.* 2015;5:325-38.
17. **Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.** Comportamiento del homicidio, Colombia, 2013. Fecha de consulta: 20 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.medicinalegal.gov.co/documents/10180/188820/FORENSIS+2013+2-+homicidio.pdf/2af79b03-2a12-4341-a9a7-c3d9a251c38f>.
18. **Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses.** Comportamiento de muertes y lesiones por accidente de transporte, Colombia, 2013. Fecha de consulta: 20 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.medicinalegal.gov.co/documents/10180/188820/FORENSIS+2013+4-+accidentes+de+transporte.pdf/51867e30-9ab5-4a15-8363-f2232d2c86ae>.
19. **Organización Panamericana de la Salud.** Situación de salud en las Américas: Indicadores Básicos de Salud, 2014. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: http://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=578:situacion-de-salud-en-las-americas-indicadores-basicos-de-salud-2014&catid=681:publicaciones-y-otros-recursos&Itemid=1005.
20. **Montoya YM, Grisales H, Sepúlveda D.** Mortalidad por diabetes mellitus, Medellín, 1987-1998. *Rev Fac Nac Salud Pública.* 2004;22:47-60.
21. **Organización Panamericana de la Salud.** La mitad de las personas tiene diabetes y no lo sabe, 2013. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: http://www.paho.org/arg/index.php?option=com_content&view=article&id=1264%3AAla-mitad-personas-que-tienen-diabetes-no-saben&catid=332%3Aarg02-prevencion-y-control-de-enfermedades&Itemid=510.
22. **Piñeros M, Hernández G, Bray F.** Increasing mortality rates of common malignancies in Colombia, an emerging problem. *Cancer.* 2004;101:2285-92. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.20607>
23. **Piñeros M, Gamboa O, Hernández G, Pardo C, Bray F.** Patterns and trends in cancer mortality in Colombia 1984-2008. *Cancer Epidemiol.* 2013;37:233-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2013.02.003>
24. **International Agency for Research on Cancer.** GLOBOCAN: 2012 estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. Colombia. Fecha de consulta: 11 de julio de 2015. Disponible en: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.
25. **Bustamante LM, Marín SJ, Cardona D.** Mortalidad por cáncer: segunda causa de muerte del adulto mayor en Medellín, 2002-2006. *Rev Fac Nac Salud Pública.* 2012;30:17-25.
26. **Soriano JL, Carrillo G, Arrebola JA, Martín A.** El cáncer en la tercera edad. *Rev Cub Oncología.* 1995;11:64-70.
27. **Observatorio Nacional de Salud.** Informe técnico, IV edición. Violencia homicida en Colombia 2014. Fecha de consulta: 1º de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/ons/SiteAssets/Paginas/publicaciones/4to%20Informe%20ONS.pdf>.
28. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Indicadores básicos. Situación de salud en Colombia, 2012. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/ibs%202012.pdf>.
29. **Organización Panamericana de la Salud.** Sobre la estimación de tasas de mortalidad para países de la Región de las Américas. *Boletín Epidemiológico.* 2003;24:1-5. Fecha de consulta: 20 de julio de 2015. Disponible en: http://cidbimena.desastres.hn/docum/ops/publicaciones/Epidemiologico/EB_v24n4.pdf.
30. **Departamento Administrativo Nacional de Estadística.** Metodología. Estadísticas vitales. 2012. Fecha de consulta: 13 de julio de 2015. Disponible en: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/fichas/Estadisticas_vitales12.pdf.

ORIGINAL ARTICLE

Years of life lost as a measure of cancer burden in Colombia, 1997-2012

Esther de Vries^{1,2}, María Ximena Meneses¹, Marion Piñeros³

¹ Subdirección de Investigaciones, Vigilancia Epidemiológica, Promoción y Prevención, Instituto Nacional de Cancerología, Bogotá, D.C., Colombia

² Departamento de Epidemiología Clínica y Bioestadística, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

³ Section of Cancer Surveillance, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France

Introduction: There is hardly any information regarding years of life lost due to cancer in Colombia.

Objective: To quantify total and average years of life lost due to cancer in Colombia, and to investigate changes in this burden between 1997 and 2012.

Materials and methods: We obtained sex-specific data on age distribution, remaining life expectancy, deaths due to specific cancers and total number of deaths from the Colombian *Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas*. We calculated years of life lost based on each individual's age at death and the remaining life expectancy at that age; as for average years of life, we divided these by the number of deaths due to specific cancers.

Results: The total number of cancer deaths increased by 33% between 1997 and 2012, comprising 15% of male and 20% of female deaths in the period 2010-2012. Total years of life lost due to cancer increased by 25.1% for males and 31.1% for females over the study period. The highest increases (>40%) were observed for colorectal, pancreas and kidney cancers in both sexes, for melanomas and bladder cancer in men, and for breast and ovarian cancer in women. Trends in average years of life lost were stable. Almost half (48-50%) of the years of life lost due to childhood cancers were due to leukemia.

Conclusion: Cancer is an increasing health burden in Colombia. The high average years of life lost illustrate the poor prognosis of the disease compared to other countries. Primary prevention, early detection, and adequate and timely treatments are needed to change this situation.

Key words: Neoplasms; potential years of life lost/trends; cost of illness; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3207>

Años de vida perdidos como medida de la carga de cáncer en Colombia, 1997-2012

Introducción. En Colombia existe escasa información sobre los años de vida perdidos por cáncer.

Objetivo. Determinar los años de vida perdidos por cáncer en Colombia y sus cambios entre 1997 y 2012.

Materiales y métodos. La información por sexo y edad de la mortalidad por cáncer y la expectativa de vida en Colombia se obtuvo del Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE. El cálculo de los años de vida perdidos por cáncer se basó en la edad de cada individuo al momento de morir y el número de años de vida esperados en esta edad. El promedio de años de vida perdidos se obtuvo dividiendo los años de vida perdidos por el número de muertes a causa de cánceres específicos.

Resultados. Entre 1997 y 2012, el número de muertes por cáncer aumentó 33 %: 15 % en hombres y 20 % en mujeres. En el mismo periodo, el total de años de vida perdidos por cáncer se incrementó en 25,1 % en hombres y 31,1 % en mujeres. Los mayores incrementos (>40 %) se dieron en los cánceres de colon y recto, páncreas y riñón en ambos sexos, en los hombres, en el melanoma y el cáncer de vejiga, y en mujeres, en los cánceres de mama y ovario. El promedio de años de vida perdidos fue estable en el tiempo; 40 a 50 % de los años de vida perdidos por cáncer en niños se debió a leucemias.

Conclusiones. La carga de cáncer está aumentando en Colombia. El elevado promedio de años de vida perdidos demuestra que el pronóstico de la enfermedad es malo. La prevención primaria, la detección temprana, y el tratamiento adecuado y oportuno son necesarios para mejorar esta situación.

Palabras clave: neoplasias; años potenciales de vida perdidos/tendencias; costo de enfermedad; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3207>

Author's contributions:

Esther de Vries: study idea, design and writing of the manuscript

Marion Piñeros: writing and critical review of manuscript

María Ximena Meneses: critical review of manuscript

All authors analyzed and drafted the section of results and the figures.

From 1984 to 2008, overall cancer mortality rates decreased slightly in both sexes in Colombia (1). Around this same period (1985-2005), substantial demographic changes occurred in the country, including population growth (from 30.8 million to 42.9 million inhabitants) and a rapidly increasing life expectancy: 4.3 years for men and 4.8 years for women (2). Many societal changes also occurred: a large healthcare reform led to greater health insurance coverage, which passed from 59% around year 2000 to 92% in 2012 (3), and security levels increased as violent deaths substantially reduced (4).

This combination of population growth and ageing of the population usually leads to a growing cancer burden, even with relatively stable or slightly decreasing cancer mortality rates (1,5). Although age-standardized mortality rates for cancer as a whole decreased slightly, the total annual number of cancer deaths among males increased between 1984 and 1988 and between 2004 and 2008, from 8,791 to 15,417 (175% increase), and among females from 9,624 to 15,847 (165% increase) (1). This apparent discrepancy between stable or even decreasing mortality rates with increasing number of cancer deaths can be explained by population growth and ageing. Considering only the total number of cancer deaths, irrespective of age and cancer type, overlooks the fact that some cancers have a much heavier burden on society compared to others, because they occur more frequently among younger people.

Years of life lost (YLL) is a useful measure to take the age at death as well as the deaths at each age into account. The measure results from the sum of years of potential life lost by individuals in the population because of death by a certain disease, given their remaining life expectancy estimated by age and sex. The average years of life lost (AYLL) is the average number of years of life lost by each person dying from the disease under study.

Approximately 25-30% of YLL in western countries are attributed to cancers (6). While YLL depend strongly on absolute frequency of deaths, AYLL are mostly determined by the age at which the deaths occur. Together, these measures provide meaningful

indicators for decisions regarding resource allocations and design of prevention programs (7-9). They are also a useful base for comparison with other countries, and show the relative importance of different causes of death, taking into account the life expectancies of each population (10). Previous national and local Colombian studies used external life expectancy data from Japan or the Global Burden of Disease reports, considered as the "potential" life expectancy for other countries (11-13). While using a standard "ideal life expectancy" provides a useful comparison with other countries, a major limitation is that it does not reflect the actual situation of years of life lost in a given country.

The purpose of this paper was to quantify YLL and AYLL due to cancer in general and to the most important cancer types in Colombia for the most recent periods with available data (up to 2012), and to evaluate how this burden changed between 1997 and 2012 using the country's life expectancy data.

Materials and methods

Data and corrections to the data

We used Colombia's official mortality data and population denominators retrieved from the *Departamento Administrativo Nacional de Estadística*, DANE, and we analyzed the following cancer types as listed in the International Classification of Diseases, ICD-10: All cancers (C00-C96), oral cavity and pharynx (C00-C14), oesophagus (C15), stomach (C16), colorectum (C18-C20), pancreas (C25), bronchus and lung (C32-C34), breast (C50), cervix uteri (C53), ovary (C56), prostate (C61), brain and central nervous system (CNS) (C70-C72), leukemia (C91-C95), lymphomas (C81-C85, C96), melanoma (C43), kidney (C64-C65) and bladder and urinary tract cancer (C66-68). We also considered all deaths combined, regardless of the cause of death.

We redistributed deaths without information on age proportionally by sex based on the age distribution of the other cases in the same cause of death category during the corresponding period. Similarly, we redistributed deaths from unspecified uterine cancer (C55) according to the proportions of deaths for cervical cancer (C53) and cancer of the corpus uteri (C54) (14).

Analysis

We calculated annual YLL for the general population (all ages) by period and sex summing up the number of cancer deaths in a certain age group with

Corresponding author:

Esther de Vries, Carrera 21 N° 106B-82, Bogotá, D.C., Colombia
Telefax: (571) 334 1844
estherdevries77@gmail.com

Received: 26/01/16; accepted: 22/04/16

the remaining life expectancy in that age for all age groups according to the method previously explained by Brustugun, *et al.* (6), using the following formula:

$$\sum_{i0}^{80+} (\#deaths\ at\ age\ a_i) * (expected\ remaining\ life\ years\ at\ age\ a_i)$$

To provide an estimate of the YLL due to cancer as a fraction of total YLL, we also calculated a hypothetical total YLL, based on the sum of the products of the total number of deaths per age group, multiplied by the estimated length of life on each age level. We applied this same method for childhood cancers (0- 14 years).

Life expectancy among Colombian population was calculated by age group, sex and time period according to DANE's five-calendar year periods from 1997 to 2005, and from 2005 to 2015 (2). We calculated the number of deaths by cancer type, sex and age groups for the same periods based on the national mortality databases for the 1997-2012 period as provided by DANE (1997-1999; 2000-2004; 2005-2009; 2010-2012).

We calculated the AYLL by dividing the total YLL per cause by the total number of deaths due to this cause, and for each sex and period separately. We determined the changes in YLL and AYLL percentages over time as the percentage increase or decrease between 2010 and 2012 compared to the reference period (1997-1999).

Results

Overall number of cancer deaths

The total annual number of cancer deaths increased for both sexes in about 33%, from 12,292 in 1997-1999 to 16,376 in 2010-2012 in males, and from 12,687 to 17,001 in females. In the first period of the series (1997-1999), cancer comprised 12% of all male and 10% of all female deaths, while in the last period (2010-2012) it accounted for 15% and 20% of male and female deaths, respectively.

Around 3-4% of all deaths occurring in children up to 14 years of age, was due to cancer, and this proportion was stable over time. The total number of cancer deaths in children (0 to 14 years) was 1,749 in the period 1997-1999, which decreased to 1,510 in 2010-2012.

Overall years of life lost and average years of life lost

In 1997-1999, a hypothetical 534,960 (239,626 males; 295,334 females) years of life were lost due to cancer annually, and this figure increased

to 687,540 (299,874 males; 387,666 females) in 2010-2012 representing an overall increase of 28.5%: 25.1% in males and 31.1% in females. In the same period, the Colombian population grew by 24,8% (from 38.6 million in 1997 to 48.2 million in 2012) (2).

Years of life lost and average years of life lost by cancer types

Whereas YLL for any cause of death decreased markedly between 1997 and 2012 (-12% for males, and -54% for females), in this same period they increased for cancer, with 25% in males and 31% in females. For the 2010-2012 period the three most common cancer causes of YLL in men were stomach cancer (49,907), lung cancer (41,871), and leukemia (29,908), while in women they were breast cancer (61,398), cervical cancer (40,165), and stomach cancer (30,210) (figure 1). In this same period, one cancer death in Colombia represented on average 25.7 years of life lost for men and 22.8 for women, though these estimates vary significantly between cancer types.

Virtually, all cancer types showed AYLL of 15 or more years, with the exception of prostate and bladder cancer in males. The highest AYLL in both sexes corresponded to cancers occurring predominantly at young ages: Leukemia (males: 33.8, females: 36.2), cancers of the brain and central nervous system (males: 29.0, females: 30.8) and lymphomas (2010-2012: males 24.5, females 24.6) (figure 2).

We observed the highest increase in YLL for both sexes in colorectal, pancreas and kidney cancers, all by more than 40%. For males, the most substantial increases corresponded to pancreas, melanoma and bladder cancer, while in females, breast, ovarian and colorectal cancers had the largest increases (table 1).

AYLL trends remained fairly stable, except for very rare cancers such as male breast cancer; the few changes observed were generally towards lower AYLL. The largest reductions in AYLL were observed for cancers of the brain and central nervous system, melanomas, lymphomas and leukemia, where two or more years of life expectancy were gained (table 1, figure 2).

Leukemia was the main cause of YLL for children (48-50% of YLL), followed by cancers of the central nervous system (15-16%), lymphomas (6-10%) and kidney cancers (3-4%), which were stable over time; these four cancer types explained 75%

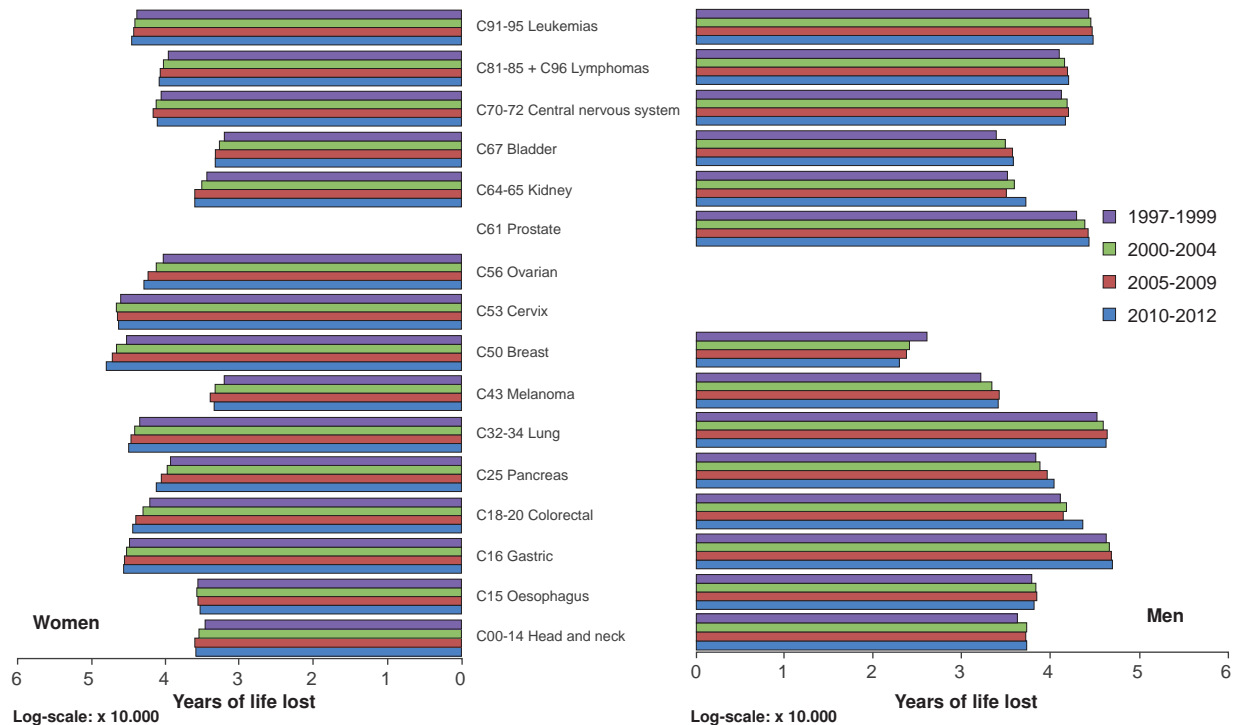


Figure 1. Years of life lost by sex and cancer types, Colombia, 1997-2012.

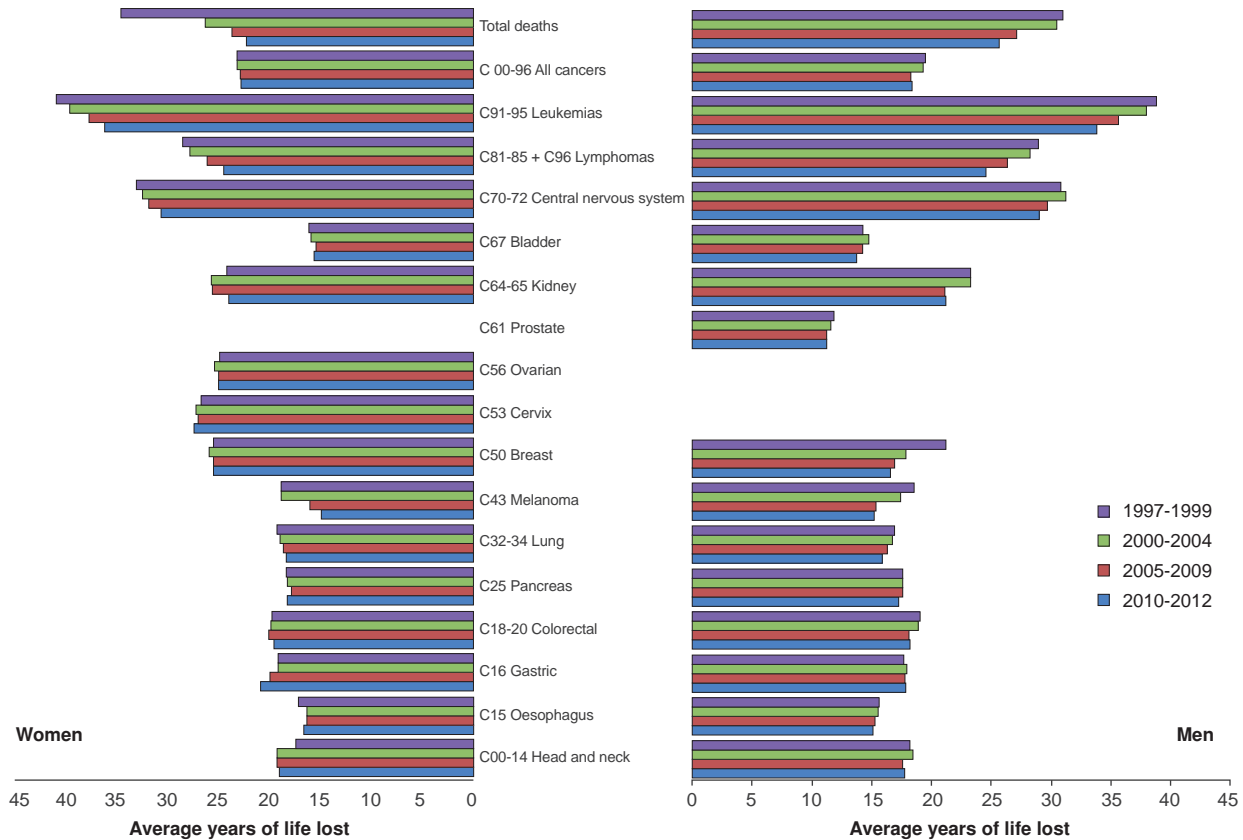


Figure 2. Average years of life lost to cancer by sex and cancer types, Colombia, 1997-2012

or more of childhood cancer deaths during the study period (figure 3). During this period, YLL for childhood cancers dropped substantially, mainly due to decreases in lymphoma- and leukemia-related YLL. YLL for childhood cancers of the central nervous system and kidney remained rather stable.

The AYLL were very similar for childhood cancer, regardless of the cancer type, varying from 67.0 for colorectal cancer to 72.9 years for kidney cancer (results not shown).

Discussion

According to our results, the contribution of cancer to the total YLL in Colombia (15-20%) was lower than the one reported for western countries (25-

30%) (6). Our estimates were also lower compared to the 2011 and 2015 Colombian studies produced by the *Observatorio Nacional de Salud* (ONS) (12,13) (table 2). Such differences are most likely due to the life expectancy tables of the Global Burden of Disease study used in ONS reports (12,13,15), which show higher life expectancy estimates, and, therefore, a higher number of YLL due to cancer. Although widely used and recommended, the disadvantage of Global Burden of Disease estimates is that they do not reflect the real number of years of life lost in local settings. Using optimal life expectancy gives a hypothetical number of life years lost, whereas in this study we were interested in the reality of the Colombian

Table 1. Change in years of life lost (YLL) and average years of life lost (AYLL) between 1997 and 2012 by cancer type and sex

Cancer types	Percentage of change in YLL, 1997-2012		Change in AYLL, 1997-2012 (years)	
	Males (%)	Females (%)	Males	Females
C00-C14 Head and neck	+ 27	+ 33	- 0.4	+ 1.6
C15 Oesophagus	+ 4	- 6	- 0.5	- 0.5
C16 Gastric	+ 20	+ 22	+ 0.2	+ 1.8
C18-C20 Colorectal	+ 84	+ 76	- 0.9	- 0.2
C25 Pancreas	+ 63	+ 57	- 0.4	- 0.2
C32-C34 Lung	+ 25	+ 44	- 1.1	- 0.9
C43 Melanoma	+ 56	+ 39	- 3.4	- 3.9
C50 Breast	- 52	+ 80	- 4.7	+ 0
C53 Cervix*	-	+ 7		+ 0.7
C56 Ovarian	-	+ 77		+ 0.1
C61 Prostate	+ 39	-	- 0.6	
C64-C65 Kidney	+ 62	+ 48	- 2.1	- 0.2
C67 Bladder	+ 56	+ 38	- 0.5	- 0.5
C70-72CNS Tumours	+ 11	+ 16	- 1.8	- 2.4
C81-C85 + C96 Lymphoma	+ 28	+ 35	- 4.4	- 4.1
C91-C95 Leukemia	+ 10	+ 16	- 4.9	- 4.8
C 00-96 All cancers	+ 25	+ 31	- 1.2	- 0.5
Total deaths	- 12	- 54	- 5.3	- 12.3

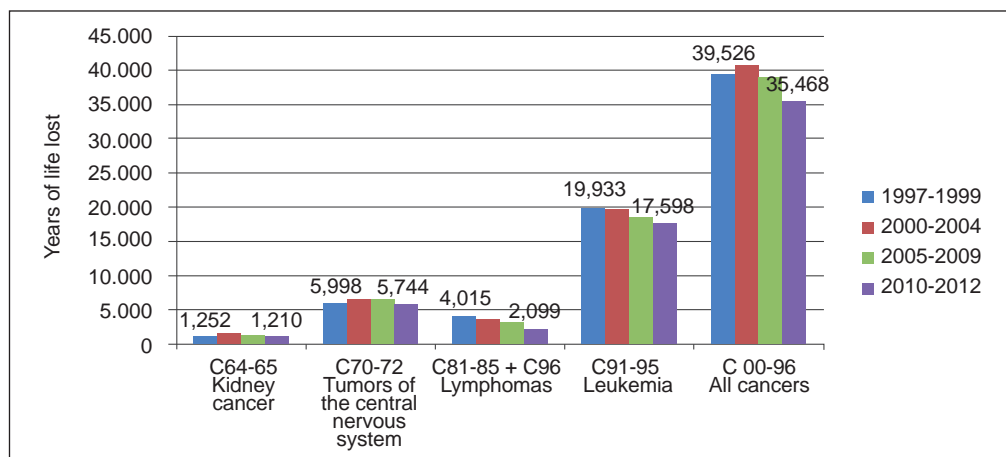


Figure 3. Years of life lost for cancers occurring during childhood (under 15 years of age), 1997-2012

Table 2. Years of life lost by cancer types according to our estimates and estimates by the *Observatorio Nacional de Salud* (ONS) (13)

Cancer types	Our estimates	ONS estimates
Stomach	86,763	100,377
Lung and bronchus	73,446	81,055
Leukemia	58,226	74,152
Breast	61,398	67,425
Colorectal	42,866	61,133
Cervix uteri	51,340	49,296
Prostate	27,507	33,485

population. In addition, the ONS reports used 1998-2011 data, and did not apply redistribution of cases with unknown age or unspecified uterine cancer cases (14) as we did following international recommendations, which could account for the higher YLL in our study.

YLL among the Colombian female population decreased, but the AYLL by cancer type was higher, largely because of women's longer life expectancy (78.5 years at birth in 2010-2012 versus 72.1 for males) (2). This is in line with the latest ONS study reporting neoplasms among the top three causes contributing to most YLL in females alone (12).

Breast and cervical cancer were very important contributors to female cancer mortality. Despite efforts to improve early detection and treatment of these cancers, YLL due to breast cancer increased substantially, with no reductions in AYLL; this indicates increasing number of breast cancer deaths with minimal improvements in age of death, as female life expectancy at birth increased by 3.6 years (from 74.95 in 1997-99 to 78.54 in 2010-12).

Virtually all cancer types showed AYLL of 15 or more years, with the exception of prostate and bladder cancer, which for 2010-12 contributed 11.3 and 13.7 years to the AYLL, respectively. In general, our results for AYLL were high when compared to international reports, which inform of less than 7 years AYLL for colorectal and breast cancer (USA), 1.8 for prostate cancer, and 13.8 for lung cancer (6,7,16). In a Polish study, only male brain cancer and cervical cancer showed more than 10 years of life lost per death (AYLL 10.7 and 10.2, respectively) (16).

Our figures, although not comparable with those from other countries due to differences in overall life expectancy and in the calculating methodologies, evidence the great disparity between estimates (less than 13.5 AYLL in the US compared to more

than 15 years in Colombia, except for prostate and male bladder cancer), and confirm that cancer prognosis in our country is relatively poor. Breast cancer in the USA was responsible for 6.3 years of life lost per death, in Colombia this figure was 25.6 years, illustrating the combined effect of a usually very late diagnosis of breast cancer and/or its more frequent occurrence. Indeed, there is evidence that in Bogotá only 12-30% of women with breast cancer were diagnosed at the early stages, and that delays are substantial both for diagnosis and initiation of treatment (17,18).

Despite a high prostate cancer incidence in Colombia (19), the AYLL due to this cancer was relatively low compared to other cancer types, though high when compared to other countries, which could be attributed to the advanced age at diagnosis, and to its relatively good prognosis.

Leukemia frequently occurs amongst children and has a poor prognosis in Colombia, explaining the very high AYLL encountered for this cancer type. Not surprisingly, all childhood cancer deaths (all cancer types) had an AYLL of around 70 years, because of the very similar remaining life expectancy during childhood.

The YLL of leukemia increased among children and among all age groups, while AYLL of all cancers decreased substantially, indicating more deaths or later ages of death. However, AYLL in childhood leukemia slightly increased (64.6 to 67.8 among girls, 72.0 to 73.9 among boys), possibly due to increases in life expectancy, which indicates that no much progress has been achieved despite the special efforts displayed by the government since 2008 to reduce administrative delays (20-22). On the other hand, it could be attributed to an increase in the number of cases, as population-based survival estimates for childhood cancer show improvements in survival even if it still remains poor in Colombia (20,22,23). Indeed, long-term data from Cali show slight increases in childhood incidence of leukemia and central nervous system cancers (24). We observed no progress at all regarding childhood cancers of the brain and central nervous system, or for kidney cancers. YLL for childhood leukemia were higher than for brain and central nervous system cancers, although this difference is decreasing; it is conceivable that if the actions to improve leukemia prognosis in Colombia are successful, these two other type of cancers will be the main cause of cancer deaths amongst children, similar to the situation observed in the USA (10).

Despite the fact that good methods exist for early detection of breast, cervical, prostate and colorectal cancer, all of these cancer types showed stable or increasing YLL and AYLL, reflecting the great potential for improvements in their early detection in Colombia.

Our AYLL for breast and cervical cancer were much higher (around 25 years) than previous national estimates for 2007 (with 14.4 YLL for breast and 14.6 for cervical cancer), probably due to differences in the life expectancy information used (25). In a study estimating the burden of disease for the Colombian department of Santander, stomach cancer appeared as the first cause of “healthy” life years lost in men, followed by leukemia and colorectal cancer, while for females the first causes were cervical, breast and stomach cancers (12). In contrast, in our study lung cancer was among the first causes in males, while in females the top causes were the same as in Santander. As smoking habits and lung cancer mortality vary heavily within Colombia (smoking prevalence was lower in Santander than the Colombian average) (26,27), regional YLL estimates will vary substantially as well. Moreover, the Santander study reported healthy life expectancy using life tables from Japan as source for remaining life expectancy, which are not comparable to those we used, and this resulted in different life expectancies and, therefore, different YLL.

The observed YLL trends, with more than 40% increase in certain cancer types, are in line with the increasing life expectancy, and, perhaps, the recent efforts to diminish poverty rates in Colombia. This is in line with the fact that cancer types with increasing YLL (breast, colorectal, pancreas, kidney, bladder cancer and melanomas) are mostly related to a more “western” lifestyle and slowly replace the traditionally high burden of infection- and poverty-related cancers, such as gastric and cervical cancers. The increasing proportion of cancer deaths in the total death toll in Colombia is due to population ageing, but also to diminishing number of deaths due to violence (from 0.1% to 0.03% over the study period).

Even though gastric cancer mortality rates have significantly decreased (1), YLL and AYLL have increased, implying that their diagnosis is very late. Anti-tobacco measures should be strengthened to further reduce the burden of lung- and other tobacco-related cancers. Early detection and screening efforts, with a close and direct access to diagnosis and treatment of abnormal results, should be able to reduce breast, cervical and colorectal cancer

mortality substantially. Even though interventions to improve survival in children with leukemia seem to be successful, survival rates are still very poor. In Cali, for example, population-based data from the cancer registry showed rates of only 55% in the most recent diagnostic period (23).

We used national mortality data, generally considered to have acceptable quality and to be among the best within Central and South America (28), particularly after redistributing the cases of unknown age and “uterus, not specified” cases. The quality of the coding in death certificates has improved over time and, therefore, misclassification may have been a larger problem in earlier periods. Indeed, the proportion of deaths with unknown age reduced over time, supporting this hypothesis. However, stable estimates or trends allow us to conclude that misclassification has been relatively minor, and it does not hinder deriving general conclusions such as those arrived at in our study.

Contrary to several previous studies, we did not use an external population to provide the expected remaining years of life at death (life expectancy from life tables), but rather the period and sex-specific life tables provided for Colombia by DANE. The advantage of this method is that it provides the most realistic YLL and AYLL estimates, as they are based on the local real life tables for the corresponding periods. In this respect, we took into account the substantial increases in life expectancy among Colombian population in calculating the trends. However, these improvements in life expectancy may hide other improvements also achieved. If deaths in recent periods occurred at the same ages as before, more potential years of life would be lost and, therefore, the trend would be negative.

Consequently, the stable trends observed may suggest an improvement, which is not apparent because of overall life expectancy improvement. Similarly, YLL increases in this study may not be so much a deterioration as a stabilization of the status quo, due to this increased general life expectancy, while AYLL decreases, mainly in leukemia, lymphomas, cancers of the central nervous system and melanomas (cancers ideally occurring at relatively young ages), actually mean even larger improvements regarding the average age at death. Indeed, in sensitivity analyses using 2010-2012 life expectancy for all periods, AYLL increased in earlier periods (i.e., more years lost given higher life expectancy). Tendencies, however, remained the same (supplementary table, available in: doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3207>)

Together with cancer incidence, mortality and survival statistics, YLL and AYLL provide information on the burden of disease in a population. With increasing life expectancy and population size, the burden of cancer in Colombia is unsurprisingly also increasing. The AYLL was very high for many cancer types, and although comparisons with other countries are difficult given their different population structures, it is clear that primary or secondary prevention, early detection and more timely and adequate treatment can prevent many cancer deaths. The marked increases in YLL observed for colorectal, breast, ovarian and pancreatic cancer are worrisome and call for urgent preventive measures. Melanoma is another largely avoidable cause of death, while the lack of progress in AYLL for childhood leukemia also gives large room for improvement. Given population growth and aging in the country, there is need of more health workers specialized in oncology and preventive medicine.

Conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest to declare with respect to this study.

Funding

This project did not receive any external funding. Salaries of the authors were paid for by their respective employers and data was provided free of charge by DANE.

References

1. Piñeros M, Gamboa O, Hernández-Suárez G, Pardo C, Bray F. Patterns and trends in cancer mortality in Colombia 1984-2008. *Cancer Epidemiol.* 2013;37:233-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.canep.2013.02.003>
2. Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE. Proyecciones de población 2005-2020. Colombia. Tablas de mortalidad nacionales y departamentales, 1985-2020. Date of entry: February 10, 2015. Available from: http://www.dane.gov.co/files/investigaciones/poblacion/proyepobla06_20/8Tablasvida1985_2020.pdf
3. Así vamos en salud. Gráfica - Aseguramiento - Georreferenciado - 2012. Date of entry: November 11, 2015. Available from: <http://www.asivamosensalud.org/inidicadores/aseguramiento/grafica.ver/15>.
4. Dávila-Cervantes C, Pardo-Montaño AM. Magnitud y tendencia de la mortalidad por homicidios en Colombia y México, 2000-2011. *Rev Panam Salud Pública.* 2014;36:10-6.
5. Piñeros M, Hernández G, Bray F. Increasing mortality rates of common malignancies in Colombia: An emerging problem. *Cancer.* 2004;101:2285-92. <http://dx.doi.org/10.1002/cncr.20607>
6. Brustugun OT, Moller B, Helland A. Years of life lost as a measure of cancer burden on a national level. *Br J Cancer.* 2014;111:1014-20. <http://dx.doi.org/10.1038/bjc.2014.364>
7. Carter AJ, Nguyen CN. A comparison of cancer burden and research spending reveals discrepancies in the distribution of research funding. *BMC Public Health.* 2012;12:526. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-12-526>
8. Thun MJ, DeLancey JO, Center MM, Jemal A, Ward EM. The global burden of cancer: Priorities for prevention. *Carcinogenesis.* 2010;31:100-10. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgp263>
9. De Blank PM, Ostrom QT, Rouse C, Wolinsky Y, Kruchko C, Salcido J, et al. Years of life lived with disease and years of potential life lost in children who die of cancer in the United States, 2009. *Cancer Med.* 2015;4:608-19. <http://dx.doi.org/10.1002/cam4.410>
10. Yang BH, Bray FI, Parkin DM, Sellors JW, Zhang ZF. Cervical cancer as a priority for prevention in different world regions: An evaluation using years of life lost. *Int J Cancer.* 2004;109:418-24. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.11719>
11. Esquiaqui-Felipe R, Posso-Valencia H, Peñalosa RE, Rodríguez-García J. Carga de enfermedad por cáncer en Santander, Colombia, 2005. *Rev Salud Pública.* 2012;14:213-25. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642012000200003>
12. Castillo-Rodríguez L, Díaz-Jiménez D, Castañeda-Orjuela C, De la Hoz-Restrepo F. Year of life lost (YLL) in Colombia 1998-2011: Overall and avoidable causes of death analysis. *PLoS One.* 2015;10:1-11. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0125456>
13. Instituto Nacional de Salud, Observatorio Nacional de Salud. Primer Informe ONS, aspectos relacionados con la frecuencia de uso de los servicios de salud, mortalidad y discapacidad en Colombia, 2011. Date of entry: November 3, 2015. Available from: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/ons/SiteAssets/Paginas/publicaciones/informe-final%20ONS.pdf>.
14. Loos AH, Bray F, McCarron P, Weiderpass E, Hakama M, Parkin DM. Sheep and goats: Separating cervix and corpus uteri from imprecisely coded uterine cancer deaths, for studies of geographical and temporal variations in mortality. *Eur J Cancer.* 2004;40:2794-803. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2004.09.007>
15. Murray CJ, Ezzati M, Flaxman AD, Lim S, Lozano R, Michaud C, et al. GBD 2010: Design, definitions, and metrics. *Lancet.* 2012;380:2063-6. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61899-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61899-6)
16. Maniecka-Bryla I, Brylo M, Bryla P, Pikala M. The burden of premature mortality in Poland analysed with the use of standard expected years of life lost. *BMC Public Health.* 2015;15:1-8. <http://dx.doi.org/10.18294/sc.2015.725>
17. Piñeros M, Sánchez R, Cendales R, Perry F, Ocampo R. Patient delay among Colombian women with breast cancer. *Salud Pública Mex.* 2009;51:372-80. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-36342009000500004>
18. Piñeros M, Sánchez R, Perry F, García OA, Ocampo R, Cendales R. Delay for diagnosis and treatment of breast cancer in Bogotá, Colombia. *Salud Pública Mex.* 2011;53:478-85. <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-36342011000600003>
19. Restrepo JA, Bravo LE, García-Perdomo HA, García LS, Collazos P, Carbonell J. Prostate cancer in Cali, Colombia, 1962-2011: Incidence, mortality and survival. *Salud Pública Mex.* 2014;56:440-7.

20. **Piñeros M, Gamboa O, Suárez A.** Child mortality from cancer in Colombia, 1985-2008. *Rev Panam Salud Pública.* 2011;30:15-21. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892011000700003>
21. **Piñeros M, Pardo C, Otero J, Suárez A, Vizcaíno M, Álvarez V, et al.** Protocolo de vigilancia en salud pública de las leucemias agudas pediátricas. *Rev Colomb Cancerol.* 2007;11:219-27.
22. **Ministerio de Salud y Protección Social, Instituto Nacional de Salud.** Protocolo de Vigilancia en Salud Pública. Leucemias - 2014. Date of entry: November 3, 2015. Available from: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Leucemias.pdf>
23. **Allemani C, Weir HK, Carreira H, Harewood R, Spika D, Wang XS, et al.** Global surveillance of cancer survival 1995-2009: Analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet.* 2015;385:977-1010. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62038-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62038-9)
24. **Bravo LE, García LS, Collazos P, Aristizábal P, Ramírez O.** Descriptive epidemiology of childhood cancer in Cali, Colombia, 1977-2011. *Colomb Med.* 2013;44:155-64.
25. **Agüedo-Botero M, Dávila-Cervantes CA, Atehortúa-Becerra SC.** Diferencias socioeconómicas en los años de vida perdidos por cáncer de mama y cáncer cervicouterino en Colombia, 1997 y 2007. *Rev Gerenc Polit Salud.* 2011;10:138-51.
26. **Piñeros M, Pardo C, Gamboa O, Hernández-Suárez G.** Atlas de mortalidad por cáncer en Colombia. Bogotá: Instituto Nacional de Cancerología E.S.E., Instituto Geográfico Agustín Codazzi; 2010.
27. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Socialización del informe final de evaluación de necesidades para la ampliación del Convenio Marco de Control del Tabaco. Cifras oficiales para Colombia. 2007. Date of entry: November 3, 2015. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/Documents/General/Cifras-tabaco-Colombia.pdf>.
28. **World Health Organization Global Health Observatory data repository.** Census and civil registration coverage. Data by country. Date of entry: April 1, 2016. Available from: <http://apps.who.int/gho/data/node.main>.

Supplementary table 1. Comparison of life expectation in women and men

		Women's life expectation in the various periods																Total deaths
		C00-14	C15	C16	C18-20	C25	C32-34	C43	C50	C53	C56	C64-65	C67	C70-72CNS	C81-85 + C96	C91-95	C 00-96	
		Head and neck	Oesophagus	Gastric	Colorectal	Pancreas	Lung	Melanoma	Breast	Cervix	Ovarian	Kidney	Bladder	Tumours	Lymphoma	Leukaemia	All cancers	
YLL	1997-2000	2952,410	3681,08	30210,42	15804,114	8467,487	21994,758	1632,287	34022,757	40165,177	10700,113	2742,388	1597,357	11373,863	9061,263	24549,691	295334,250	4202427,085
	2000-2005	3560,419	3782,712	33587,034	20168,376	9404,606	25557,096	2175,394	44323,528	44548,978	13617,96	3247,560	1912,842	13545,972	10807,444	26017,197	335795,327	2017080,434
	2005-2010	4034,877	3692,056	36336,364	24742,259	11443,972	29674,828	2470,23	51994,238	44152,482	17115,136	3975,426	2180,66	14653,781	11932,644	26689,107	365498,150	1943224,322
	2010-2015	3912,648	3461,647	36855,47	27838,215	13270	31574,650	2274,747	61398,457	42866,933	18987,063	4058,493	2204,867	13237,183	12271,323	28356,347	387665,861	1917656,786
AYLL	1997-2000	17,511	17,175	19,173	19,818	18,421	19,293	18,907	25,568	26,747	24,981	24,215	16,189	33,138	28,622	41,014	23,279	34,673
	2000-2005	19,309	16,390	19,193	19,938	18,261	18,963	18,916	25,960	27,284	25,426	25,734	15,994	32,563	27,841	39,686	23,216	26,407
	2005-2010	19,308	16,409	20,000	20,093	17,932	18,737	16,082	25,537	27,084	25,110	25,648	15,444	31,898	26,214	37,761	22,899	23,723
	2010-2015	19,087	16,643	20,937	19,660	18,253	18,397	14,998	25,597	27,461	25,071	24,015	15,712	30,760	24,559		36,231	22,342
		Women's life expectation for 2010-2012 applied to all periods																Total deaths
		C00-14	C15	C16	C18-20	C25	C32-34	C43	C50	C53	C56	C64-65	C67	C70-72CNS	C81-85 + C96	C91-95	C 00-96	
		Head and neck	Oesophagus	Gastric	Colorectal	Pancreas	Lung	Melanoma	Breast	Cervix	Ovarian	Kidney	Bladder	Tumours	Lymphoma	Leukaemia	All cancers	
YLL	1997-2000	3080,257	3846,503	31626,007	16541,087	8884,89	23110,026	1695,413	35839,79	42302,44	11268,727	2876,706	1667,35	11920,244	9496,522	25598,005	309890,672	4383842,989
	2000-2005	3680,023	3912,95	34720,294	20847,937	9732,628	26451,748	2242,858	45841	46044,092	14078,836	3350,923	1977,26	13955,316	11145,955	26730,212	346920,725	2075219,184
	2005-2010	4098,529	3751,354	36918,446	25140,198	11633,12	30163,248	2506,522	52849,258	44861,006	17395,238	4035,254	2215,2	14867,507	12114,66	27046,902	371290,920	1970501,142
	2010-2015	3912,648	3461,647	36855,47	27838,215	13270	31574,650	2274,747	61398,457	42866,933	18987,063	4058,493	2204,867	13237,183	12271,323	28356,347	387665,861	1917656,786
AYLL	1997-2000	18,269	17,946	20,072	20,743	19,329	20,271	19,638	26,934	28,170	26,308	25,401	16,899	34,730	29,997	42,766	24,427	36,170
	2000-2005	19,958	16,954	19,840	20,610	18,898	19,626	19,503	26,848	28,199	26,286	26,553	16,532	33,547	28,714	40,774	23,985	27,168
	2005-2010	19,613	16,673	20,321	20,416	18,228	19,045	16,319	25,957	27,519	25,521	26,034	15,688	32,363	26,614	38,267	23,262	24,056
	2010-2015	19,087	16,643	20,937	19,660	18,253	18,397	14,998	25,597	27,461	25,071	24,015	15,712	30,760	24,559	36,231	22,803	22,342
		Men's life expectation for the corresponding periods																Total deaths
		C00-14	C15	C16	C18-20	C25	C32-34	C43	C50	C61	C64-65	C67	C70-72CNS	C81-85 + C96	C91-95	C 00-96		
		Head and neck	Oesophagus	Gastric	Colorectal	Pancreas	Lung	Melanoma	Breast	Prostate	Kidney	Bladder	Tumours	Lymphoma	Leukaemia	All cancers		
YLL	1995-1999	4273,537	6145,291	41533,14	12766,285	6761,707	33628,896	1628,82	410,09	19804,58	3274,700	2447,13	13129,057	12565,992	27096,819	239625,691	3288627,668	
	2000-2004	5358,453	6744,064	46183,334	15031,143	7615,678	38456,362	2183,68	253,814	24217,064	3925,463	3103,94	15270,297	14240,310	28653,857	267075,215	3458992,683	
	2005-2009	5251,704	7058,63	48600,182	14050,306	9344,976	43189,548	2609,982	239,884	26354,504	3162,453	3679,796	15907,979	15487,092	29566,173	289478,641	3014243,484	
	2010-2012	5440,443	6408,437	49907,29	23501,472	11015,177	41871,474	2546,567	198,387	27507,463	5295,720	3810,347	14567,503	16045,427	29908,938	299873,804	2894751,430	
AYLL	1995-1999	18,172	15,575	17,656	19,080	17,609	16,907	18,509	21,212	11,824	23,243	14,228	30,834	28,935	38,775	19,495	30,969	
	2000-2004	18,415	15,532	17,949	18,851	17,613	16,756	17,414	17,874	11,588	23,228	14,767	31,190	28,188	37,893	19,280	30,497	
	2005-2009	17,553	15,259	17,719	18,106	17,553	16,297	15,371	16,893	11,241	21,083	14,197	29,657	26,348	35,622	18,598	27,077	
	2010-2012	17,779	15,114	17,830	18,171	17,238	15,832	15,158	16,532	11,267	21,183	13,739	29,019	24,547	33,834	18,312	25,653	
		Men's life expectation for 2010-2012 applied to all periods																Total deaths
		C00-14	C15	C16	C18-20	C25	C32-34	C43	C50	C61	C64-65	C67	C70-72CNS	C81-85 + C96	C91-95	C 00-96		
		Head and neck	Oesophagus	Gastric	Colorectal	Pancreas	Lung	Melanoma	Breast	Prostate	Kidney	Bladder	Tumours	Lymphoma	Leukaemia	All cancers		
YLL	1995-1999	4383,802	6262,414	42534,93	13123,928	6922,48	34399,786	1674,427	422,213	19952,477	3389,472	2486,983	13709,541	13115,598	28538,670	246811,079	3444225,497	
	2000-2004	5399,167	6772,516	46483,356	15157,023	7659,994	38640,749	2206,52	255,546	24264,466	3975,702	3118,454	15583,659	14511,861	29454,937	270007,268	3541895,992	
	2005-2009	5268,441	7071,77	48743,652	14100,883	9368,844	43292,317	2619,484	240,37	26380,744	3177,432	3686,558	16052,662	15614,165	29936,417	290883,677	3044662,081	
	2010-2012	5440,443	6408,437	49907,29	23501,472	11015,177	41871,474	2546,567	198,387	27507,463	5295,720	3810,347	14567,503	16045,427	29908,938	299873,804	2894751,430	
AYLL	1995-1999	18,640	15,872	18,082	19,615	18,027	17,294	19,028	21,839	11,912	24,058	14,459	32,198	30,201	40,838	20,080	32,435	
	2000-2004	18,555	15,598	18,066	19,009	17,715	16,836	17,596	17,996	11,611	23,525	14,836	31,830	28,725	38,952	19,492	31,228	
	2005-2009	17,609	15,287	17,771	18,171	17,597	16,336	15,427	16,927	11,253	21,183	14,223	29,927	26,564	36,068	18,688	27,350	
	2010-2012	17,779	15,114	17,830	18,171	17,238	15,832	15,158	16,532	11,267	21,183	13,739	29,019	24,547	33,834	18,312	25,653	

ARTÍCULO ORIGINAL

Prevalencia de defectos congénitos en Risaralda, 2010-2013

Gloria Liliana Porras-Hurtado^{1,2}, Olga Mercedes León-Castañeda¹, Jaime Molano-Hurtado¹,
Sandra Lorena Quiceno¹, Harry Pachajoa³, Juan José Montoya¹

¹ Grupo Salud Comfamiliar, Clínica Comfamiliar, Pereira, Colombia

² Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas, ECLAMC, Bogotá, D.C., Colombia

³ Grupo de Anomalías Congénitas, Universidad ICESI, Cali, Colombia

Introducción. Los datos sobre defectos congénitos en el ámbito regional de los países en desarrollo como Colombia son escasos.

Objetivo. Describir la prevalencia de anomalías congénitas en el departamento de Risaralda, Colombia.

Materiales y métodos. Se incluyeron los neonatos con defectos estructurales y funcionales entre junio de 2010 y diciembre de 2013, cuyos casos fueron notificados al Instituto Nacional de Salud por ser de interés en salud pública. Se compararon con los nacidos en el mismo periodo en una clínica de la región inscrita en el Estudio Colaborativo de Malformaciones Congénitas. Los datos se analizaron con el programa Stata 10[®].

Resultados. La prevalencia entre los nacidos vivos en el periodo de estudio fue de nueve casos por cada 1.000 recién nacidos en el departamento. En la clínica inscrita en el Estudio Colaborativo de Malformaciones Congénitas, se encontró una prevalencia de 34 casos por cada 1.000 nacimientos; el primer lugar lo ocuparon las cardiopatías, seguidas por el labio y paladar hendido, los defectos de la pared abdominal (no especificados), la displasia esquelética, la hidrocefalia, la polidactilia y el síndrome de Down.

Conclusión. El establecimiento de una línea de base sobre la prevalencia de los defectos congénitos en Risaralda es de gran utilidad para la adopción de políticas preventivas que lleven a la disminución de la incidencia y de la gravedad de las discapacidades; la inclusión de los hospitales materno-infantiles en la red del Estudio Colaborativo de Malformaciones Congénitas mejora el registro nacional y la notificación de los defectos congénitos.

Palabras clave: anormalidades congénitas; prevalencia; notificación de enfermedad; cardiopatías congénitas; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2771>

Prevalence of birth defects in Risaralda, 2010-2013

Introduction: The data regarding birth defects at local levels in developing countries like Colombia are scarce.

Objective: To describe the profile of congenital abnormalities in the province of Risaralda, Colombia.

Materials and methods: We included the information on infants with structural and functional abnormalities at birth between June, 2010, and December, 2013, from records of the *Instituto Nacional de Salud*, and compared it with those of children born in the same period in a local clinic participating in the Collaborative Study of Congenital Malformations. We analyzed the data using Stata 10[®].

Results: We found a prevalence of nine defects per 1,000 newborns from the total live births in Risaralda. The local clinic registered in the Collaborative Study of Congenital Malformations registered a prevalence of 34 defects per 1,000 births. Most frequent defects were heart defects, followed by cleft lip and palate, abdominal wall defects, skeletal dysplasia, hydrocephalus, polydactyly and Down syndrome.

Conclusions: Having a baseline on the prevalence of congenital defects in Risaralda is very useful in the design of prevention policies oriented to decrease congenital defects incidence and severity. Inclusion of maternity hospitals in the Collaborative Study of Congenital Malformations strengthens national recording and reporting of birth defects.

Key words: Congenital abnormalities; prevalence; disease notification; heart defects, congenital; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2771>

Contribución de los autores:

Gloria Liliana Porras-Hurtado: diseño y redacción del manuscrito

Olga Mercedes León-Castañeda y Juan José Montoya: organización y análisis epidemiológico de los datos

Jaime Molano-Hurtado y Sandra Lorena Quiceno: recolección de la información

Harry Pachajoa: análisis bibliográfico y comparación de información en artículos publicados en Colombia

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), un defecto congénito es cualquier alteración de la estructura anatómica, morfológica o bioquímica que se produzca en una cualquiera de las etapas de gestación y se detecte en el momento del nacimiento o después. Dichos defectos se clasifican en mayores o menores según su complejidad (1). Los defectos mayores tienen una prevalencia de 2 a 3 % de los recién nacidos y afectan significativamente la salud; la mayoría de las veces requieren atención médica o quirúrgica, como en los casos de labio y paladar hendidos, mielomeningocele, gastrosquisis y síndrome de Down. Los defectos menores tienen una prevalencia similar e implicaciones especialmente de tipo estético, como la fístula preauricular y la clinodactilia (2-4). Los defectos congénitos son un problema global; se estima que cada año 7,9 millones de niños nacen con alguno, 3,3 millones de niños menores de cinco años mueren debido a ellos y 3,2 millones sobreviven con discapacidad (5).

Los defectos congénitos pueden ser de origen genético, infeccioso o ambiental, aunque en la mayoría de los casos resulta difícil determinar su causa. Las medidas de salud pública, como una adecuada nutrición materna que garantice la ingestión de ácido fólico y de yodo, la vacunación contra la rubéola y la varicela y los cuidados perinatales, pueden evitarlos (6,7).

En el mundo se han implementado sistemas eficaces de vigilancia epidemiológica para la detección de los defectos congénitos, y la atención de los aspectos médicos, genéticos y epidemiológicos mediante programas de prevención y rehabilitación (8,9). A partir de 1974, los sistemas de vigilancia epidemiológica de varios países se agruparon en la *International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems* (ICBDMS), con el fin de homologar métodos de clasificación y análisis de las anomalías congénitas, agilizar el intercambio de información y permitir su comparación (10). Posteriormente, en 1979, se creó la red de registros de población para la vigilancia epidemiológica de las anomalías congénitas, la cual cubre 1,7 millones de nacimientos en 21 países

Europeos mediante la *European Surveillance of Congenital Anomalies* (EUROCAT), agremiación de la Comunidad Económica Europea que agrupa sistemas de vigilancia de ese continente (11). En México, el registro y la vigilancia epidemiológica de las malformaciones congénitas externas cubren el 2 % de los nacimientos de ese país (12). En Latinoamérica, el Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas (ECLAMC) se creó en 1967 con el objetivo de hacer la vigilancia hospitalaria activa y cuenta con la participación de 12 países, entre ellos Colombia, con hospitales de Bogotá y Cali, a partir del 2000 (13).

A partir del 2010, la Asamblea Mundial de la Salud adoptó una resolución en la que se pidió fomentar la atención primaria de los defectos congénitos mediante el fortalecimiento del registro y la vigilancia, el desarrollo de conocimientos especializados sobre etiología, diagnóstico y prevención, el fortalecimiento de la investigación, y el fomento de la colaboración internacional (1,14). En este contexto, el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública de Colombia (Sivigila) inició en el 2010 el proceso de reporte nacional de anomalías congénitas de notificación obligatoria en todas las entidades territoriales de salud.

Desde septiembre de 2012, la Clínica Comfamiliar Risaralda, centro de tercer nivel de atención en Risaralda, Colombia, se unió a la red del ECLAMC, lo cual mejoró y reforzó la notificación de las anomalías en dicha institución prestadora de servicios de salud.

En los países en desarrollo en los cuales se han logrado disminuir las enfermedades infecciosas de la niñez, las anomalías congénitas adquieren gran relevancia como causa de morbimortalidad, pues ocasionan discapacidades crónicas de gran impacto entre los afectados, sus familias, los sistemas de salud y la sociedad (6).

Según el Análisis de la Situación de Salud en Colombia del Ministerio de Salud y Protección Social, 2013, las malformaciones congénitas ocupaban el segundo lugar entre las causas de mortalidad infantil en el 2011, con una tasa de tres muertes por cada 1.000 nacidos vivos, aproximadamente (15).

Durante el 2014, se notificaron al Sivigila 5.064 casos de anomalías congénitas y, en el quinquenio del 2000 al 2004, se reportaron 14.036 defunciones por anomalías congénitas, con una tasa de mortalidad de 8,43 por 10.000 nacidos vivos.

Correspondencia:

Gloria Liliana Porras-Hurtado, Avenida Circunvalar N° 3-01, Pereira, Colombia

Teléfono: (311) 367 7060

glolipo@gmail.com y gporras@comfamiliar.com

Recibido: 01/04/15; aceptado: 25/04/16

Risaralda es un departamento del centro occidente colombiano, con una población estimada de 951.945 habitantes según las proyecciones de población del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE); de ellos, 245.691 son mujeres en edad fértil con una tasa de fecundidad promedio de 0,99, 24.810 (2,9 %) son indígenas de la etnia embera, y 10 comunidades son afrodescendientes. Además, presenta una tasa de mortalidad infantil de 15 por 1.000 nacidos vivos, y una tasa de mortalidad por defectos congénitos, sensoriales y metabólicos de 1,19 muertes por 10.000 nacidos vivos, según el Sivigila (16).

Entre julio de 2010 y diciembre de 2013, hubo en Risaralda 42.431 nacimientos, de los cuales se estima que entre 2 y 3 % correspondía a neonatos con defectos mayores y, entre 5 y 6 %, a neonatos con defectos mayores o menores (2,3). Es decir que del total de 2.545 (6 %) niños con defectos en la región, había 1.273 (3 %) con defectos mayores. Dado que no hay estudios publicados sobre la prevalencia de defectos congénitos en Risaralda y se desconoce su comportamiento en esta región, el objetivo del presente trabajo fue determinar la prevalencia de las anomalías congénitas, con el fin de establecer una línea de base y comparar la notificación obligatoria al Sivigila y la que se hace a través del registro del ECLAMC, del cual hace parte la clínica donde se llevó a cabo el presente estudio.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo de corte transversal a partir de los registros departamentales de notificación de anomalías congénitas al Sivigila, el cual contiene la información, aproximadamente, de 155 instituciones de salud, públicas y privadas que cumplen con los criterios estipulados por el Instituto Nacional de Salud para la notificación obligatoria de tales anomalías.

Mediante una solicitud formal a la Secretaría Departamental de Salud del Risaralda, entidad que administra el Sivigila localmente, se solicitó la base de datos correspondiente al registro de las anomalías congénitas notificadas entre junio de 2010 y diciembre de 2013.

Los defectos congénitos se definieron según el protocolo de vigilancia en salud pública para defectos congénitos del Instituto Nacional de Salud. No se contó con el análisis cromosómico en todos los casos, pero sí con la descripción clínica de los síndromes.

Las anomalías se clasificaron en malformaciones por órgano o sistema afectado como subtipo, es decir, la enfermedad específica, y como síndrome cuando era aplicable. Las anomalías congénitas en los recién nacidos fueron diagnosticadas por los médicos asistenciales vinculados a los centros de atención en salud de la región.

Se codificaron las anomalías de acuerdo con la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10). Asimismo, se comparó su prevalencia con la calculada con base en los datos del ECLAMC registrados en la clínica. Se hizo un análisis descriptivo mediante el cálculo de prevalencia así:

$$\frac{\text{Número de casos de anomalía congénita para el periodo de estudio}}{\text{Total de nacidos vivos en el periodo de estudio}} \times 1.000$$

El análisis estadístico se hizo utilizando el programa Stata, versión 10®.

Consideraciones éticas

El presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación de la Clínica Comfamiliar Risaralda y se clasificó como de riesgo mínimo según la Resolución 8430 de 1993.

Resultados

En el período estudiado ocurrieron 42.431 nacimientos y se reportaron al Sivigila 381 neonatos (niños, 52,7 % y niñas 47,2 %) con 615 anomalías congénitas, de las cuales 442 correspondían a defectos mayores y, 173, a menores (figura 1). La prevalencia global de anomalías congénitas para el periodo fue de nueve por 1.000 nacidos

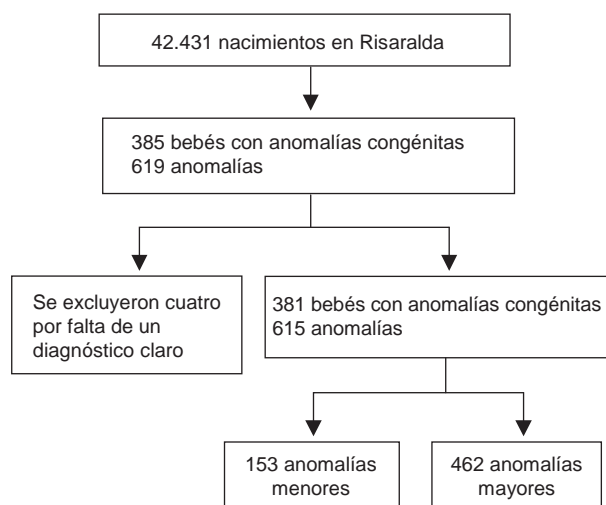


Figura 1. Descripción del proceso de selección de la muestra analizada

vivos ($IC_{95\%}$ 8,1-9,9), la cual pasó de 4,3 por 1.000 nacidos vivos en el 2010 a 14,3 por 1.000 en el 2013 ($p < 0,0001$).

Estas cifras se compararon con el registro del ECLAMC, el cual reportó 7.388 nacimientos, es decir, el 17 % de los nacimientos de la región, con una prevalencia de anomalías que varió entre 20,6 por 1.000 nacidos vivos y 55,6 por 1.000 en el mismo periodo del estudio (cuadro 1), discriminadas en mayores y menores (cuadro 2).

Entre los defectos congénitos mayores, el primer lugar lo ocuparon las cardiopatías, seguidas por el labio y el paladar hendido, los defectos de la pared abdominal, la displasia esquelética, la hidrocefalia, la polidactilia y el síndrome de Down.

Cuadro 1. Prevalencia de defectos congénitos en la Clínica Comfamiliar reportados al ECLAMC comparada con la del departamento de Risaralda reportada al Sivigila, julio de 2010-diciembre de 2013

Año	Risaralda - Sivigila	$IC_{95\%}$	Clínica - ECLAMC	$IC_{95\%}$
2010	4,7	2,9- 6,0	20,6	12,9-30,9
2011	6,2	5,2- 8,3	22,2	16,4-29,3
2012	9,1	7,5-11,0	31,5	24,4-39,9
2013	14,3	12,2-16,6	55,6	46,1-66,4
Total	9,0	8,1- 9,9	34,0	29,9-38,3

Sivigila: Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica
ECLAMC: Estudio Colaborativo Latinoamericano de Malformaciones Congénitas

En cuanto a los sistemas, los defectos del sistema musculoesquelético fueron los más frecuentes, con 98 anomalías, es decir, 2,31 por 1.000 nacidos vivos; entre ellos, los defectos de la pared abdominal fueron los más comunes, seguidos de la displasia esquelética. El segundo lugar lo ocuparon las anomalías del sistema nervioso central con 72 (1,70 por 1.000 nacidos vivos), siendo la hidrocefalia la anomalía más frecuente de este sistema. Los defectos del tubo neural (espinas bífidas, anencefalia, mielomeningocele, encefalocele, dicefalos, y malformación de Dandy Walker) constituyeron el 42,5 % (10 por 10.000 nacidos vivos). En tercer lugar, se ubicaron los defectos de cabeza y cuello, de los cuales el labio y paladar hendidos fue el más común, con 0,78 por 1.000 nacidos vivos (cuadro 3).

Discusión

Según la notificación departamental, la prevalencia fue de nueve por cada 1.000 nacidos vivos en Risaralda, y de 34 por cada 1.000 en la institución de salud integrante de la red del ECLAMC. El aumento significativo observado en el periodo de estudio demuestra una evolución en el sistema de vigilancia.

Las anomalías mayores más frecuentemente encontradas en Suramérica son las cardíacas (28 por 10.000 nacidos vivos), los defectos de cierre del tubo neural (24 por 10.000 nacidos vivos), el

Cuadro 2. Prevalencia de defectos congénitos en Risaralda y en la Clínica Comfamiliar Risaralda, julio de 2010 a diciembre de 2013

Risaralda							
Año	Nacidos vivos	Anomalías	Prevalencia*	Anomalías mayores	Prevalencia*	Anomalías menores	Prevalencia*
2010	7.630	33	4,7	18,0	2,5	15,0	2,1
2011	11.090	74	6,2	39,0	3,3	35,0	2,9
2012	11.918	109	9,1	87,0	7,3	22,0	1,8
2013	11.541	165	14,3	111,0	9,6	54,0	4,7
Total	42.431	381	9,0	255,0	6,0	126,0	3,0
Clínica Comfamiliar							
Año	Nacidos Vivos	Anomalías	Prevalencia**	Anomalías mayores	Prevalencia**	Anomalías menores	Prevalencia**
2010	1.070	22	20,6	9,0	8,4	13,0	12,1
2011	2.158	48	22,2	13,0	6,0	35,0	16,2
2012	2.093	66	31,5	47,0	22,5	19,0	9,1
2013	2.067	115	55,6	67,0	32,4	48,0	23,2
Total	7.388	251	34,0	136,0	18,4	115,0	15,6

*Defectos congénitos por cada 1.000 nacidos vivos, calculados con la base de datos de nacidos vivos del Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE, 2010-2013

**Defectos congénitos por cada 1.000 nacidos vivos calculados con la base de datos de nacidos vivos del registro único de afiliados (RUA) del Ministerio de Salud y Protección Social, 2010

Cuadro 3. Descripción de las anomalías mayores y menores por sistemas y por frecuencia en Risaralda, julio de 2010 a diciembre de 2013

Sistema	Descripción de anomalías mayores	Código CIE10	n	Proporción (%)	Prevalencia por 10.000 nacidos vivos
Sistema musculoesquelético	Defecto de pared (hernias, onfalocele)	Q799	21	18,8	4,95
	Displasia esquelética	Q785	19	17,0	4,48
	Polidactilia	Q699	18	16,1	4,24
	Talipes equinovarus	Q660	13	11,6	3,06
	Reducción del miembro	Q779	12	10,7	2,83
	Gastrosquisis	Q793	11	9,8	2,59
	Displasia congénita de cadera	Q659	5	4,5	1,18
	Sindactilia	Q709	4	3,6	0,94
	Artrogriposis en miembros superiores	Q743	2	1,8	0,47
	Afalangia	Q681	2	1,8	0,47
	Hernia diafragmática	Q790	2	1,8	0,47
	Luxación congénita de rodillas	Q682	1	0,9	0,24
	Secuencia de Poland	Q678	1	0,9	0,24
	Exonfalos	Q792	1	0,9	0,24
			112	100,0	26,40
Sistema nervioso	Hidrocefalia	Q03	18	24,7	4,24
	Microcefalia	Q02X	13	17,8	3,06
	Anencefalia - anomalía ocular	Q00,0	10	13,7	2,36
	Espina bífida	Q059	8	11,0	1,89
	Mielomeningocele	Q05,2	6	8,2	1,41
	Disgenesia del cuerpo calloso	Q040	6	8,2	1,41
	Cefalocele	Q001	4	5,5	0,94
	Trastornos congénitos del encéfalo	Q048	3	4,1	0,71
	Dicéfalos	Q894	2	2,7	0,47
	Holoprocefalia	Q042	1	1,4	0,24
	Malformacion de Dandy Walker	Q079	1	1,4	0,24
	Esquicefalia		1	1,4	0,24
			73	100,0	17,20
Cabeza y cuello	Fisura oral	Q360	33	46,5	7,78
	Malformación congénita del ojo	Q159	11	15,5	2,59
	Anotia	Q160	10	14,1	2,36
	Orejas de implantación baja	Q179	5	7,0	1,18
	Microtia	Q172	5	7,0	1,18
	Dismorfia facial	Q188	5	7,0	1,18
	Catarata	Q120	2	2,8	0,47
			71	100,0	16,73
Sistema cardiovascular	Cardiopatía no especificada	P290	37	100,0	8,72
			37	100,0	8,72
Sistema genital	Criptorquidia	Q53,9	19	50,0	4,48
	Hipospadias	Q549	13	34,2	3,06
	Genitales ambiguos	Q564	5	13,2	1,18
	Hidrocele congénito y hernia inguinoescrotal	P83,5	1	2,6	0,24
			38	100,0	8,96
Sistema gastrointestinal	Ano imperforado	Q422	6	27,3	1,41
	Atresia esofágica	Q409	5	22,7	1,18
	Atresia intestinal	Q419	4	18,2	0,94
	Hepatoesplenomegalia	Q447	4	18,2	0,94
	Páncreas anular	Q451	1	4,5	0,24
	Pólipo rectal	Q438	1	4,5	0,24
	Prolapso intestinal por el ano	K622	1	4,5	0,24
			22	100,0	5,18
Síndrome metabólico	Anomalía funcional congénita	E888	14	70,0	3,30
	Hipotonía, error congénito del metabolismo, hiperglisinemia no cetósica	E725	4	20,0	0,94
	Hiperbilirrubinemia indirecta, posible mutación en el gen <i>UGT1A1</i>	P578	1	5,0	0,24
	Déficit de ornitin-transcarbamilasa, error innato del metabolismo	E724	1	5,0	0,24
			20	100,0	4,71

Sistema	Descripción de anomalías mayores	Código CIE10	n	Proporción (%)	Prevalencia por 10.000 nacidos vivos
Sistema urinario	Dilatación pielocalicial	Q620	7	53,8	1,65
	Riñón multiquístico	Q611	4	30,8	0,94
	Seno urogenital persistente	Q558	1	7,7	0,24
	Megalouréter	Q622	1	7,7	0,24
			13	100,0	3,06
Sistema respiratorio	Laringomalacia	Q320	2	66,7	0,47
	Estenosis subglótica		1	33,3	0,24
			3	100,0	0,71
Infeciosas	Infección congénita no especificada Síndrome TORCH	P379	5	100,0	1,18
			5	100,0	1,18
Compromiso multisistémico	Polimalformaciones	Q897	46	100,0	10,84
	Cromosomopatía				
	Síndrome de Down	Q90,9	18	81,8	4,24
	Síndrome de Turner	Q968	2	9,1	0,47
	Síndrome de Patau	Q914	1	4,5	0,24
	Síndrome de Edwards	Q910	1	4,5	0,24
			22	100,0	5,18
Total anomalías mayores			462		

Sistema	Descripción de anomalía menor	Código CIE10	n	Análisis con respecto al subgrupo	Frecuencia por 10.000 en Risaralda
Cabeza y cuello	Fístula preauricular	Q181	27	52,9	6,36
	Apéndice preauricular	Q178	24	47,1	5,66
			51	100,0	12,02
Tegumentario	Hemangioma	D180	9	33,3	2,12
	Nevus	D229	9	33,3	2,12
	Mancha café con leche	L813	6	22,2	1,41
	Teletelia	N648	2	7,4	0,47
	Bandas amnióticas	O418	1	3,7	0,24
				27	100,0
Osteomuscular	Clinodactilia	Q748	2	100,0	0,47
			2	100,0	0,47
Compromiso multisistémico	Constitucional	P070	73	100,0	17,20
	Bajo peso asimétrico				
Total anomalías menores			153		36,05

Fuente: Sivigila

síndrome de Down (16 por 10.000 nacidos vivos), el labio y el paladar hendidos (15 por 10.000 nacidos vivos) y los defectos de la pared abdominal (4 por 10.000 nacidos vivos) (4).

El sistema más afectado fue el músculo-esquelético, con una tasa de 26,4 por 10.000 nacidos vivos. La tasa de alteraciones en los miembros fue de 13,4 por 10.000 nacidos vivos. Los defectos de los miembros ocurren como resultado de una falla del desarrollo durante el periodo de gestación, como la polidactilia o la sindactilia, o por problemas con las bandas amnióticas o disrupción vascular, los cuales producen reducción de los miembros. La prevalencia de este tipo de alteraciones congénitas en Finlandia es de 13 por 10.000 nacidos

vivos y, en Escocia, de 30 por 10.000, en tanto que la tasa en Italia es de 4,8 por 10.000 nacidos vivos y, en Francia, de 10,4 por 10.000 (17).

Los defectos del sistema nervioso son la segunda causa de anomalías en la región y, según la literatura científica, la mayoría de los defectos reportados están relacionados con la deficiencia de ácido fólico. Este factor de riesgo ha sido estudiado en el ECLAMC; sin embargo, en la institución en la cual se llevó a cabo este estudio la muestra no tuvo el tamaño suficiente para precisar el papel de dicho factor.

El síndrome de Down es la aneuploidia más frecuentemente reportada; se sabe que su frecuencia es de uno por 750 nacidos vivos en todas

las poblaciones (18). En Risaralda, la prevalencia fue de 0,42 por 1.000 nacidos vivos, mientras que, en el centro de tercer nivel del estudio, la frecuencia fue de 3,39 por cada 1.000 nacidos vivos, lo cual se explica porque se trata de un centro de referencia y la notificación se ha fortalecido por pertenecer a la red del ECLAMC. En Colombia no es obligatoria la detección temprana de aneuploidias mediante el triple marcador de translucencia nucal, valores de la proteína plasmática del embarazo y de la subunidad beta de la gonadotropina coriónica.

A pesar de las deficiencias en el registro de las anomalías, su análisis es útil para conocer el perfil de las más frecuentes en la región y adoptar medidas para su prevención y tratamiento médico adecuado, con el fin de evitar la discapacidad. El propósito de este análisis inicial fue evidenciar la evolución de la notificación de las anomalías más frecuentes, y llamar la atención sobre la necesidad de mejorar el sistema de notificación.

Las diferencias en la prevalencia de las anomalías congénitas observadas entre lo reportado al Sivigila y al ECLAMC evidencian claramente un sesgo de selección, ya que la clínica del estudio pertenece a esta última red, es un centro de referencia y cuenta con un personal médico con mayor sensibilización frente a las anomalías, lo cual permite una detección mayor que en otras instituciones que solo reportan al Sivigila. Más que un sesgo negativo, esto puede verse como una fuente oficial de información que fortalece el sistema de vigilancia epidemiológico y permitiría en el futuro una aproximación más precisa a la prevalencia de anomalías en Risaralda y Colombia.

En conclusión, aunque el sistema de notificación de defectos congénitos en Colombia es nuevo, ya se evidencia una mejoría en la notificación, lo cual se reflejó en el aumento de la prevalencia en el periodo de evaluación de este estudio. En la comparación entre la notificación oficial al Sivigila y la registrada por la Clínica Comfamiliar Risaralda en la red del ECLAMC, se evidenció que se han logrado los estándares esperados, lo cual demuestra el fortalecimiento del sistema de notificación nacional mediante una red como la mencionada. Los datos publicados en centros de alta complejidad de otras regiones del país, como Cartagena, Cali, Barranquilla y Bogotá, han revelado, en promedio, una prevalencia de 3,04 (18-21). La clínica Comfamiliar tiene una prevalencia de 3,4, lo cual demuestra la eficiencia del sistema de notificación. Esta primera visión general de las

anomalías más frecuentes en la región permite la adopción de medidas para el tratamiento oportuno de estas enfermedades, con lo cual se evita al máximo la discapacidad. La prevalencia de anomalías congénitas en Risaralda ha sido inferior a la registrada en otras poblaciones de Colombia y en otros países en desarrollo, posiblemente por el subregistro de los datos. Es evidente que la inclusión de los hospitales materno-infantiles en la red del ECLAMC fortalecería el registro y la notificación de los defectos congénitos.

El tratamiento de las anomalías congénitas debe ser interdisciplinario, y debe proporcionar apoyo e información basada en la evidencia disponible a las familias afectadas y a aquellas con riesgo de padecerlas.

Agradecimientos

A la Secretaría de Salud de Risaralda.

Conflicto de intereses

Los autores declaramos no tener conflicto de intereses.

Financiación

La investigación fue financiada por los autores.

Referencias

1. **Organización Mundial de la Salud.** 63ª Asamblea Mundial de la Salud. Defectos congénitos. Ginebra: OMS; 2010. p. 1-7.
2. **Czeizel AE, Intódy Z, Modell B.** What proportion of congenital abnormalities can be prevented? *BMJ.* 1993;306: 499-503.
3. **Fox B, Owston MA, Kumar S, Dick EJ.** Congenital anomalies in the baboon (*Papio* spp.). *J Med Primatol.* 2011;40:357-63. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0684.2011.00472.x>
4. **Groisman B, Bidondo MP, Barbero P, Gili JA, Liascovich R.** RENAC: Registro Nacional de Anomalías Congénitas de Argentina. *Arch Argent Pediatr.* 2013; 111:484-94. <http://dx.doi.org/10.1590/S0325-00752013000600006>.
5. **Carmona RH.** The global challenges of birth defects and disabilities. *Lancet.* 2005;366:1142-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67459-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67459-4)
6. **Ndibazza J, Lule S, Nampijja M, Mpairwe H, Oduru G, Kiggundu M, et al.** A description of congenital anomalies among infants in Entebbe, Uganda. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2011;91:857-61. <http://dx.doi.org/10.1002/bdra.20838>
7. **Rosa RM, Alberto IC.** Universal health care for Colombians 10 years after Law 100: Challenges and opportunities. *Health Policy.* 2004;68:129-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healthpol.2003.10.004>
8. **Stoll C, Roth M-P, Dott B, Bigel P.** Usefulness of a registry of congenital malformations for genetic counseling and prenatal diagnosis. *Clin Genet.* 1986;29:204-10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0004.1986.tb00813.x>

9. **Botto LD, Robert-Gnansia E, Siffel C, Harris J, Borman B, Mastroiacovo P.** Fostering international collaboration in birth defects research and prevention: A perspective from the International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. *Am J Public Health.* 2006;96:774-80. <http://dx.doi.org/10.2105/AJPH.2004.057760>
10. **Robert JM, Robert E, Francannet C.** International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems (ICBDMS). An example of effective international cooperation. *Arch Fr Pediatr.* 1986;43:539-41.
11. **Lechat MF, Dolk H.** Registries of congenital anomalies: EUROCAT. *Environ Health Perspect.* 1993;101(Suppl.2): 153-7.
12. **Penchaszadeh VB, Beiguelman B.** Medical genetic services in Latin America: Report of a meeting of expert. *Rev Panam Salud Pública.* 1998;3:409-20. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49891998000600013>
13. **Castilla EE, Orioli IM.** ECLAMC: The Latin-American Collaborative Study of Congenital Malformations. *Public Health Genomics.* 2004;7:76-94. <http://dx.doi.org/10.1159/000080776>
14. **Mantan M, Sethi GR.** Congenital anomalies of kidney and urinary tract in siblings: An uncommon condition. *Indian J Nephrol.* 2013;23:217-9. <http://dx.doi.org/10.4103/0971-4065.111858>.
15. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Análisis de la Situación de Salud. Colombia, 2013. Bogotá: Imprenta Nacional de Colombia; 2013. p. 107-108.
16. **Instituto Nacional de Salud.** Informe del evento vigilancia de anomalías congénitas, hasta el periodo epidemiológico XIII, Colombia, 2015. Fecha de consulta: 24 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/Informe%20de%20Evento%20Epidemiol%C3%A9gico/DEFECTOS%20CONGENITOS%20Periodo%20XIII%202015.pdf>
17. **International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research.** Annual report 2010 with data for 2008. Roma: International Centre on Birth Defects; 2010. p. 292.
18. **Isaza C, Martina D, Estupiñán J, Starck C, Rey H.** Prevalencia de malformaciones congénitas diagnosticadas en las primeras 24 horas de vida. *Colomb Med.* 1989;20: 156-9.
19. **Silva JR, Fals O, Pinto P, Gómez E, Amador J, De García L, et al.** Evaluación genética y estudio de malformaciones congénitas en la población de recién nacidos del ISS y la Clínica Asunción de la ciudad de Barranquilla, durante un periodo de 12 meses. *Salud Uninorte.* 1988;4:141-9.
20. **Zarante I, Franco L, López C, Fernández N.** Frecuencia de malformaciones congénitas: evaluación y pronóstico de 52.744 nacimientos en tres ciudades colombianas. *Biomédica.* 2010;30:65-71. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v30i1.154>
21. **García H, Salguero GA, Moreno J, Arteaga C, Giraldo A.** Frecuencia de anomalías congénitas en el Instituto Materno Infantil de Bogotá. *Biomédica.* 2003;23:161-72. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v23i2.1208>

ARTÍCULO ORIGINAL

Factores de riesgo para la infección por el virus de la hepatitis C en la Costa Caribe colombiana: un estudio de casos y controles

Ismael de Jesús Yepes^{1,2}, Beatriz Lince³, Clara Caez⁴, Giovanni de Vuono²

¹ Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

² Pharos Centro de Investigaciones Biomédicas de la Costa, Cartagena, Colombia

³ Servicio de Gastroenterología, Clínica del Bosque, Cartagena, Colombia

⁴ Sección de Hepatología, Clínica Portoazul, Barranquilla, Colombia

Introducción. Se estima que, aproximadamente, 6,8 a 8,9 millones de personas están infectadas por el virus de la hepatitis C en Latinoamérica, de las cuales menos del 1 % llega a recibir tratamiento antiviral. En los estudios llevados a cabo hasta ahora en Colombia, se ha propuesto determinar la prevalencia de la enfermedad en algunos grupos de riesgo, y no se ha hecho el análisis de otros factores potencialmente implicados en el contagio.

Objetivos. Determinar los factores de riesgo tradicionalmente analizados y otros no estudiados antes para la hepatitis C crónica en la Costa Caribe colombiana.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio de casos y controles (1:3) emparejados por empresa promotora de salud y edad (± 10 años), en el primer nivel de atención de hepatología y gastroenterología. A todos los pacientes positivos en la prueba ELISA se les hizo una prueba confirmatoria de carga viral. En el análisis de regresión logística multivariable se determinaron los factores predictores independientes de infección.

Resultados. La transfusión sanguínea (*odds ratio*, OR=159,2; IC_{95%} 35,4-715; $p < 0,001$) y el antecedente de hospitalización antes de 1994 (OR=4,7; IC_{95%} 1,3-17,1; $p = 0,018$) se determinaron como los dos únicos factores independientes predictores de infección.

Conclusión. Es necesario comprobar la reproducibilidad de estos resultados y hacer estudios de costo-efectividad antes de recomendar su utilización en el diseño de nuevas estrategias de cribado.

Palabras clave: hepatitis C; factores de riesgo; estudios de casos; transfusión sanguínea; región del Caribe; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3105>

Risk factors for hepatitis C virus infection in the Colombian Caribbean coast: A case-control study

Introduction: An estimated 6.8-8.9 million people are infected with hepatitis C virus in Latin America, of which less than 1% receives antiviral treatment. Studies so far in Colombia have attempted to determine the prevalence of the disease in some risk groups, thus preventing the identification of other factors potentially involved in the spread of the infection.

Objectives: To identify traditional and non-traditional risk factors for chronic hepatitis C in the Colombian Caribbean coast.

Materials and methods: This was a case-control study (1:3) matched by health care provider and age (± 10 years) conducted at the primary care level of gastroenterology and hepatology outpatient services. All patients with a positive ELISA underwent a confirmatory viral load test. A multivariate logistic regression analysis identified the independent predictors of infection.

Results: Blood transfusion (OR=159.2; 95% CI: 35.4-715; $p < 0.001$) and history of hospitalization before 1994 (OR=4.7; 95% CI: 1.3-17.1; $p = 0.018$) were identified as the only two independent predictors of infection.

Conclusion: It is necessary to check the reproducibility of these results and to conduct cost-effectiveness studies before recommending their use in the design of new screening strategies.

Key words: Hepatitis C; risk factors; case studies; blood transfusion; Caribbean region; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3105>

Contribución de los autores:

Ismael de Jesús Yepes: coordinación del protocolo de investigación y análisis de la información
Todos los autores participaron en el diseño del protocolo, la selección de pacientes y la redacción del manuscrito.

Se estima que, aproximadamente, 6,8 a 8,9 millones de personas están infectadas por el virus de la hepatitis C (HCV) en Latinoamérica, de las cuales menos del 1 % llegan a recibir tratamiento antiviral (1). La prevalencia de la enfermedad en Colombia se desconoce, sin embargo, la información proveniente de los resultados de la tamización que se hace entre los donantes de los bancos de sangre permite especular que entre el 0,49 y el 1 % de la población colombiana tiene anticuerpos frente al HCV (2-4).

Se ha determinado que la transfusión de hemoderivados antes de 1994 constituye el principal factor de riesgo para padecer hepatitis C en Latinoamérica (1,5). A pesar de los grandes avances en seguridad en las transfusiones, en algunos estudios se ha observado que la prevalencia permanece estable; de hecho, es de esperar que aumente ligeramente en algunos países (1), lo cual sugiere que existen otras fuentes potenciales de infección que no se han tenido en cuenta hasta ahora.

En Colombia, se ha determinado la prevalencia de la enfermedad en algunos grupos de riesgo, y se ha observado un incremento de los casos en quienes recibieron transfusiones antes de 1994 (6,7), en pacientes con enfermedad renal crónica terminal (8), en adictos al uso de drogas por vía parenteral (9,10), entre el personal sanitario (11,12) y en población indígena (12,13). Sin embargo, la persistente búsqueda de personas infectadas en los grupos de riesgo tradicionales no ha permitido detectar otros factores potencialmente implicados en el contagio.

Teniendo en cuenta que en el 25 % de los pacientes en Colombia no puede determinarse el origen de la infección (14), es claro que existen otras vías de transmisión que han pasado desapercibidas. Por otra parte, la prevalencia de la hepatitis C en algunas poblaciones de riesgo no ha sido uniforme en las diferentes zonas del país (9,10,12,13), lo cual implica que los factores asociados a la infección pueden variar en función de diferencias geográficas y culturales.

Correspondencia:

Ismael Yepes, Departamento de Investigaciones, Facultad de Medicina, Universidad de Cartagena, Campus de Zaragocilla, Cartagena, Colombia
Teléfono: (321) 657 2466
ismayep@yahoo.com

Recibido: 04/12/15; aceptado: 25/04/16

La introducción de los nuevos medicamentos antivirales ha incrementado la llamada "respuesta virológica sostenida" en pacientes con hepatitis C crónica por virus del genotipo 1, el subtipo más frecuente en Colombia y Suramérica (1,15), y ha prevenido la progresión de la enfermedad hacia estadios más avanzados (16). Este importante cambio en la reacción al tratamiento representa también un nuevo reto en la identificación de potenciales candidatos al tratamiento antiviral, en quienes dicha reacción disminuiría la morbimortalidad asociada con la infección (17).

Hasta la fecha, en el país no se ha hecho ningún estudio que permita evaluar simultáneamente los factores de riesgo usuales y otros aún no detectados. Esta determinación puede ser útil en la detección de nuevos grupos de individuos en quienes la tamización y el tratamiento oportuno evitarían la progresión de la enfermedad hacia estadios de mayor morbimortalidad.

En este contexto, los objetivos del presente estudio fueron determinar los factores de riesgo usuales y otros aún no explorados para las infecciones por el virus de la hepatitis C en la Costa Caribe colombiana, así como describir las características clínicas y demográficas de la población infectada.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio de casos y controles para determinar los factores de riesgo en infecciones por el virus de la hepatitis C en la Costa Caribe colombiana. Los pacientes infectados se seleccionaron en el primer nivel de atención de la consulta externa de cuatro gastroenterólogos y hepatólogos de Cartagena y Barranquilla, esto con el fin de evitar el sesgo de selección que habitualmente ocurre cuando las muestras provienen de centros de alta complejidad.

El caso se definió como un individuo con anticuerpos frente al HCV, determinados mediante la prueba ELISA y carga viral positiva, y el control, como un individuo con resultado negativo para el HCV en la prueba ELISA en el momento de inclusión en el estudio y sin enfermedad hepática conocida previamente. El grupo de control se seleccionó entre una población de personas con diagnóstico de síndrome de intestino irritable y esteatosis hepática atendidos en los mismos centros a los que acudían los casos. La proporción de casos y controles fue de 1 a 3.

Con el objetivo de garantizar la comparabilidad entre los grupos, cada caso se emparejó con tres

controles según su proveedor de servicios de salud y según la edad (± 10 años). Los antecedentes médicos se extrajeron de la historia clínica y de una entrevista privada con cada caso y cada control.

Para facilitar la recordación de la información, el cuestionario se dividió en antecedentes de la infancia (hasta los 16 años) y antecedentes en la vida adulta (a partir de los 16 años). Todos los sujetos que participaron en el estudio tenían entre 20 y 80 años de edad, y se encontraban afiliados a alguna empresa promotora de salud, empresa de medicina prepagada o pertenecían a un régimen especial de salud.

Determinación de la infección por HCV

En todos los pacientes, casos y controles, se hizo la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C mediante la prueba ELISA de tercera generación (Murex anti-HCV®, versión 4.0), la cual utiliza antígenos de las regiones del núcleo NS3, NS4 y NS5, según las indicaciones del fabricante. En todos los pacientes con resultados positivos en esta prueba, se cuantificó el ARN del virus, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real (Abbott RealTime HCV®).

Análisis estadístico

Los factores de riesgo se determinaron inicialmente mediante un análisis univariado. Todas las variables en este primer paso se incluyeron en un modelo de regresión logística multivariable. La relación entre la infección y las transfusiones, las cirugías, las suturas y las hospitalizaciones se evaluó teniendo en cuenta si se habían presentado antes de 1994, puesto que el 100 % de los casos se había diagnosticado después de esa fecha, por lo que dichos factores podían considerarse como fuentes reales de exposición.

La magnitud de la asociación se expresó en forma de razón de probabilidades (*odds ratio*, OR). Las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes infectados se describieron en función de la media, la desviación estándar y los porcentajes. La significación estadística se fijó en $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

El protocolo se diseñó respetando los lineamientos de la Declaración de Helsinki (18) y fue aprobado por el Comité de Ética del Centro de Investigaciones Cardiovasculares Santa Lucía. Todos los pacientes seleccionados firmaron un consentimiento informado antes de su participación en el estudio.

Resultados

Se detectaron 61 pacientes con anticuerpos frente al HCV, pero seis de ellos prefirieron no participar en el estudio por temor al estigma social relacionado con la infección, por lo cual, finalmente se incluyeron 55 casos y 165 controles en el análisis. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la edad o el proveedor de servicios de salud entre casos y controles, y se consideró que ambos grupos tuvieron la misma posibilidad de haber estado expuestos al virus y de acceder al diagnóstico de infección por hepatitis C. Se asumió que el emparejamiento fue exitoso.

Características de la población infectada

Las características clínicas y demográficas de la población infectada se presentan en el cuadro 1. Ocho de cada 10 (80 %) pacientes infectados tenían antecedentes de transfusión sanguínea antes de 1994; de igual manera, entre 70 y 85 % habían tenido hospitalizaciones, cirugías o suturas antes de esta fecha. La edad media fue de 60,2 años (desviación estándar, DE=13) y predominó el sexo femenino (60 %). Aproximadamente, 46 % (n=24) de los diagnósticos se había hecho durante los cuatro años anteriores, y diez (18 %) de ellos durante el año inmediatamente anterior al estudio.

Veintidós pacientes no eran candidatos al tratamiento antiviral debido, principalmente, a la edad, la presencia de hepatopatía crónica avanzada y el incumplimiento de las citas médicas. De los 32 pacientes tratados, 13 (40 %) alcanzaron a tener una respuesta virológica sostenida y ocho (25 %) suspendieron el tratamiento debido a los efectos secundarios.

Aproximadamente, el 66 % de los pacientes se encontraba en estadio cirrótico o con fibrosis avanzada (F3), la mayoría en la etapa compensada de la enfermedad. La prevalencia de diabetes y obesidad, factores de riesgo conocidos para la progresión rápida de la fibrosis, fue de 11 y 3,6 %, respectivamente. Sin embargo, hasta 34,5 % de los pacientes presentaba alguno de los componentes del síndrome metabólico.

Factores de riesgo para la infección por el virus de la hepatitis C

En el análisis crudo de los factores de riesgo, se estableció una asociación estadísticamente significativa entre la infección por hepatitis C y la transfusión de hemoderivados, las suturas, las

Cuadro 1. Características clínicas y demográficas de la población infectada

Variable	Población n=55 casos
Edad	60,2 (13)
Sexo masculino	23 (42)
Año de diagnóstico	
1980-1990	3 (5,7)
1991-2000	2 (3,8)
2001-2010	23 (44,2)
A partir de 2010	24 (46)
Tratamiento antiviral	32 (58,2)
Barreras de acceso al tratamiento	
Edad avanzada	5 (9,1)
Plaquetopenia	3 (5,5)
Curación espontánea	4 (7,3)
Hipoalbuminemia	1 (1,8)
Ausencia de fibrosis avanzada	2 (3,6)
Cirrosis decompensada	1 (1,8)
Incumplimiento de las citas	5 (9,1)
Problemas administrativos con la EPS	1 (1,8)
Genotipo	
Ib	14 (25,5)
Ia	1 (1,8)
II	3 (5,5)
Desconocido	37 (67,3)
Interferón 'pegilado' + rivabirina	15 (47,0)
Interferón convencional + rivabirina	4 (13,0)
Inhibidores de proteasa + interferón 'pegilado' + rivabirina	13 (40,0)
Suspensión del tratamiento	8 (25)
Respuesta virológica sostenida	13 (40)
Fibrosis	
No determinado	8 (14,5)
F0	11 (20)
F1	3 (5,5)
F2	2 (3,6)
F3	3 (5,5)
Cirrosis hepática	28 (50,9)
Escala de Child Pugh Turcotte	
A	22 (78,5)
B	5 (17,8)
C	1 (3)
Várices esofágicas	15 (53)
Ascitis	4 (14,2)
Encefalopatía	1 (3)
Carcinoma hepatocelular	2 (3,6)
Hemorragia por várices	3 (5,5)
Albúmina (g/dl)	3,77 (0,66)
Plaquetas	137 x 10 ³ (89 x 10 ³)
Obesidad	2 (3,6)
Dislipidemia	19 (34,5)
Diabetes	6 (11)
Hipertensión arterial sistémica	16 (29)

cirugías y las hospitalizaciones antes de 1994, así como el antecedente de diálisis, las enfermedades hematológicas y la práctica de rituales con cortes en el cuerpo mediante cuchillos o navajas potencialmente contaminadas (cuadro 2).

Por otra parte, el análisis univariado inicial no evidenció una asociación entre el sexo, el lugar de residencia, el régimen de salud, la utilización de jeringas no desechables (independientemente del nivel de formación del vacunador o del ámbito de aplicación: urbano o rural, institucional o domiciliario), los procedimientos odontológicos, la adicción a drogas psicoactivas o la punción accidental, y la presencia de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C.

Once de los sujetos infectados no habían recibido transfusiones, pero en este grupo se incluyeron mujeres que habían tenido parto vaginal, personas residentes en zonas rurales durante la infancia, que usaban drogas por vía parenteral o inhalada y tenían tatuajes, todos determinados como factores de riesgo de infección. Por otra parte, aunque se observó una tendencia al incremento de hospitalizaciones antes de 1994 en este grupo (72 % Vs. 46 %), las diferencias no alcanzaron la significación estadística ($p=0,09$) (cuadro 3).

Análisis multivariable

En el análisis multivariable se excluyó la presencia de enfermedades hematológicas debido a su fuerte asociación con la necesidad de transfusión sanguínea y para evitar la colinealidad en el modelo. De igual manera, no se tuvo en cuenta el antecedente de diálisis porque en los tres casos detectados en el inicio del estudio, esta había sido posterior al diagnóstico de hepatitis C.

Dicho esto, solamente la transfusión sanguínea, la cirugía, la hospitalización y las suturas antes de 1994, además de la historia de prácticas rituales con material potencialmente contaminado, se tuvieron en cuenta en el análisis multivariable (cuadro 4).

La transfusión sanguínea ($OR=159,2$; $IC_{95\%}$ 35,4-715; $p<0,001$) y el antecedente de hospitalización antes de 1994 ($OR=4,7$; $IC_{95\%}$ 1,3-17,1; $p=0,018$), se identificaron como los dos únicos factores independientes predictores de infección (cuadro 3). Las suturas ($p=0,31$), las cirugías anteriores a 1994 ($p=0,32$) y la práctica ritual tuvieron una asociación espuria en el modelo de regresión.

Discusión

Los antecedentes de transfusión sanguínea y de hospitalización antes de 1994 se evidenciaron como los dos únicos factores predictores independientes de infección. Aunque la utilización de productos sanguíneos antes de esta fecha se ha asociado con

Cuadro 2. Factores de riesgo para la infección por hepatitis C

	Casos n=55	Controles n=165	OR	IC _{95%}	p
Sexo masculino	23 (41,8)	55 (33,3)	1,43	0,76 - 2,68	0,25
Parto vaginal	51 (92,7)	159 (96,4)	2	0,56 - 7,6	0,26
Residencia en zona rural en la infancia	19 (35,2)	78 (47,3)	1,6	0,87 - 3,12	0,12
Uso de jeringas no desechables	16 (36,4)	37 (26,2)	1,6	0,78 - 3,2	0,19
Uso de jeringas no desechables en zona rural	6 (35,3)	22 (47,8)	0,59	0,18 - 1,8	0,37
Sutura global	45 (83,3)	128 (77,6)	1,4	0,64 - 3,2	0,36
Suturas antes de 1994	39 (70,9)	82 (49,7)	2,8	1,4 - 5,5	0,006
Cirugía antes de 1994	44 (80)	71 (43)	5,29	2,55 - 10,9	<0,001
Procedimientos odontológicos en la infancia	15 (27,3)	46 (28,9)	1,02	0,51 - 2,0	0,95
Adicción a drogas por vía intravenosa o inhaladas	4 (7,3)	7 (4,2)	1,7	0,49 - 6,2	0,37
Tatuajes	5 (9,1)	8 (4,8)	1,96	0,61 - 6,2	0,24
Rituales	4 (7,3)	0 (0)	1,07	1,001 - 1,16	<0,001
Régimen de salud					
Subsidiado	6 (11)	18 (11)	1		0,96
Contributivo	33 (60)	99 (60)	1,02	0,3 - 2,7	
Especial	5 (9)	15 (9)	1,07	0,2 - 4,2	
Medicina prepagada	10 (20)	30 (20)	0,83	0,2 - 2,6	
Transfusión global	45 (81,8)	7 (4,2)	101,5	36,5 - 281,9	<0,001
Transfusión sanguínea antes de 1994	44 (80)	3 (1,8)	216	57,7 - 808,0	<0,001
Diálisis	3 (5,6)	0 (0)	1,05	0,9 - 1,1	0,002
Punción accidental	2 (3,7)	1 (0,6)	6,3	0,56 - 70,9	0,08
Enfermedades hematológicas	3 (5,5)	0 (0)	1,05	0,9 - 1,1	0,003
Hospitalización antes de 1994	38 (69)	33 (20)	8,9	4,5 - 17,7	<0,001

OR: *Odds ratio***Cuadro 3.** Factores de riesgo para la infección por hepatitis C en los individuos que no habían recibido transfusión

	Casos n=11	Controles n=165	OR	IC _{95%}	p
Edad	52,2	58,6	NA	NA	0,11*
Sexo masculino	6 (54,5)	55 (33,3)	2,4	0,70 - 8,20	0,15
Parto vaginal	2 (18,2)	6 (3,6)	5,8	1,03 - 33,4	0,02
Residencia en zona rural en la infancia	78 (47,3)	1 (9,1)	8,9	1,12 - 71,6	0,014
Uso de jeringas no desechables	2 (28,6)	37 (26,2)	1,12	0,20 - 6,0	0,89
Suturas antes de 1994	7 (63,6)	82 (49,7)	1,77	0,50 - 6,20	0,37
Cirugía antes de 1994	6 (54,5)	71 (43)	1,58	0,46 - 5,41	0,45
Procedimientos odontológicos antes de 1994	3 (27,3)	39 (23,6)	1,2	0,30 - 4,70	0,78
Adicción a drogas por vía intravenosa o inhaladas	2 (18,2)	7 (4,2)	5	0,90 - 27,7	0,04
Tatuajes	3 (27,3)	8 (4,8)	7,35	1,60 - 33,1	0,003
Régimen subsidiado	1 (9,1)	18 (10,9)	0,81	0,09 - 6,77	0,85
Punción accidental	0 (0)	1 (0,6)	0,99	0,98 - 1,0	0,8
Hospitalización antes de 1994	8 (72,7)	77 (46,7)	3	0,78 - 11,8	0,09

OR: *Odds ratio*

*Comparación de medias

el HCV en casi todos los países latinoamericanos (1,5), los resultados de este estudio sugieren que la transmisión hospitalaria pudo ocurrir por otras vías que no se han tenido en cuenta hasta ahora.

Probablemente, el bajo porcentaje de unidades de sangre cribadas para el virus de la hepatitis C antes de 1993 o 1994 (4,19), cuando se implementaron las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para la transfusión segura,

explica que la transfusión de hemoderivados antes de esta fecha fuera el factor de riesgo más probable en este estudio, hallazgo que muy posiblemente se repita en casi todos los países latinoamericanos (1,5).

En esta muestra, ocho de cada diez infectados habían recibido una transfusión sanguínea antes de 1994. En este sentido, en los Estados Unidos se demostró que era costo-efectivo cribar a toda

Cuadro 4. Análisis multivariable por regresión logística de la infección por el virus de la hepatitis C. Modelo ajustado según los antecedentes de suturas o cirugías antes de 1994 y la práctica de rituales con material potencialmente contaminado

Variable	OR	IC _{95%}	p
Transfusión sanguínea antes de 1994	159,2	35,4 - 71,5	<0,001
Hospitalización antes de 1994	4,7	1,3 - 17,1	0,018

OR: Odds ratio

la población nacida entre 1945 y 1965, independientemente de la presencia de otros factores de riesgo, puesto que el 75 % de las personas infectadas había nacido en estas dos décadas (20).

De hecho, recientemente se puso a prueba una estrategia de tamización para el HCV en pacientes que habían recibido transfusiones antes de 1994 en el departamento de Antioquia. En ese estudio, se encontró una prevalencia de 6,6 % para anticuerpos frente al virus y de 4,2 % para la hepatitis C crónica, lo cual demuestra que la medida es una táctica efectiva de cribado y que, sin lugar a dudas, el antecedente de transfusión incrementa significativamente el número de infectados en nuestro país (6).

La asociación entre el antecedente de hospitalización antes de 1994, independientemente de la transfusión sanguínea, constituye, probablemente, el resultado más significativo de este estudio. Se controló el potencial sesgo de confusión utilizando un término de interacción que representaba exclusivamente a los pacientes que recibieron transfusión, el cual no se mantuvo en el modelo de regresión multivariable por su poca significación estadística ($p=0,40$), descartando que la relación observada entre la hospitalización antes de 1994 y la infección por el HCV respondiera a la posibilidad de que estos sujetos hubieran sido transfundidos durante esa hospitalización.

El antecedente de hospitalización se comportó en el modelo como un factor predictor independiente de infección, lo cual sugiere que otras vías diferentes a la transfusión tienen un papel significativo en la transmisión hospitalaria del HCV. Sin embargo, es difícil establecer con certeza la independencia de las transfusiones y la hospitalización, por la naturaleza retrospectiva de este estudio y el posible sesgo de memoria de los participantes.

Por otra parte, aunque se observó un incremento del número de hospitalizaciones antes de 1994

entre quienes no recibieron transfusiones, no fue posible establecer una asociación definitiva con la infección por el escaso número de pacientes incluidos en este grupo. La evaluación de otras variables tradicionalmente consideradas fuentes potenciales de infección, como el uso de jeringas no desechables o los procedimientos odontológicos, no se revelaron como factores de riesgo en esta población.

Se eligió el año de 1994 como punto de corte de la cohorte para poder considerar algunos antecedentes como factores de riesgo, ya que más del 90 % de los casos fueron diagnosticados después de esta fecha. De esta manera se incrementaba la posibilidad de que la presencia del antecedente (hospitalización, cirugías, suturas, etc.) representara un incremento del riesgo de exposición al virus y no una consecuencia de la enfermedad o sus complicaciones.

Además, en 1994 se inició la implementación de las recomendaciones de la OPS para la transfusión segura y el cribado para el HCV en los bancos de sangre en Latinoamérica, razón por la cual este año representa el punto de inflexión con respecto al riesgo asociado a la transfusión de hemoderivados.

Once de los casos no presentaban antecedentes de transfusión sanguínea, entre ellos, los de parto vaginal, adicción a drogas, tatuajes y los de residentes en zonas rurales durante la infancia, y se asociaron con la infección. El tamaño pequeño de la muestra no permitió hacer el análisis multivariable, por lo cual en este grupo no pudieron determinarse con certeza los factores determinantes de la infección.

Aunque la adicción a las drogas no apareció como un factor de riesgo reconocido en esta cohorte, es importante mencionar que en los cuatro casos que presentaban este antecedente, las drogas eran inhaladas y en ningún caso se administraban por vía intravenosa.

Este estudio aporta información valiosa sobre el perfil epidemiológico de los pacientes en la Costa Atlántica colombiana con base en una muestra de personas atendidas en el primer nivel de atención, lo cual aumenta la probabilidad de que estos datos reflejen la situación real de la población infectada y evita el sesgo de selección que puede presentarse en los centros de tercer y cuarto nivel, donde históricamente se ha concentrado un mayor número de pacientes.

Cincuenta y uno por ciento de los pacientes presentaban cirrosis en el momento de su inclusión en el estudio, datos que concuerdan con los resultados de un estudio en el que se describieron las características clínicas y epidemiológicas de una población de 162 infectados por HCV en Bogotá y en el cual 40 % de los pacientes con hepatitis C crónica tenía cirrosis hepática establecida, 20 % de ellos asociados a carcinoma hepatocelular (14).

En este estudio también se determinaron el estadio de la enfermedad y la edad avanzada como las principales causas de inelegibilidad para el tratamiento y, aproximadamente, 45 % de los participantes no había recibido antivirales por estos dos motivos.

Por otra parte, 34 % de los pacientes presentaba algunos signos de síndrome metabólico y el 14 % era diabético u obeso, factores que se asocian con la progresión de la fibrosis y el fracaso del tratamiento antiviral.

Al parecer, la edad avanzada y la presencia de algunas enfermedades concomitantes pueden tener profundas implicaciones en la evolución de la infección, por lo cual deben considerarse en la planeación del tratamiento integral de la enfermedad. La implementación de programas que promuevan la atención integral de los problemas de salud de estos pacientes ha resultado en un incremento en la elegibilidad para el tratamiento y en su cumplimiento en Estados Unidos y en algunos países europeos (21,22).

El genotipo más frecuentemente identificado en Colombia es el 1b (15), aunque en el presente estudio este no pudo establecerse en 67 % de los casos dada la gran proporción de pacientes inelegibles para el tratamiento debido a su edad o al estadio de la enfermedad, lo cual también fue una de las principales razones por las cuales no se hizo la genotipificación.

El carácter retrospectivo inherente a los estudios de casos y controles pudo haber introducido un sesgo de memoria, ya que se les solicitaba a los participantes que relataran sus antecedentes médicos desde la infancia hasta el presente, lo cual explica que algunas variables relevantes se hayan pasado por alto durante la entrevista. Para estimular la recordación de los eventos médicos importantes e incrementar la confiabilidad de la información, el cuestionario de la entrevista se dividió en dos partes: una para la infancia (antes de los 16 años) y otra para la vida adulta (a partir de los 16 años).

Los antecedentes de transfusión sanguínea y la hospitalización antes de 1994 se establecieron como los dos únicos predictores de infección por HBV. Esta información puede ser útil en la planificación de estrategias de tamización para la detección de nuevos infectados. Ahora bien, es necesario comprobar la reproducibilidad de los resultados y hacer estudios de costo-efectividad antes de recomendar su uso generalizado.

Agradecimientos

A Colciencias, por el apoyo para la formación de un joven investigador durante el desarrollo del proyecto.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ninguna relación de carácter financiero con ninguna organización o entidad que pudiera dar lugar a un conflicto de intereses con respecto a este artículo. La entidad financiadora no participó en el proceso de diseño del protocolo, la recolección de datos o la redacción del documento final.

Financiación

Esta investigación fue financiada por Janssen Cilag S.A.

Referencias

1. **Kershenobich D, Razavi HA, Sánchez-Ávila JF, Bessone F, Coelho HS, Dagher L, et al.** Trends and projections of hepatitis C virus epidemiology in Latin America. *Liver Int.* 2011;31(Suppl.2):18-29. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1478-3231.2011.02538.x>
2. **Beltrán M, Raad J, Ayala M, Ching R.** Tamizaje de enfermedades infecciosas en bancos de sangre, Colombia, 1995. *Biomédica.* 1997;17:137-42. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v17i2.938>
3. **Cortés AB, Beltrán M, Olaya B, Hernández M.** Riesgo de enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión en el Valle del Cauca, Colombia. *Colomb Med.* 1999;30:13-8.
4. **Schmunis GA, Zicker F, Cruz JR, Cuchi P.** Safety of blood supply for infectious diseases in Latin American countries, 1994-1997. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65:924-30.
5. **Botero RC, Tagle M.** Los nuevos tratamiento de hepatitis C: perspectivas latinoamericanas. *Clinical Liver Disease.* 2015;5:11-3. <http://dx.doi.org/10.1002/cld.466>
6. **Arroyave JC, Álvarez C, Correa G, Balcázar NM, Arbeláez MP, Navas MC.** Infección por el virus de la hepatitis C en individuos transfundidos antes de 1994 en Antioquia, Colombia. *Rev Col Gastroenterol.* 2014;29:383-9.
7. **Beltrán M, Navas MC, De la Hoz F, Muñoz M, Jaramillo S, Estrada C, et al.** Hepatitis C virus seroprevalence in multi-transfused patients in Colombia. *J Clin Virol.* 2005;34(Suppl.2):S33-8. [http://dx.doi.org/10.1016/S1386-6532\(05\)80032-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1386-6532(05)80032-0)

8. **Ramírez R, Fernández J, Guevara JG, Valderrama LA, León A, Arango J, et al.** Prevalencia de anticuerpos contra el virus de hepatitis C en unidades de diálisis de Cali-Colombia. *Rev Col Gastroenterol.* 2010;25:14-8.
9. **Sepúlveda-Árias JC, Isaza C, Vélez JP.** Hepatitis B and C prevalence among heroin addicts in methadone maintenance treatment (MMT) and not in MMT in Pereira, Colombia. *J Infect Dev Ctries.* 2014;8:1228-30. <http://dx.doi.org/10.3855/jidc.4525>
10. **Bautista H, Jaimes BZ, Hincapié ML.** Ausencia de infección por virus de la hepatitis C en usuarios de drogas ilícitas en la ciudad de Bucaramanga, Colombia. *Rev Col Gastroenterol.* 2011;26:15-20.
11. **Jaramillo C, Rubio A.** Encuesta sobre conocimientos, actitudes y prácticas de riesgo para la infección por VHB y VHC en el personal asistencial del Instituto de los Seguros Sociales. *Tribuna Médica.* 1996;94:20-5.
12. **Alvarado-Mora MV, Fernández MF, Gómes-Gouvea MS, de Azevedo-Neto RS, Carrilho FJ, Pinho JR.** Hepatitis B (HBV), hepatitis C (HCV) and hepatitis delta (HDV) viruses in the Colombian population--how is the epidemiological situation? *PLoS One.* 2011;6:e18888. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0018888>
13. **Montañez AR.** Prevalencia de la hepatitis C en comunidades indígenas: Ika, Chimila, Wayuu, Kogui, Wiwa de la península de La Guajira de Colombia. (tesis). Bogotá: Universidad Pontificia Bolivariana; 1996.
14. **Prieto JE, Sánchez S, Rojas L, Huertas S.** Hepatitis C crónica: aspectos clínicos, serológicos y de tratamiento en dos centros de atención en Bogotá, Colombia. *Rev Col Gastroenterol.* 2014;29:424-32.
15. **Di Filippo D, Cortés-Mancera F, Beltrán M, Arbeláez MP, Jaramillo S, Restrepo JC, et al.** Molecular characterization of hepatitis C virus in multi-transfused Colombian patients. *Virology.* 2012;9:242. <http://dx.doi.org/10.1186/1743-422X-9-242>
16. **van der Meer AJ, Veldt BJ, Feld JJ, Wedemeyer H, Dufour JF, Lammert F, et al.** Association between sustained virological response and all-cause mortality among patients with chronic hepatitis C and advanced hepatic fibrosis. *JAMA.* 2012;308:2584-93. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2012.144878>
17. **Deuffic-Burban S, Deltenre P, Buti M, Stroffolini T, Parkes J, Muhlberger N, et al.** Predicted effects of treatment for HCV infection vary among European countries. *Gastroenterology.* 2012;143:974-85. <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2012.05.054>
18. **Mazzanti MA.** Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos. *Revista Colombiana de Bioética.* 2011;6:125-44.
19. **Schmunis GA, Zicker F, Pinheiro F, Brandling-Bennett D.** Risk for transfusion-transmitted infectious diseases in Central and South America. *Emerg Infect Dis.* 1998;4:5-11. <http://dx.doi.org/10.3201/eid0401.980102>
20. **Smith BD, Morgan RL, Beckett GA, Falck-Ytter Y, Holtzman D, Teo CG, et al.** Recommendations for the identification of chronic hepatitis C virus infection among persons born during 1945-1965. *MMWR Recomm Rep.* 2012;61:1-32.
21. **Brener L, Gray R, Cama EJ, Treloar C.** 'Makes you wanna do treatment': Benefits of a hepatitis C specialist clinic to clients in Christchurch, New Zealand. *Health Soc Care Community.* 2013;21:216-23. <http://dx.doi.org/10.1111/hsc.12009>
22. **Evon DM, Simpson K, Kixmiller S, Galanko J, Dougherty K, Golin C, et al.** A randomized controlled trial of an integrated care intervention to increase eligibility for chronic hepatitis C treatment. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:1777-86. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2011.219>

ARTÍCULO ORIGINAL

Mortalidad por homicidios en Colombia, 1998-2012

Pablo Chaparro-Narváez, Karol Cotes-Cantillo, Willian León-Quevedo, Carlos Castañeda-Orjuela

Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. El homicidio es un indicador universal de violencia social con grandes consecuencias en salud pública.

Objetivo. Describir la mortalidad por homicidios, y analizar su tendencia y su distribución geográfica en Colombia entre 1998 y 2012.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo basado en la información de las bases de datos sobre mortalidad y las proyecciones de población del Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE. Se calcularon las tasas de mortalidad específica y ajustada por edad y sexo. Se analizó la distribución geográfica del promedio de tasas ajustadas a nivel municipal.

Resultados. En Colombia se registraron 331.470 homicidios entre 1998 y 2012. La tasa cruda promedio fue de 51,5 por 100.000 habitantes: 95,9 en hombres y 8,2 en mujeres. A partir del 2003 se observó una disminución en el número de muertes y tasas de mortalidad. El 91,9 % de las víctimas fueron hombres. Las tasas de mortalidad más altas se observaron en el grupo de 20 a 29 años. El mecanismo más frecuentemente involucrado fue el arma de fuego: en ocho de cada diez homicidios en hombres y en siete de cada diez en mujeres. De los 1.122 municipios, 186 estaban en el quintil más alto y acumularon el 50,1 % de las defunciones.

Conclusión. En Colombia los homicidios han sido una de las principales causas de muerte, con una distribución geográfica heterogénea y una tendencia hacia la reducción después de 2002. El análisis y la comprensión de este problema de salud pública exigen el uso de metodologías analíticas multidisciplinarias.

Palabras clave: homicidio; registros de mortalidad; estadísticas vitales; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2811>

Mortality by homicides in Colombia, 1998-2012

Introduction: Homicide is a universal indicator of social violence with large public health consequences.

Objectives: To describe mortality by homicides and to analyze its trends and geographic distribution in Colombia between 1998 and 2012.

Materials and methods: We conducted a descriptive study of deaths by homicide in Colombia between 1998 and 2012 using official mortality databases and the population projections of the *Departamento Administrativo Nacional de Estadística*, DANE. We calculated age- and sex-specific mortality rates, and we analyzed the geographical distribution of mean-adjusted homicide mortality rates at municipal level.

Results: Between 1998 and 2012, 331,470 homicides were reported in Colombia. The mean crude rate was 51.5 per 100,000 inhabitants: 95.9 in men and 8.2 in women. Since 2003, a decrease in the number of deaths and rates was observed; 91.9% of the victims were men and the highest mortality rates were reported in the 20-29 years old group. The most frequently involved mechanism was the firearm: Eight of 10 homicides in men, and seven of 10 homicides in women. Out of 1,122 municipalities, 186 were in the highest quintile, accumulating 50.1% of all deaths.

Conclusions: In Colombia, homicides have been one of the leading causes of death with a trend towards reduction since 2002. Its geographical distribution has been heterogeneous. To continue addressing this public health issue we must recur to multidisciplinary analytical methodologies for a better understanding of the phenomenon.

Key words: Homicide; mortality/registries; vital statistics; Colombia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2811>

El homicidio se ha considerado la más grave de las distintas formas de manifestación de la violencia (1) y tiene un profundo impacto social, pues

refleja condiciones de desigualdad, impunidad y corrupción, o la presencia del crimen organizado, además de aquellas propias del espacio privado y

Contribución de los autores:

Todos los autores participaron en el diseño del estudio, el análisis estadístico, la discusión de resultados y la redacción del manuscrito.

de las relaciones interpersonales (2,3). El homicidio es un importante problema de salud pública en Colombia y es un indicador universal de la violencia social. En el ámbito de la salud se le define como “la muerte por agresión con independencia de su calificación jurídica” y se ha constituido en el principal responsable de la alta tasa de mortalidad de la población a nivel mundial (4,5).

En el 2012, se reportaron en el mundo 437.000 homicidios, 36 % de ellos en las Américas, 31 % en África, 28 % en Asia, 5 % en Europa y 0,3 % en Oceanía. La tasa promedio de homicidios en el mundo fue de 6,2 por 100.000 habitantes. África del Sur y América Central, con más de 24 víctimas por 100.000 habitantes, fueron las subregiones que reportaron las tasas más altas a nivel mundial, seguidas por América del Sur, África Central y el Caribe (entre 16 y 23 homicidios por 100.000 habitantes), en tanto que Asia Oriental, Europa Meridional y Europa Occidental tuvieron tasas hasta cinco veces por debajo de la tasa mundial (6).

Las tasas de homicidios en Latinoamérica difieren entre los países. Argentina, Chile, Costa Rica y Uruguay han tenido las tasas más bajas, mientras que las más altas se han reportado en Brasil, México, Colombia, El Salvador, Honduras y Venezuela (7). En la década de 1980, Colombia presentaba las tasas más altas de homicidio entre los países de América, hasta la primera década del presente siglo cuando fue superado por Guatemala y El Salvador (1,8-10). Los homicidios llegaron a ser la primera causa de muerte en el país, por encima de las enfermedades cardiovasculares y pulmonares.

En el país existe un notable acervo de trabajos científicos sobre la violencia abordada en sus diferentes aspectos y desde diversas disciplinas. En algunos de dichos estudios se han analizado los factores asociados (3), la distribución por sexo y edad (11-13), las tendencias (14) y las relaciones con las variables económicas (15), pero son pocas las investigaciones sobre el homicidio desde un punto de vista socio-geográfico.

Correspondencia:

Pablo Chaparro-Narváez, Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Avenida Calle 26 N° 51-20, Bloque B, oficina 208, Bogotá, D.C., Colombia.
Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1389
pchaparro@ins.gov.co

Recibido: 29/05/15; aceptado: 26/04/16

El objetivo de este análisis fue describir la mortalidad por homicidios, y analizar su tendencia y su distribución geográfica en Colombia entre 1998 y 2012.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo de las muertes por homicidio ocurridas en Colombia entre 1998 y 2012. Se asumió la definición de homicidio propuesta por los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta, según la cual es la muerte resultante del uso de la fuerza física o el poder, ya sea por amenaza o de hecho, contra otra persona, grupo o comunidad, cuando las pruebas indican que el uso de la fuerza fue intencional (16). La fuente de información fueron las bases de datos sobre mortalidad del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), sus proyecciones de población y la división política administrativa de cada año establecida por esta misma institución.

Se analizaron las muertes codificadas como agresiones (códigos X85-X99, Y00-Y09) y secuelas de agresiones (Y87.1), de acuerdo con las normas de la décima revisión de la Clasificación Internacional de Enfermedades. Las variables consideradas en el análisis fueron las siguientes: año de registro de las defunciones, población total por año, número de muertes anuales, sexo, edad, área y sitio de defunciones, departamento y municipio del hecho, mecanismo de la lesión y código de la causa básica de defunción.

El mecanismo de la lesión se ajustó a la clasificación propuesta por los CDC (16), así:

- arma de fuego: método que emplea una carga de pólvora para disparar un proyectil;
- objeto cortante: cuchillo, navaja, machete o un instrumento puntiagudo (por ejemplo, cincel o vidrios rotos);
- objeto contundente: palo, piedra, ladrillo, etc.;
- envenenamiento por drogas, medicamentos, sustancias biológicas, plaguicidas, gases y vapores, otros productos químicos y sustancias nocivas;
- ahorcamiento, estrangulamiento y sofocación cuando la víctima ha sido colgada por el cuello, estrangulada manualmente, o se le colocó una bolsa de plástico en la cabeza;
- agresiones con fuerza corporal, como el uso de manos, puños o pies;
- agresiones por empujar desde un lugar elevado o delante de un objeto en movimiento;

- agresiones por ahogamiento y sumersión, como la inhalación de líquido en la bañera, un lago, u otra fuente de agua o líquido;
- agresiones con material explosivo, humo, fuego, llamas o vapores, como la inhalación de humo o los efectos directos de las quemaduras de fuego o químicos;
- agresiones por colisión de vehículos como automotores, autobuses, motocicletas, tren o avión;
- negligencia intencional: hambre, falta de una supervisión adecuada, negación de la atención de salud;
- agresiones con otros medios, es decir, cualquier método distinto de los anteriores, y
- agresiones por medios no especificados, es decir, un método que no se informa o no es conocido.

Esta clasificación de mecanismos se reagrupó teniendo en cuenta la lista de causas del estudio sobre la "Carga Global de la Enfermedad (CGE) 2010" (17), el cual clasifica los tipos de muerte por violencia interpersonal en tres grupos: agresión con arma de fuego, agresión con arma cortopunzante y agresión con otros medios.

Las muertes debidas a homicidios se analizaron en términos de frecuencias absolutas y relativas. Se calcularon las tasas de mortalidad específica por grupos de edad y sexo, y se expresaron en muertes por 100.000 personas al año. Se consideraron grupos de edad por quinquenios y se calcularon tasas de mortalidad ajustadas por edad y sexo con el método directo, tomando como población de referencia la población de Colombia en el 2005 (año censal).

Para representar gráficamente las tasas ajustadas de la mortalidad promedio del periodo, se utilizó una representación cartográfica en coropletas, con intervalos de quintiles, en la cual el quintil más alto representaba los municipios que registraron las tasas de mortalidad por homicidios más altas. Para este procedimiento, se utilizó la proyección cartográfica cilíndrica de Mercator y el sistema Datum MAGNA-SIRGAS con origen Bogotá.

Para el procesamiento de la información obtenida, se emplearon hojas de cálculo de Microsoft Excel 2010. La información se analizó con los programas estadísticos Stata 12 y R, y las tasas de mortalidad se representaron espacialmente utilizando el programa ArcGis 9.3.

Resultados

En Colombia, ocurrieron 331.470 homicidios entre 1998 y 2012, con un promedio de 22.098 homicidios por año. En relación con las muertes por todas las causas, los homicidios correspondieron al 11,5 % en promedio. La tasa cruda promedio para el periodo fue de 51,5 por 100.000 habitantes: 95,9 en hombres y 8,2 en mujeres. En el 2002 se registró el mayor número de muertes por esta causa, con un total de 31.807 defunciones, para una tasa de 77,0 muertes por 100.000 habitantes. Entre el 2003 y el 2008 se observó una disminución en el número de muertes. Sin embargo, en el 2009 se notó un aumento de 16,3 % (2.755 muertes más) con respecto al año anterior. A partir de 2010 volvió a registrarse un descenso (figura 1). Los más altos cambios porcentuales en las tasas de mortalidad se registraron entre 2002 y 2003, cuando estas disminuyeron en 20,5 %, y entre 2008 y 2009, cuando aumentaron en 15,0 %.

La mayoría de las víctimas en el periodo era del sexo masculino (91,9 %). La razón de hombre a mujer fue de, al menos, 10 a 1. Las tasas de mortalidad fueron más altas en hombres que en mujeres, y en los grupos de edad de 20 a 24 y de 25 a 30 años. El mecanismo más frecuentemente involucrado fue el arma de fuego (cuadro 1).

En la figura 2 se presentan las tasas de mortalidad específicas para homicidios por sexo para el periodo de 1998 a 2012. Las tasas más altas

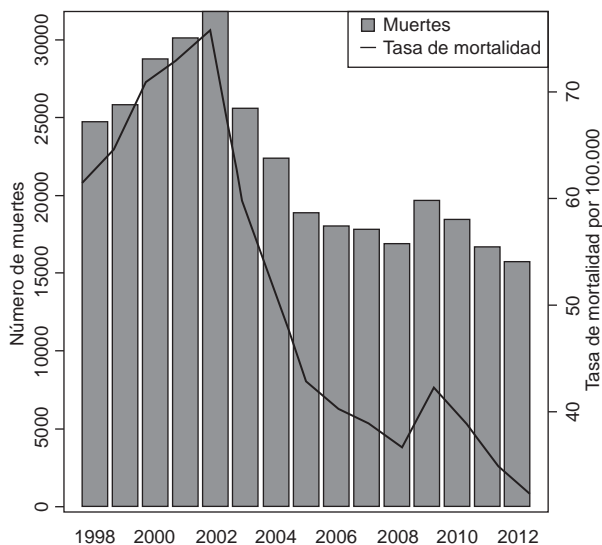


Figura 1. Número de muertes y tasas de mortalidad ajustada por homicidios, Colombia, 1998-2012

Fuente: cálculos a partir de Estadísticas vitales, DANE

Cuadro 1. Mortalidad por homicidio según sexo, grupo de edad, mecanismo empleado y razón de hombre a mujer, Colombia, 1998-2012

	1998			1999			2000			2001			2002			2003			2004			2005			
	n	%	Tasa	n	%	Tasa	n	%	Tasa	n	%	Tasa	n	%	Tasa	n	%	Tasa	n	%	Tasa	n	%	Tasa	
Sexo																									
Hombre	22.831	92,4	113,0	23.933	92,6	119,2	26.689	92,7	131,3	27.696	92,0	134,7	29.279	92,1	140,1	23.402	91,4	110,1	20.523	91,7	95,5	17.231	91,3	79,3	
Tasa ajustada			115,2			121,4			133,5			136,5			141,5			110,8			95,8			79,3	
Mujer	1.845	7,5	8,9	1.906	7,4	9,3	2.089	7,3	10,0	2.393	7,9	11,3	2.508	7,9	11,7	2.187	8,5	10,0	1.838	8,2	8,3	1.637	8,7	7,4	
Tasa ajustada			9,1			9,4			10,1			11,4			11,8			10,1			8,4			7,4	
Sin información	39	0,2		16	0,1		11	0,0		14	0,0		20	0,1		25	0,1		8	0,0		7	0,0		
Total	24.715	100,0	60,3	25.855	100,0	63,5	28.789	100,0	69,8	30.103	100,0	72,2	31.807	100,0	75,1	25.614	100,0	59,4	22.369	100,0	51,3	18.875	100,0	42,9	
Tasa ajustada			61,5			64,7			71,0			73,1			75,8			59,8			51,5			42,9	
Razón hombre a mujer	12,4		12,7	12,6		12,9	12,8		13,1	11,6		11,9	11,7		12,0	10,7		11,0	11,2		11,5	10,5		10,7	
Grupo de edad (años)																									
0-4	98	0,4	2,1	130	0,5	2,8	102	0,4	2,3	95	0,3	2,1	114	0,4	2,6	105	0,4	2,4	96	0,4	2,2	91	0,5	2,1	
5-9	82	0,3	1,8	60	0,2	1,3	85	0,3	1,9	76	0,3	1,7	70	0,2	1,5	58	0,2	1,3	39	0,2	0,9	50	0,3	1,1	
10-14	249	1,0	6,0	256	1,0	6,0	251	0,9	5,8	270	0,9	6,2	308	1,0	7,0	216	0,8	4,9	173	0,8	3,9	144	0,8	3,2	
15-19	3.249	13,1	85,6	3.489	13,5	90,9	3.741	13,0	96,1	3.887	12,9	98,5	3.940	12,4	98,4	2.796	10,9	68,8	2.288	10,2	55,5	1.973	10,5	47,2	
20-24	4.746	19,2	139,6	5.052	19,5	146,1	5.612	19,5	159,8	6.086	20,2	171,0	6.487	20,4	180,1	5.154	20,1	141,5	4.328	19,3	117,5	3.614	19,1	96,9	
25-29	4.140	16,8	131,5	4.312	16,7	137,9	4.936	17,1	157,9	4.880	16,2	155,1	5.370	16,9	168,5	4.308	16,8	132,8	3.807	17,0	115,2	3.358	17,8	99,8	
30-34	3.310	13,4	107,4	3.444	13,3	111,3	3.776	13,1	122,2	4.041	13,4	131,4	4.143	13,0	136,0	3.356	13,1	111,2	3.016	13,5	100,5	2.579	13,7	86,1	
35-39	2.567	10,4	94,1	2.772	10,7	99,0	3.195	11,1	111,7	3.386	11,2	116,3	3.549	11,2	120,3	2.875	11,2	96,5	2.495	11,2	83,3	2.080	11,0	69,4	
40-44	1.804	7,3	80,9	2.035	7,9	87,9	2.177	7,6	90,7	2.439	8,1	98,1	2.461	7,7	95,7	2.078	8,1	78,3	1.938	8,7	71,0	1.538	8,1	55,0	
45-49	1.256	5,1	70,1	1.417	5,5	76,2	1.642	5,7	84,9	1.612	5,4	80,2	1.723	5,4	82,4	1.465	5,7	67,4	1.331	6,0	58,9	1.061	5,6	45,3	
50-54	760	3,1	53,8	811	3,1	54,9	977	3,4	63,3	1.023	3,4	63,6	1.148	3,6	68,6	963	3,8	55,4	906	4,1	50,1	772	4,1	41,1	
55-59	555	2,2	48,6	538	2,1	46,2	628	2,2	52,3	614	2,0	49,3	674	2,1	51,9	558	2,2	41,1	502	2,2	35,3	445	2,4	30,0	
60-64	344	1,4	35,3	350	1,4	35,0	425	1,5	41,6	429	1,4	41,2	412	1,4	40,7	375	1,5	34,8	323	1,4	29,3	262	1,4	23,1	
65-69	207	0,8	26,6	250	1,0	31,3	239	0,8	29,1	283	0,9	33,5	274	0,9	31,5	240	0,9	26,8	207	0,9	22,5	188	1,0	19,9	
70-74	124	0,5	20,4	160	0,6	25,8	165	0,6	26,0	167	0,6	25,8	159	0,5	24,0	144	0,6	21,2	131	0,6	18,7	96	0,5	13,3	
75-79	87	0,4	20,0	98	0,4	21,7	95	0,3	20,4	98	0,3	20,4	88	0,3	17,9	91	0,4	18,1	91	0,4	17,9	76	0,4	14,7	
80 y +	77	0,3	21,7	79	0,3	21,1	101	0,4	25,6	86	0,3	20,7	90	0,3	20,7	77	0,3	19,9	84	0,4	17,5	70	0,4	14,0	
Sin información	1.060	4,3		602	2,3		642	2,2		631	2,1		778	2,4		741	2,9		614	2,7		478	2,5		
Mecanismo																									
Arma de fuego	20.449	82,7	21,703	83,9	24,455	84,9	25,727	85,5	27,175	85,4	21,357	83,4	18,675	83,5	15,174	80,4									
Arma corto-punzante	3.241	13,1	3,096	12	3,226	11,2	3,274	10,9	3,117	9,8	2,776	10,8	2,577	11,5	2,595	13,7									
Otras armas	1.018	4,1	1,049	4,1	1,099	3,8	1,097	3,6	1,504	4,7	1,475	5,8	1,117	5,0	1,104	5,8									
Sin información	7	0,0		7	0,0	9	0,0		11	0,0	6	0,0			6	0,0									
Total	24.715	100,0	25,855	100,0	28,789	100,0	30,103	100,0	31,807	100,0	33,103	100,0	34,807	100,0	36,614	100,0	38,369	100,0	40,188	100,0	42,000	100,0	43,875		
Sexo																									
Hombre	16.584	92	75,4	16.313	91,7	72,9	15.535	91,6	69,1	18.063	91,7	79,8	16.892	91,6	73,8	15.252	91,4	66,4	14.420	91,6	61,9	30.464	91,9		
Tasa ajustada			75,1			72,3			68,1			78,4			72,2			64,7			60,0			60,0	
Mujer	1.426	7,91	6,3	1.442	8,11	6,3	1.407	8,3	6,1	1.643	8,34	7,1	1.546	8,38	6,6	1.424	8,53	6,0	1.312	8,33	5,5	26.603	8,03		
Tasa ajustada			6,3			6,3			6,0			7,0			6,5			6,0			5,4			5,4	
Sin información	14	0,08		34	0,19		10	0,06		1	0,01		1	0,01		9	0,05		15	0,1		224	0,07		
Total	18.024	100	40,4	17.789	100	39,2	16.952	100	37,2	19.707	100	43,0	18.439	100	39,8	16.685	100	35,8	15.747	100	33,3	33.1470	100		
Tasa ajustada			40,3			38,9			36,7			42,3			38,9			35,0			32,4			32,4	

	2006		2007		2008		2009		2010		2011		2012		Total	
	n	%	Tasa	%	Tasa	%	Tasa	%	Tasa	%	Tasa	%	Tasa	%	n	%
Razón de hombre a mujer	11,6	12,0	11,3	11,6	11,0	11,3	11,0	11,2	10,9	11,2	10,7	11,1	11,0	11,3	11,5	
Grupo de edad (años)																
0-4	85	0,5	2,0	0,4	1,5	0,4	1,6	0,4	0,3	1,4	0,4	1,4	0,4	1,5	1,309	0,4
5-9	46	0,3	1,0	0,3	0,9	0,2	1,1	0,2	0,3	1,1	0,2	0,9	0,2	0,9	843	0,3
10-14	147	0,8	3,3	0,8	3,5	0,9	3,6	0,8	1,1	4,5	1,51	3,4	0,9	3,4	2,965	0,9
15-19	1.875	10,4	44,3	16,96	9,6	37,7	2,155	10,9	49,3	2,138	11,6	48,7	2,085	12,5	44,7	38,914
20-24	3.256	18,1	85,9	3,182	17,9	82,5	3,045	18,0	77,7	3,580	18,2	89,8	3,443	18,7	85,0	67,553
25-29	3.273	18,2	95,8	3,308	18,6	95,5	3,052	18,0	86,9	3,781	19,2	106,2	3,385	18,4	93,6	63,615
30-34	2.488	13,8	82,1	2,469	13,9	80,2	2,413	14,2	76,8	2,719	13,8	84,8	2,554	13,9	78,2	57,553
35-39	2.032	11,3	68,1	1,995	11,2	67,4	1,886	11,1	64,3	2,076	10,5	71,1	1,847	10,0	63,1	44,865
40-44	1.445	8,0	50,7	1,504	8,5	52,1	1,432	8,4	49,1	1,603	8,1	54,7	1,486	8,1	50,7	36,056
45-49	1.119	6,2	46,0	1,029	5,8	40,8	1,002	5,9	38,5	1,152	5,8	43,1	1,058	5,7	38,6	26,523
50-54	714	4,0	36,5	709	4,0	34,8	691	4,1	32,6	764	3,9	34,7	756	4,1	33,0	18,787
55-59	448	2,5	28,9	400	2,2	24,8	425	2,5	25,3	477	2,4	27,3	433	2,3	23,9	12,295
60-64	263	1,5	22,3	265	1,5	21,5	245	1,4	19,0	268	1,4	19,8	291	1,6	20,6	7,548
65-69	158	0,9	16,5	180	1,0	18,5	176	1,0	17,8	190	1,0	18,7	161	0,9	15,4	4,785
70-74	117	0,6	15,8	103	0,6	13,4	111	0,7	14,0	137	0,7	16,9	97	0,5	11,7	3,071
75-79	64	0,4	12,7	61	0,3	11,9	71	0,4	13,5	69	0,4	12,4	52	0,3	8,8	1,910
80 y +	37	0,2	7,1	62	0,3	11,5	80	0,5	14,4	91	0,5	15,8	95	0,5	16,0	1,171
Sin información	457	2,5		556	3,1		369	1,9		335	1,8		183	1,1		8,090
Mecanismo																
Arma de fuego	14.282	79,2	13,982	78,6	13,150	77,6	15,548	78,9	14,511	78,7	13,093	78,5	12,285	78	271,566	81,9
Arma corto-punzante	2.721	15,1	2,747	15,4	2,753	16,2	2,983	15,1	2829	15,3	2,615	15,7	2,475	15,7	43,025	13
Otras armas	1.016	5,6	1,058	5,9	1,047	6,2	1,171	5,9	1,096	5,9	973	5,8	982	6,2	16,806	5,1
Sin información	5	0,0	2	0,0	2	0,0	5	0,0	3	0,0	4	0,0	5	0,0	73	0,0
Total	18.024	100,0	17.789	100,0	16.952	100,0	19.707	100,0	18.439	100,0	16.685	100,0	15.747	100,0	331.470	100,0

Fuente: cálculos a partir de Estadísticas vitales, DANE

se observaron en el grupo de hombres de 20 a 29 años de edad. La tasa promedio más alta se registró entre hombres de 25 a 29 años (172,3 homicidios por 100.000).

La mayor tasa de mortalidad por homicidio en hombres, entre 1998 y 2004, se registró en el grupo de 20 a 24 años (267,6 y 222,2 por 100.000, respectivamente) y, entre el 2004 y el 2012, en el grupo de 25 a 29 años (219,7 y 133,5 por 100.000, respectivamente) (figura 3). En cuanto a las mujeres, en general, las tasas más altas las compartieron los grupos de 20 a 24 y de 25 a 29 años de edad, aunque en el 2002 se notó un incremento en las

tasas del grupo de 15 a 19 años, el cual igualó las del grupo de 20 a 24 años (figura 4).

Una alta proporción de homicidios (81,9 %) se perpetró con armas de fuego. Entre los hombres, estas se utilizaron en ocho de cada diez homicidios, en tanto que, entre las mujeres, estas se emplearon en siete de cada diez homicidios. Por otra parte, las armas corto-punzantes (17,1 %) y otro tipo de armas se usaron con mayor frecuencia en los homicidios de mujeres (2,2 %) (figura 5).

En la figura 6 se presenta la distribución del promedio de las tasas de mortalidad por homicidios ajustadas de acuerdo con sus quintiles. De los 1.122 municipios, 186 se ubicaron en el quintil más alto (Q5) y acumularon el 50,1 % de todas las defunciones. Cincuenta y seis de estos municipios pertenecían al departamento de Antioquia, con tasas ajustadas que variaron entre 82,1 y 290,7 muertes por 100.000 habitantes. Los municipios antioqueños de San Carlos, San Luis, San Francisco, Granada y Cocorná, situados al oriente del departamento, figuraron entre los doce con las tasas más altas de homicidios. Otros treinta municipios del quintil más alto (Q5) pertenecían al Valle del Cauca.

Los 187 municipios ubicados en el segundo quintil más alto (Q4) acumularon el 20,5 % de todos los homicidios. Cincuenta y dos de estos estaban localizados en Antioquia, con tasas que variaron entre 26,8 y 80,1 homicidios por 100.000 habitantes.

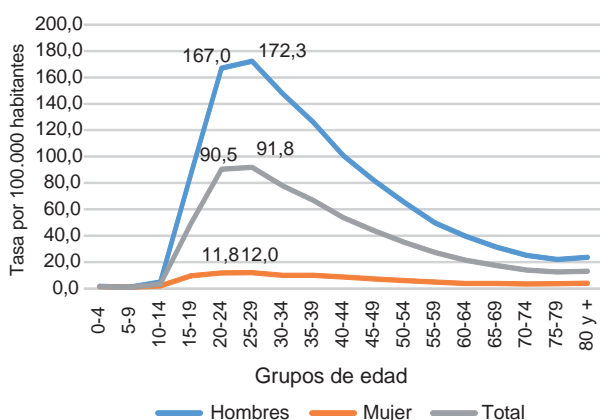


Figura 2. Tasas promedio anuales específicas de homicidios por sexo, Colombia, 1998-2012
Fuente: cálculos a partir de Estadísticas vitales, DANE

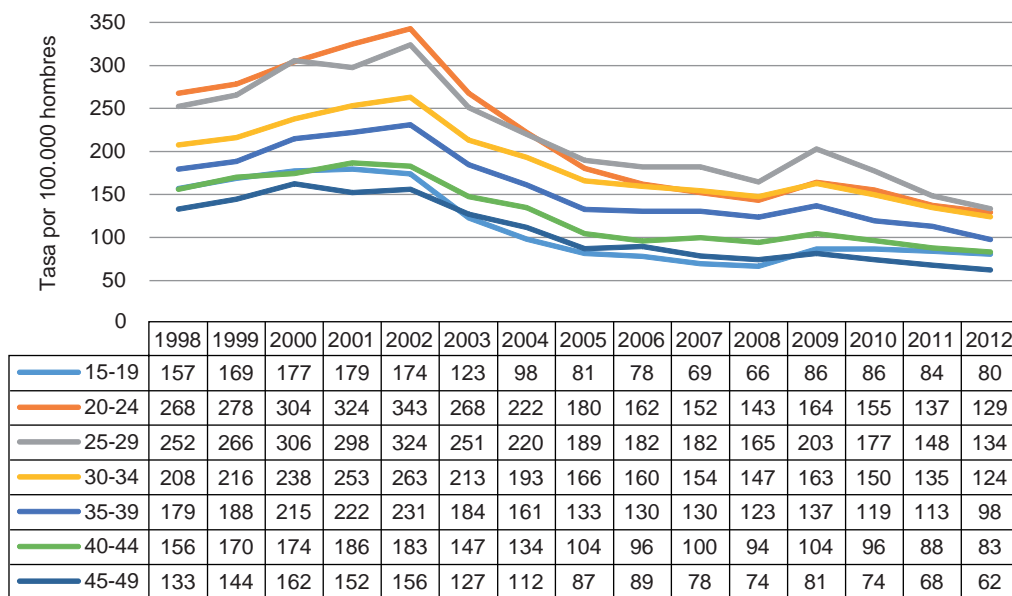


Figura 3. Tasas de homicidios en hombres según los grupos de edad más afectados, Colombia, 1998-2012
Fuente: cálculos a partir de Estadísticas vitales, DANE

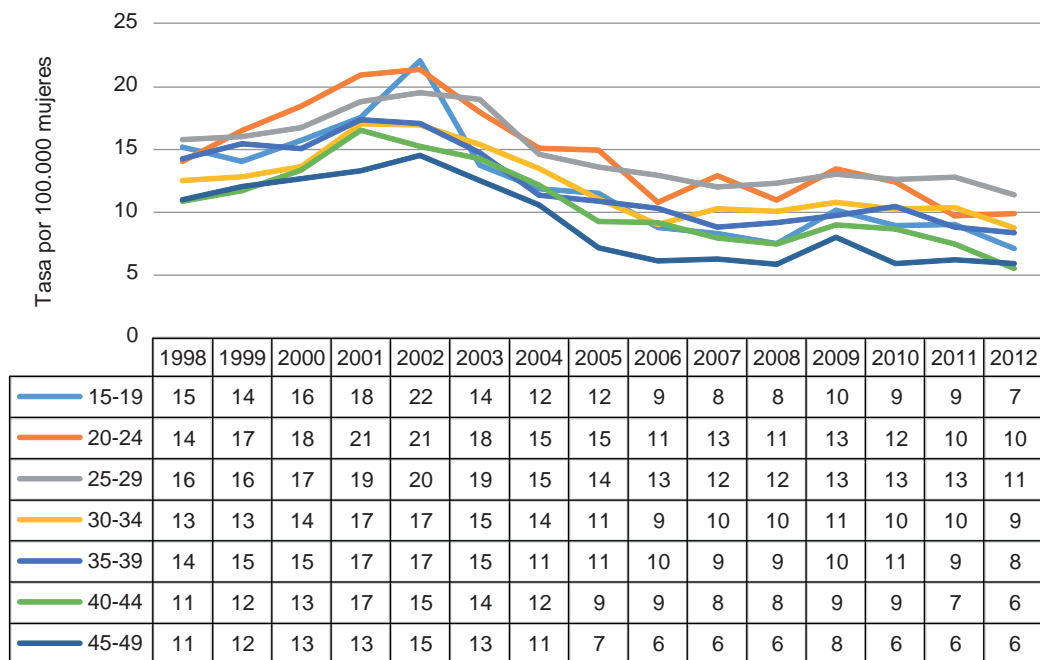


Figura 4. Tasas de homicidios en mujeres según los grupos de edad más afectados, Colombia, 1998-2012

Fuente: cálculos a partir de Estadísticas vitales, DANE

Nota: la escala empleada para presentar las tasas de homicidios en hombres según los grupos de edad más afectados varió entre 0 y 343 muertes por 100.000, mientras que la correspondiente a las mujeres fluctuó entre 0 y 22 muertes por 100.000.

Según el número de muertes, Medellín (Antioquia) fue el municipio que más muertes concentró, seguida por Cali (Valle del Cauca), ambos ubicados en el quintil más alto (Q5) por sus tasas de mortalidad. Bogotá, que ocupó la tercera posición en cuanto a número de muertes, se ubicó en el quintil intermedio (Q3) al considerar su tasa de mortalidad. En 370 municipios no se registraron muertes durante el periodo.

La mortalidad por homicidio en los municipios tuvo un comportamiento heterogéneo. Mientras que entre 1998 y 2002-2004, el número de muertes en Medellín, Cali y Cúcuta se incrementaba, en Bogotá y Pereira se reducía de forma paulatina. A partir del 2002 a 2004, Medellín, Cali y Cúcuta mostraron una disminución en el número de fallecimientos, aunque de forma irregular.

Discusión

En Colombia, la tasa cruda promedio para el periodo de 1998 a 2012 fue de 51,5 por 100.000 habitantes: 95,9 en hombres y 8,2 en mujeres. La razón de hombre a mujer fue de 10 a 1, como mínimo. Una alta proporción de los homicidios se perpetró con armas de fuego. Las tasas de mortalidad fueron más altas en hombres, y en los grupos de edad de 20 a 24 y de 25 a 30 años.

Algunos autores han atribuido la tendencia al aumento de la mortalidad por homicidios en Colombia entre 1998 y 2002 al incremento en el número de acciones propias del conflicto armado (18), en tanto que la marcada tendencia al descenso en la mortalidad por homicidios entre 2002 y 2012 se ha tratado de explicar de diferentes maneras. Se han mencionado, entre otras razones: el establecimiento del Plan Colombia (programa socioeconómico orientado a la lucha antidrogas que se desplegó para erradicar cultivos y cimentar una paz negociada con las guerrillas); la implementación de la política de seguridad democrática (19); la adopción de políticas y programas que restringieron el consumo de bebidas alcohólicas y el uso y porte de armas en ciudades como Medellín, Bogotá y Cali (20,21), y el proceso de la desmovilización de los paramilitares. Sin embargo, se ha señalado que, después del 2002, a estos elementos de disminución de la violencia homicida, se podrían haber sumado nuevos actores, factores y transformaciones, aunque la implementación del Plan Colombia, de la política de seguridad democrática y el proceso de desmovilización de los paramilitares efectivamente se reflejaron en la reducción de los homicidios (22).

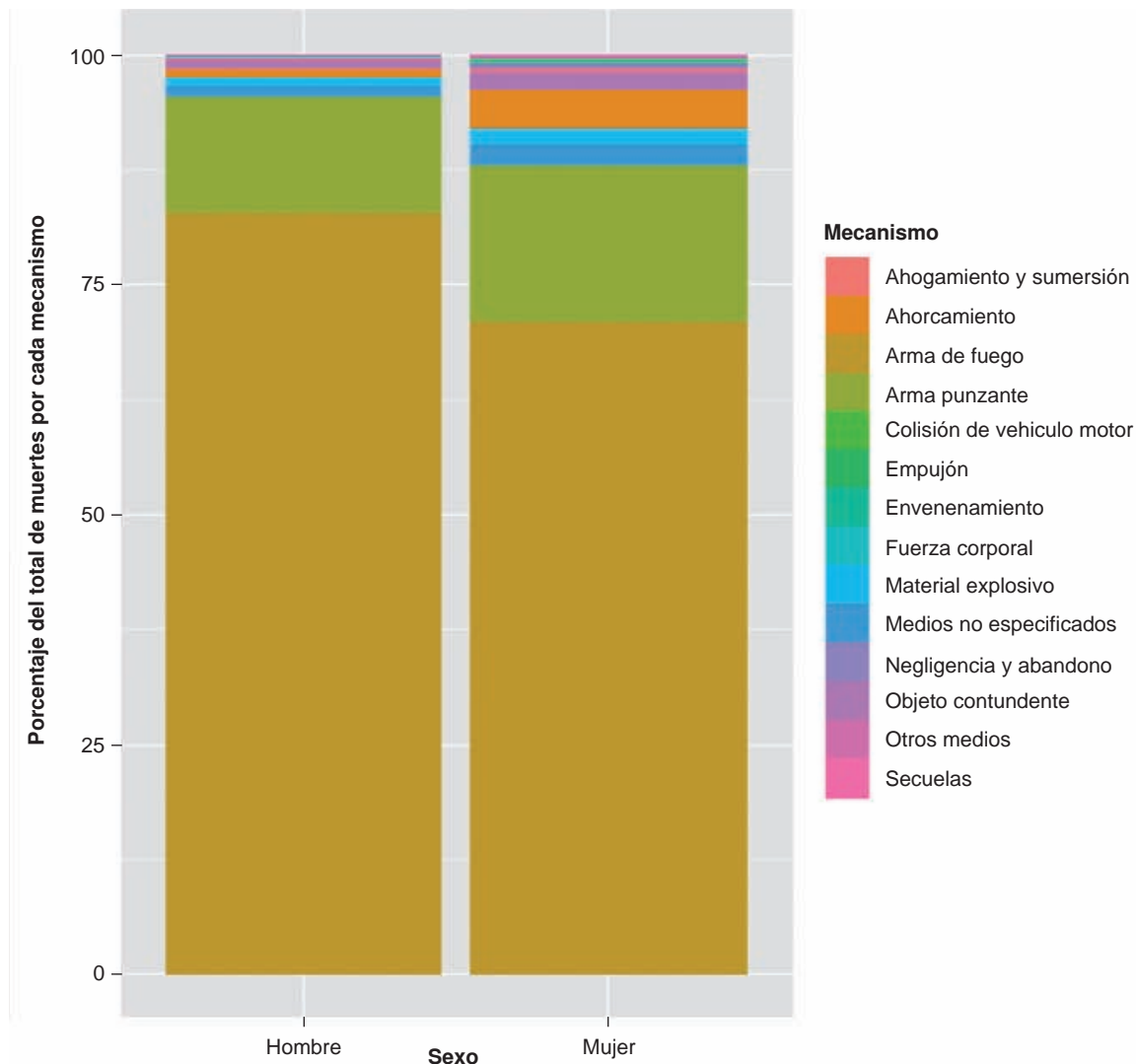


Figura 5. Mecanismo de la muerte por homicidio según sexo, Colombia, 1998-2012

Como lo han señalado otros estudios centrados en periodos diferentes al del presente estudio, los más afectados por los homicidios a nivel nacional y local han sido los hombres de 20 a 29 años de edad (23,24); por ejemplo, en Medellín, los más afectados fueron los hombres jóvenes con bajo nivel educativo y habitantes en barrios de estrato socioeconómico bajo con insuficiente intervención social (3).

Las armas de fuego han sido el principal mecanismo para perpetrar los homicidios, lo cual también coincide con lo hallado en otros estudios (3,24,25). Para reducir los niveles de violencia debidos al uso de armas de fuego en el país, se han empleado distintas estrategias de control de su tenencia, entre las que figuran la restricción de los

permisos de porte y la entrega voluntaria de armas. Estas intervenciones se han visto respaldadas con normas como el Decreto 514 de 2007 (26), la Ley 1119 de 2006 (27) y el Decreto 2535 de 1993 (28,29). Por otra parte, el país también ha participado en esfuerzos internacionales para controlar la disponibilidad y el tráfico ilícito de armas (30), pero no se ha evaluado el impacto real de estas medidas.

La distribución geográfica de la tasa de mortalidad debida a homicidios en el periodo estudiado fue desigual, lo cual podría explicarse por la existencia de distintos contextos políticos, económicos, culturales y legales (31). Dicha distribución geográfica indicaría una concentración en determinadas regiones del país, y su análisis ayudaría a determinar el

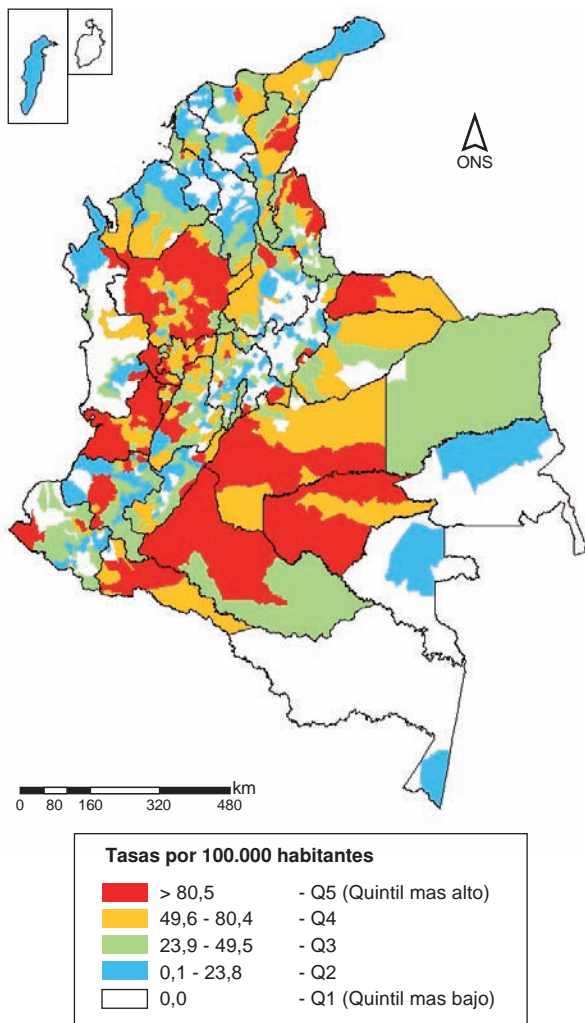


Figura 6. Tasas promedio de mortalidad por homicidio, ajustadas por edad y sexo, Colombia 1998-2012

origen y la dinámica de la violencia en el país y a enfatizar el hecho de que esta no se da de forma aleatoria y no es generalizada, sino que estaría asociada con la actuación de grupos organizados (32-34).

La descripción de la evolución del fenómeno de la violencia homicida en el país permite plantear hipótesis de posibles factores de riesgo y factores sociales determinantes, pero, resalta principalmente la relevancia del fenómeno como principal causa de muerte en el país y su preponderancia en la población más productiva, lo cual tiene graves consecuencias en salud pública y acarrea costos de atención en los servicios de salud, así como pérdida de productividad. La constatación de que el fenómeno responde a un patrón que no es aleatorio debe animar a los responsables de la toma

de decisiones a explorar medidas de intervención diferenciadas que influyan positivamente en la salud de la población colombiana.

La mayoría de las limitaciones de este análisis se relaciona con el uso de una fuente de información secundaria. Primero, las estadísticas vitales tienen problemas de cobertura por el eventual registro incompleto de los homicidios en el país, así como problemas por la mala clasificación de las muertes certificadas (19,35). Por otra parte, la comparación con otras fuentes de información, como el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses y la Policía Nacional de Colombia, podría evidenciar vacíos debido al registro de muertes que no fueron incluidas en las bases de datos del DANE. En segundo lugar están las limitaciones derivadas del contenido de la información que, en este caso, se relacionarían con las variables del estudio (sexo, edad, área y sitio de defunciones, departamento y municipio donde ocurrió el hecho, mecanismo de la lesión y código de causa básica). Sin embargo, debe reconocerse el esfuerzo del DANE para garantizar la calidad de la información.

A pesar de dichas limitaciones, los resultados presentados reflejan un panorama actualizado del homicidio en Colombia y dejan ver que ha sido una de las principales causas de muerte, aunque con una tendencia hacia la reducción a partir del 2002. La población más afectada ha sido la de los hombres entre los 20 y 29 años de edad, y el arma de fuego ha sido el principal medio utilizado para perpetrarlos, en tanto que su distribución geográfica ha sido heterogénea. Si se desea continuar enfrentando este problema de salud pública exitosamente, deben emplearse metodologías analíticas multidisciplinarias para entender el fenómeno en toda su complejidad, y, en consecuencia, involucrar a los distintos sectores, con el fin de evaluar, modificar y fortalecer las estrategias que se han venido empleando, y proponer otras nuevas en aras de seguir reduciendo la mortalidad debida a homicidios.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Financiación

Este trabajo se hizo con los recursos de funcionamiento del Observatorio Nacional de Salud del Instituto Nacional de Salud.

Referencias

- Gawryszewski VP, Sanhueza A, Martínez-Piedra R, Escamilla JA, Souza MF. Homicídios na região das Américas: magnitude, distribuição e tendências, 1999-2009. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2012;17:3171-82. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232012001200003>
- Short JF. Poverty, ethnicity, and violent crime. Boulder, CO: Westview Press; 1997.
- Cardona M, García HI, Giraldo CA, López MV, Suárez CM, Corcho DC, *et al*. Homicides in Medellín, Colombia, from 1990 to 2002: Victims, motives and circumstances. *Cad Saúde Pública*. 2005;21:840-51. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2005000300018>
- United Nations Office on Drugs and Crime. 2011 Global Study on Homicide. Trends, context, data. Vienna: UNODC; 2011.
- Krug EG, Dahlberg LL, Mercy JA, Zwi AB, Lozano R. World Report on Violence and Health. Geneva: World Health Organization; 2002.
- United Nations Office on Drugs and Crime. Global Study on Homicide 2013: Trends, contexts, data. Vienna: UNODC; 2013.
- Briceño-León R, Villaveces A, Concha-Eastman A. Understanding the uneven distribution of the incidence of homicide in Latin America. *Int J Epidemiol*. 2008;37:751-7. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyn153>
- Yunes J, Rajs D. Tendencia de la mortalidad por causas violentas en la población general y entre los adolescentes y jóvenes de la región de las Américas. *Cad Saúde Pública*. 1994;10(Supl.1):88-125. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X1994000500007>
- de Souza ER, de Melo AN, Franco SA, Alazraqui M, González-Pérez GJ. Estudo multicêntrico da mortalidade por homicídios em países da América Latina. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2012;17:3183-93. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232012001200004>
- Dávila-Cervantes CA, Pardo-Montaño AM. Magnitud y tendencia de la mortalidad por homicidios en Colombia y México, 2000-2011. *Rev Panam Salud Pública*. 2014;36:10-6.
- Gómez-Restrepo C, Rodríguez N, de Romero LC, Pinilla C, López E, Díaz-Granados N, *et al*. Homicidio y lesiones infligidas intencionalmente por otra persona. Colombia 1973-1996. *Rev Colomb Psiquiatr*. 2003;32:223-36.
- Bonilla L. Demografía, juventud y homicidios en Colombia, 1979-2006. Documentos de trabajo sobre economía regional. Cartagena: Banco de la República; 2009. p. 118.
- de la Hoz GA. Comportamiento del homicidio, Colombia, 2013. En: Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. *Forensis*, 2013. Datos para la vida. Bogotá: Imprenta Nacional; 2014. p. 77-115.
- Sánchez R, Tejada P, Martínez J. Patterns of violent death in Bogotá 1997-2003. *Rev Salud Pública*. 2005;7:254-67. <http://dx.doi.org/10.1590/S0124-00642005000300002>
- Moreno J, Sánchez R. Muertes por causas violentas y ciclo económico en Bogotá, Colombia: un estudio de series de tiempo, 1997-2006. *Rev Panam Salud Pública*. 2009;26:23-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892009000700004>
- Karch DL, Dahlberg LL, Patel N. Surveillance for violent deaths--National Violent Death Reporting System, 16 States, 2007. *MMWR Surveill Summ*. 2010;59:1-50.
- Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, *et al*. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2013;380:2095-128. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
- Echandía C. El conflicto armado colombiano en los años noventa: cambios en las estrategias y efectos económicos. *Colombia Internacional*. 2000;49-50:117-34.
- Franco S, Suárez CM, Naranjo CB, Báez LC, Rozo P. Efeitos do conflito armado sobre a vida e a saúde na Colômbia. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2006;11(Supl.):1247-58. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232006000500014>
- Villaveces A, Cummings P, Espitia VE, Koepsell TD, McKnight B, Kellermann AL. Effect of a ban on carrying firearms on homicide rates in 2 Colombian cities. *JAMA*. 2000;283:1205-9. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.283.9.1205>
- Sánchez AI, Villaveces A, Krafty RT, Park T, Weiss HB, Fabio A, *et al*. Policies for alcohol restriction and their association with interpersonal violence: A time-series analysis of homicides in Cali, Colombia. *Int J Epidemiol*. 2011;40:1037-46. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyr051>
- Granada S, Restrepo J, Vargas A. El agotamiento de la política de seguridad: evolución y transformaciones recientes en el conflicto armado colombiano. En: Restrepo JA, Aponte D, editores. *Guerra y violencias en Colombia, herramientas e interpretaciones*. 1ª edición. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana; 2009. p. 27-124.
- Franco S, Mercedes C, Rozo P, Gracia GM, Gallo GP, Vera CY, *et al*. Mortalidad por homicidio en Medellín, 1980-2007. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2012;17:3209-18. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232012001200006>
- Concha-Eastman A, Espitia VE, Espinosa R, Guerrero R. La epidemiología de los homicidios en Cali, 1993-1998: seis años de un modelo poblacional. *Rev Panam Salud Pública*. 2002;12:230-9. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892002001000003>
- Moreno C, Cendales R. Mortalidad y años potenciales de vida perdidos por homicidios en Colombia. *Rev Panam Salud Pública*. 2011;30:342-53. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892011001000008>
- Presidencia de la República de Colombia. Decreto 514 de 2007. Por el cual se adoptan medidas en materia de porte y tenencia de armas. Bogotá: Imprenta Nacional; 2007.
- Congreso de la República de Colombia. Ley 1119 de 2006. Por la cual se actualizan los registros y permisos vencidos para el control al porte y tenencia de las armas de fuego y se dictan otras disposiciones. Bogotá: Imprenta Nacional; 2006.
- Presidencia de la República de Colombia. Decreto 1470 de 1997. Por el cual se reglamenta el artículo 100 del Decreto Extraordinario 2535 de 1993. Bogotá: Imprenta Nacional; 1997.
- Presidencia de la República de Colombia. Decreto 2535 de 1993. Por el cual se expiden normas sobre armas, municiones y explosivos. Bogotá: Imprenta Nacional; 1993.

30. **Aguirre K, Restrepo JA.** El control de armas como estrategia de reducción de la violencia en Colombia: pertinencia, estado y desafíos. *Rev Crim.* 2010;52:265-84.
31. **Franco S.** El quinto, no matar: contextos explicativos de la violencia en Colombia. Bogotá: Tercer Mundo; 1999.
32. **Franco S.** A social-medical approach to violence in Colombia. *Am J Public Health.* 2003;93:2032-6.
33. **Sánchez A, Díaz AM, Peláez A, Castelblanco O, Tautiva J, González C, et al.** Evolución geográfica del homicidio en Colombia. Documentos de trabajo sobre economía regional. Cartagena: Banco de la República; 2012. p. 169.
34. **Vicepresidencia de la República, Observatorio del Programa Presidencial de Derechos Humanos y Derecho Internacional Humanitario.** Dinámica espacial de las muertes violentas en Colombia 1990-2005. Bogotá: Imprenta Nacional de Colombia; 2008.
35. **Alazraqui M, Spinelli H, Zunino MG, Ramos de Souza E.** La calidad de los sistemas de información de mortalidad por violencias en Argentina y Brasil, 1990-2010. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2012;17:3279-88. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232012001200013>

ORIGINAL ARTICLE

Monitoring the Paraguayan epidemiological dengue surveillance system (2009-2011) using Benford's law

Mariana Gómez-Camponovo¹, José Moreno², Álvaro J. Idrovo³,
Malvina Páez⁴, Marcel Achkar⁵

¹ Medicina Social, Centro Universitario Regional Litoral Norte sede Paysandú, Universidad de la República de Uruguay, Paysandú, Uruguay

² Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, D.C., Colombia

³ Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

⁴ Departamento de Salud Pública y Epidemiología, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Asunción, Asunción, Paraguay

⁵ Instituto de Ecología y Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República de Uruguay, Montevideo, Uruguay

Introduction: Dengue is the most widespread arbovirus worldwide. In Paraguay, it reappeared in 1988-1989, with one of the largest epidemic outbreaks occurring in 2011.

Objective: To evaluate the performance of the dengue epidemiological surveillance system in Paraguay between 2009 and 2011.

Materials and methods: We conducted an ecological study with secondary epidemiological surveillance data. We analyzed notified cases of the disease based on the distribution expected by Benford's law. To this end, we used the first and second digits from the global records stratified by region, season, population density, indicators of housing conditions and heads of cattle.

Results: The epidemiological surveillance system performed better during non-epidemic periods and in the states with better housing conditions and fewer heads of cattle.

Conclusion: Given that a difference in the performance existed, we recommended that the system remains operating at the same high alert level even during periods when fewer cases are expected. The technology used by the method proposed to monitor the notification of cases is easy to transfer to operational staff.

Key words: Vector control; disease notification; epidemiological surveillance; dengue; statistical distributions; Paraguay.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2731>

Evaluación del sistema de vigilancia epidemiológica del dengue en Paraguay entre 2009 y 2011 mediante la ley de Benford

Introducción. El dengue es la principal arbovirosis en el mundo. En Paraguay reapareció en 1988-1989, y en el 2011 se produjo uno de los mayores brotes epidémicos.

Objetivo. Evaluar el desempeño del sistema de vigilancia epidemiológica del dengue en Paraguay entre 2009 y 2011.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio ecológico basado en datos secundarios de la vigilancia epidemiológica. Con base en la distribución esperada según la ley de Benford, se analizaron los casos notificados de la enfermedad; para tal fin, se usaron los primeros y segundos dígitos de los registros globales y estratificados por regiones, estaciones, densidad poblacional, indicadores de las condiciones de la vivienda y número de cabezas de ganado bovino.

Resultados. El sistema de vigilancia epidemiológica se desempeñó mejor durante los periodos no epidémicos, y en los departamentos donde existen mejores condiciones de vivienda y pocas cabezas de ganado bovino.

Author's contributions:

Mariana Gómez-Camponovo: study design and data gathering

José Moreno: data gathering, processing and interpreting

Álvaro J. Idrovo and Malvina Páez: study design and data analysis

Marcel Achkar: data processing and interpreting

All authors participated in the writing of the paper.

Conclusión. Dadas las diferencias de desempeño, se recomendó que el sistema mantenga la alerta incluso cuando no se espere un mayor número de casos. El método propuesto para evaluar la notificación de casos es fácil de transferir al personal operativo.

Palabras clave: control de vectores; notificación de enfermedad; vigilancia epidemiológica; dengue; distribuciones estadísticas; Paraguay.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2731>

Dengue is the most widespread arbovirus worldwide, and it is endemic in over 100 countries (1). Dengue virus includes four antigenically related serotypes, DENV1-4. It was reintroduced in the Americas in the late 1980's and early 1990's, causing outbreaks in Bolivia, Brazil, Ecuador, Perú and Paraguay (2).

Given that the surveillance system has been considered as one of the problems involved in controlling the disease (3), optimizing its efficiency would make it possible to implement control measures in a timely manner.

In Paraguay, outbreaks of DENV-1 reappeared from 1988-1989 (4), causing an epidemic mainly in the states of Asunción, Central, Alto Paraná and Amambay (5). DENV-3 was detected in 2002 and a significant outbreak occurred in 2007, thereby continuing the circulation of DENV-1, DENV-2 and DENV-3 (6). Also during 2007, hemorrhagic dengue appeared for the first time in the country (7). One of the last and largest epidemics occurred in 2011 (8).

Knowledge about the environment is important since dengue is a vector disease in which the disease-transmitting mosquito travels short distances. Consideration for socioeconomic variables is also important to improve surveillance systems because in each local scenario they influence the distribution of the disease (1,9).

Regarding the epidemics of this infectious disease, epidemiological efforts aim at preventing new infections while clinical professionals engage in treating diagnosed cases. Once an epidemic is controlled, the performance of surveillance systems can be evaluated using general (10) or specific guidelines for the early detection of outbreaks (11) in order to detect possible deficiencies that should be addressed when planning for similar future contingencies.

Corresponding author:

Álvaro J. Idrovo, Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Carrera 32 N° 29-31, Bucaramanga, Colombia
Phone number: (577) 634 4000, extension 3195
idrovoaj@yahoo.com.mx

Received: 06/04/15; accepted: 28/04/16

In a globalized world, health surveillance systems functions may change, and this should be reflected in the guidelines and in collection and evaluation methods (12,13).

The attributes of a good surveillance system are simplicity, flexibility, data quality, acceptability, sensitivity, positive predictive value, representativeness, timeliness, and stability (10,14). Bias and noise in data from surveillance systems can occur due to a number of problems, which are endogenous to the system itself, as explained by Thomas, *et al.* (15).

Usually, epidemiological surveillance systems are evaluated after epidemics occur, as there is lack of rapid evaluation methods to identify whether cases fall within expectations during the event. Fortunately, a method based on Benford's law or Newcomb-Benford law was already proposed and successfully tested during the influenza A (H1N1) pandemic (16). In our case, we used the method to evaluate two characteristics of surveillance systems: data quality and system sensitivity, in order to support the Paraguayan authorities in improving their epidemiological surveillance system for dengue between 2009 and 2011 by checking how well the data fit with an objective evaluation tool such as Benford's law.

Materials and methods

Background

Paraguay has over 6 million inhabitants; it has 17 states besides the capital, where political and economic powers are concentrated (figure 1). The Paraguay River divides the country geographically; the eastern region is more densely populated than the western region, which borders Bolivia and Argentina. Although it has no coasts, the Paraguay and Paraná rivers provide the country with a route to the Atlantic Ocean, which serves to export a variety of products, mainly soy and beef (figure 1).

The dengue surveillance system in Paraguay is part of the *Estrategia de Gestión Integrada*, EGI, and is organized so that any suspected febrile syndrome (17) generates a notification with a unique febrile case detection number (<http://www>.

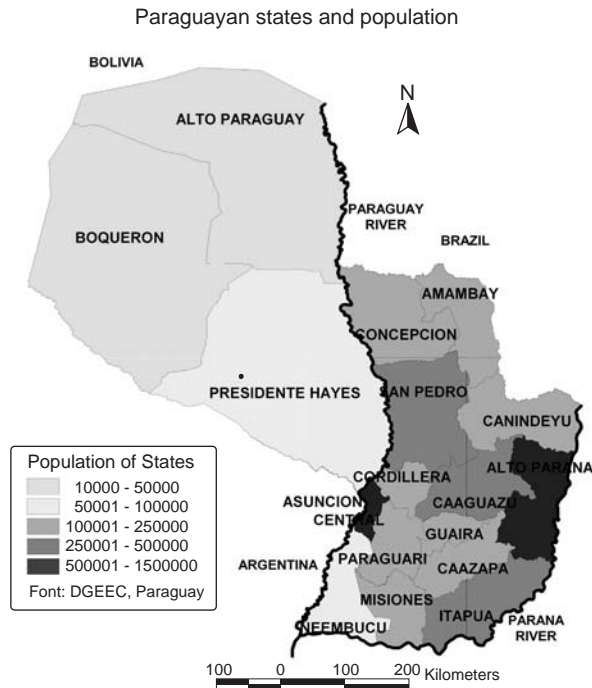


Figure 1. Paraguayan states and population

mspbs.gov.py/dengue/). When these cases occur, the *Unidad Epidemiológica Regional*, UER of the corresponding sanitary district (a total of 18, one in each state and in the capital) must be notified. The UER then reports to the national level.

Source of data

The study used official data related to suspect dengue cases for the period 2009-2011, obtained from the *Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social* web site (<http://www.mspbs.gov.py/>). The analysis included information from weeks 1 to 29 for the year 2009, weeks 1 to 10 and 12 to 29 for 2010 and weeks 5 to 52 for 2011. The weeks that were not included corresponded to periods during which there were no reports. A suspected case was defined as a case of non-specific acute febrile syndrome notified from an area with endemic circulation of dengue virus (2,18) (figure 2).

National socioeconomic data were obtained from the 2002 census conducted by the *Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos* (<http://www.dgeec.gov.py/>), in order to evaluate whether the performance was uniform at different times and country regions. We took into account earlier findings reported in the literature indicating that certain social and geographic conditions were associated with the presence of the disease (18-20). The data included population, percentage of households with dirt floors and other better types, percentage of households that burn or bury garbage and percentage of households without electricity. We also collected data on the number of heads of cattle registered with the *Ministerio de Agricultura y Ganadería* (<http://www.mag.gov.py/>) since land use

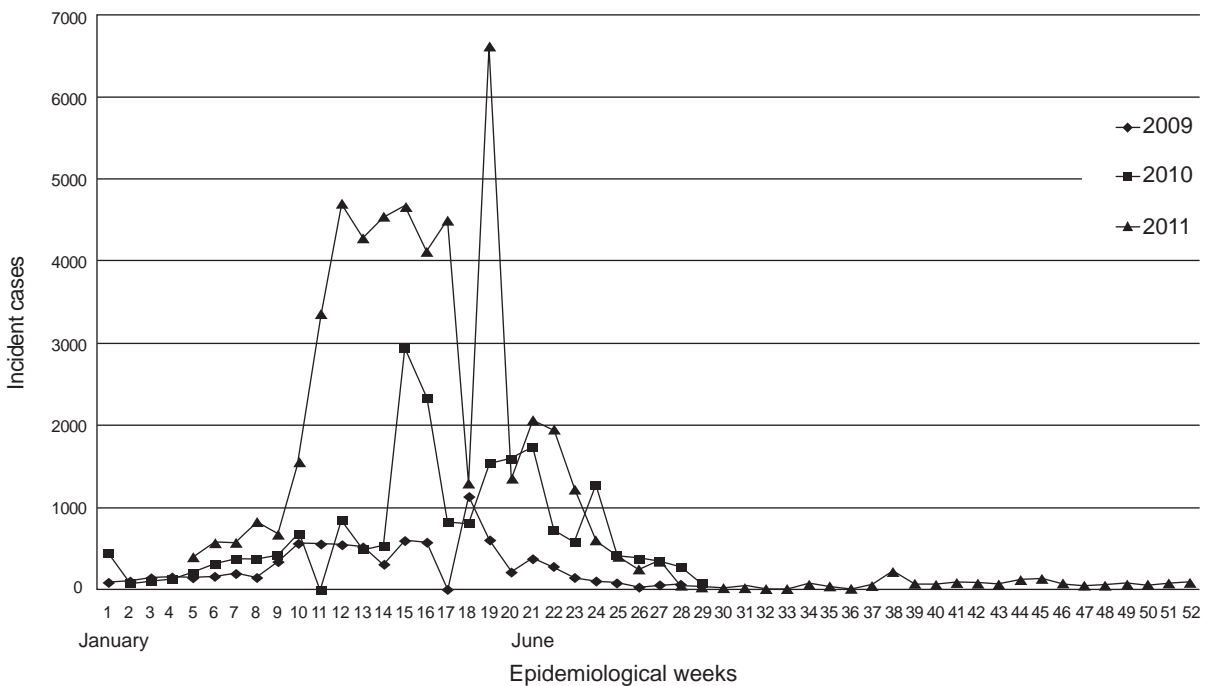


Figure 2. Weekly occurrence of dengue in Paraguay (2009-2011)

practices such as intensive livestock farming could be associated with the occurrence of arbovirus infections outbreaks (21).

Evaluation using Benford's law

Benford's law states that for a determined set of numbers, those whose first digit is 1 will appear more frequently than those beginning with other digits. This principle has been verified as a normal distribution pattern in nature, and there is a satisfactory mathematical explanation for it (22) indicating that it applies to dimensionless quantities and, therefore, that numerical values do not depend on measurement units. This distribution is common in the analysis of a health event, i.e., data can be counted and analyzed according to individual units (such as cases of an illness) or based on average values for thousands or hundreds of thousands of persons (such as rates). Although algebraically the process is not complex, we do not develop it herein. Nevertheless, the information that we consulted enabled us to conclude that the "distribution of distributions" of a sampling of natural count data does fit with Benford's Law.

Formally, this can be expressed as $P(d_i) = \log_{10} [1 + (1/d_i)]$, $d_i = 1, 2, \dots, 9$, where for a series of numbers, $P(d_i)$ is the probability that a digit will be the first number (22). Numerous researchers have applied the law to different kinds of data (22,23) since Benford's original paper (24) was first published. For instance, population numbers, death rates, lengths of rivers and non-fraudulent financial and electoral data have been found to fit the distribution (22,23). The scientific literature provides some explanations for Benford's law (25,26), for instance, the good fit of the Newcomb-Benford law to empirical data responds to the fact that the frequency with which objects occur in 'nature' is inverse to their size. Very small objects occur much more frequently than small ones, which in turn occur more frequently than large ones, and so on. This can be applied to epidemiological surveillance systems, in which few cases are reported more frequently than many cases and epidemic curves are distributed across multiple orders of magnitude (ones, tens, hundreds, etc.) (27).

Using a similar logic, when measured values are known, the second digit can be evaluated to assess subtler differences resulting from *a posteriori* changes, and small changes alone may be sufficient to achieve a target distribution. The second digit is

useful mainly when data have many zeros, thereby enabling more observations to be included in the analysis (16). In this case, the expected occurrence of each digit results from the following equation:

$$P(d_2) = \sum_{k=1}^9 \log_{10} (1 + (10k + d_2)^{-1}), \quad d_2 = 0, 1, 2, \dots, 9,$$

where $P(d_2)$ is the probability of a digit being the second number (23,28).

For the present evaluation, we performed an overall analysis using weekly data reported by the 18 UERs in Paraguay. We analyzed the data from each year and stratified them in six regions: North (Amambay, Concepción, and San Pedro); West-Central (Central, Cordillera, and Paraguari); East-Central (Alto Paraná, Caaguazú, Caazapá, Canindeyú, and Guaira); South (Itapúa, Misiones, and Ñeembucú); Chaco (Alto Paraguay, Boquerón, and Presidente Hayes), and the Metropolitan Region (Asunción), as well as in the four seasons and the quartiles for the other variables previously mentioned.

Statistical analysis

We used χ^2 and log-likelihood ratio tests to assess the fit of the reported number of dengue cases to Benford's law. We also calculated correlations between variables to explore the potential co-variation and redundancy of information among the variables analyzed. The analyses were conducted with the Stata 11[®] statistical software (Stata Corporation, USA) using the digdis module developed by Ben Jann (ETH Zurich).

Results

Figure 2 shows dengue cases reported by epidemiological week. Two notable results are the periods during which there were no reports, and reports with zero cases. An overall evaluation of the surveillance system performance based on the first digit (figure 3) showed that it did not fit Benford's law (χ^2 log-likelihood, $p < 0.001$), since it appeared many more times than was expected (37.4% vs. 30.1%), and the digits 4 (7.5% vs. 9.7%), 6 (6.1% vs. 6.7%), and 8 (4.3% vs. 5.1%) appeared less than expected ($p > 0.05$, Pearson's χ^2 test). Nevertheless, when we evaluated the second digit we observed that it fit the distribution expected for these digits (figure 3).

Table 1 summarizes the stratified analysis, which showed that the behavior of the first digit fitted Benford's law for 2009 in the west-central region during summer and in those states with more population, better housing conditions and fewer heads of cattle. The behavior of the second digit

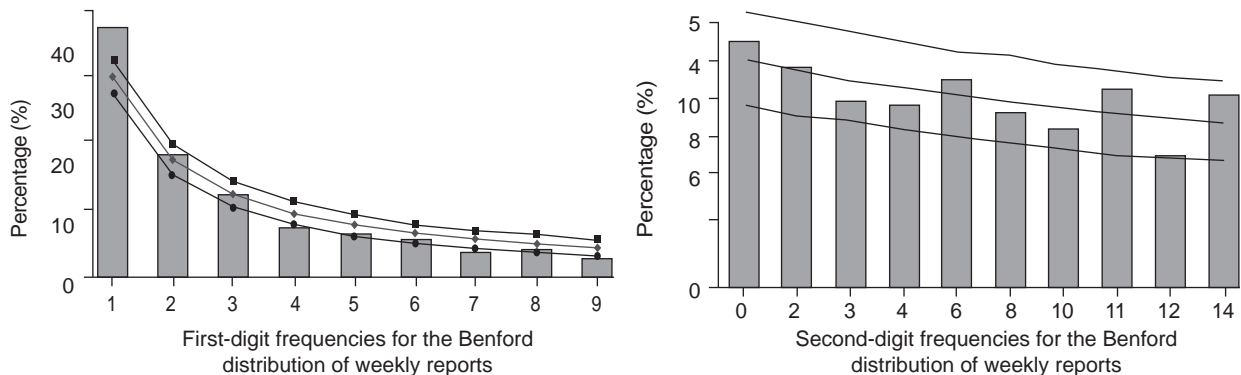


Figure 3. First- and second-digit frequencies for the Benford distribution of weekly reports. The upper and lower lines represent, respectively, the upper and lower limits of the confidence interval for the estimation of the expected mean of number of cases under de Benford's law assumption (middle line).

also fitted Benford's law, except for certain categories, such as autumn and spring seasons, the third and fourth population quartiles, the first and second quartiles of households with dirt floors, the third quartile of burning garbage and the highest quartile of heads of cattle. On the other hand, population variables were negatively correlated with variables reflecting poor housing conditions (table 2), and these latter variables were strongly correlated with each other.

Discussion

It is important to note that the behavior of the first digit did not fit Benford's law, with the following exceptions: The west-central region, summer months, the more densely populated states with fewer households with dirt floors and fewer households burning or burying garbage, households with better access to electricity and places with fewer heads of cattle. These data suggest that epidemiological surveillance performed better in the states of Central, Cordillera and Paraguari (west-central). However, given the high number of zeros, it was necessary to take into account the second digit, with which we observed a better fit with Benford's law. The analysis with the second digit was also useful to evaluate the problem of differences in the number of cases due to significant reporting irregularities.

In general, the strong association among variables related to housing conditions indicates precarious services in the immediate surroundings, which may also be related to a higher vector density in the periphery of urban centers, where poor sanitation is often more frequent and the microclimate contributes to the increase in mosquito populations (29-31).

It is worth noting that we observed a better fit during summer months both with the first and second digits. Using the second digit to analyze housing and environment conditions at state level improved the possibility of identifying those states with more notification problems.

These findings suggest that dengue epidemiological surveillance in Paraguay has generally performed well, especially in more urbanized states with less heads of cattle, during summer months and during periods with a low occurrence of dengue, which may be explained by the fact that dengue outbreaks generally occur during hot months, when the environmental conditions are ideal for vector proliferation, i.e., high temperatures and moderate to high relative humidity. Besides, *Aedes aegypti* is an urban mosquito that makes use of available infrastructure for its reproduction (32,33).

The analysis took into account the geographic distribution and housing conditions in the localities, and we obtained information pertaining to the behavior of the disease and its distribution in the region. It is a well-known fact that the quality of the data provided by an epidemiological surveillance system is crucial to make appropriate and timely decisions (15). The case definition of dengue used by a surveillance system should be carefully studied, given the evidence found in Brazil that suggests that under-reporting is directly related to the quality of the data (15,34,35).

Some authors have not found any particular patterns associated with unfavorable socioeconomic conditions (9,33,36), while the work by Barcellos, et al. (37) in Porto Alegre associated dengue cases with favorable socioeconomic conditions.

Table 1. Fit of the Paraguayan epidemiological dengue surveillance data with Benford's law (first and second digits), according to variables under study*

Variables	First digit			Second digit		
	Analyzable cases	Pearson's χ^2	Log-likelihood ratio	Analyzable cases	Pearson's χ^2	Log-likelihood ratio
		p-value	p-value		p-value	p-value
Year						
2009 (endemic)	322	0.70	0.67	126	0.76	0.78
2010 ("pre-epidemic")	362	<0.00	<0.00	181	0.86	0.86
2011 (epidemic)	534	<0.00	<0.00	284	0.50	0.51
Region						
West-Central	253	0.51	0.46	141	<0.00	<0.00
East-Central	334	0.01	0.01	156	0.76	0.77
Chaco	121	0.07	0.03	36	0.59	0.48
Metropolitan	99	0.67	0	84	0.15	0.13
North	242	0.01	0.01	143	0.31	0.27
South	169	0.01	<0.00	31	0.81	0.75
Seasons						
Summer	415	0.13	0.10	213	0.27	0.25
Fall	542	0.01	0.01	303	0.02	0.03
Winter	147	<0.00	<0.00	35	0.43	0.20
Spring	114	<0.00	<0.00	40	<0.00	<0.00
Population						
1 st quartile	215	0	0	50	0.87	0.86
2 nd quartile	284	<0.00	<0.00	142	0.44	0.44
3 rd quartile	343	0.01	0.01	128	0.03	0.04
4 th quartile	376	0.42	0.42	271	0.02	0.02
Houses with dirt floor (%)						
1 st quartile	476	0.69	0.66	339	0.06	0.06
2 nd quartile	254	<0.00	<0.00	73	0.05	0.05
3 rd quartile	303	<0.00	<0.00	135	0.11	0.15
4 th quartile	185	<0.00	<0.00	44	0.43	0.39
Houses burning or burying trash (%)						
1 st quartile	440	0.19	0.16	336	0.17	0.18
2 nd quartile	255	0.05	0.03	86	0.59	0.57
3 rd quartile	325	0.02	0.02	123	0.03	0.06
4 th quartile	198	<0.00	<0.00	46	0.90	0.89
Houses without electricity (%)						
1 st quartile	434	0.11	0.08	297	0.14	0.14
2 nd quartile	273	0.12	0.06	89	0.17	0.14
3 rd quartile	339	<0.00	<0.00	152	0.42	0.39
4 th quartile	172	<0.00	0.00	53	0.53	0.48
Heads of cattle						
1 st quartile	434	0.11	0.08	297	0.14	0.14
2 nd quartile	216	<0.00	<0.00	33	0.71	0.63
3 rd quartile	323	<0.00	0.00	151	0.14	0.15
4 th quartile	245	0.05	0.03	110	0.04	0.02

*First and second digit comparisons between observed data and expected ones; p-values under 0.05 indicate rejection of the Benford's law either by means of the χ^2 or the likelihood tests.

Table 2. Spearman correlations between variables with state attributes

	(1)	(2)	(3)	(4)
(1) Population	1			
(2) Houses with dirt floor (%)	-0.5893*	1		
(3) Houses burning or burying trash (%)	-0.1971*	0.771*	1	
(4) Houses without electricity (%)	-0.7812*	0.8122*	0.4014*	1
(5) Heads of cattle	-0.5624*	0.6718*	0.2941*	0.8308*

* p<0.01

The relationship of these variables to dengue may be due to unclear socioeconomic segmentation in the city and the location of sectors with better conditions near those with poor conditions (38,39). Significant population mobility may also explain the mosquito's unexpected spatial distribution pattern (38).

Nevertheless, it is accepted that the proliferation of the vector increases when conditions are favorable to its reproduction (20,38,40), including socioeconomic conditions (39).

The method developed by Buckeridge, *et al.* is the only one known to us that also evaluates certain characteristics of surveillance systems. This method uses algorithms that require the processing of a large number of data and analysis by statisticians and experts (41), and, therefore, its widespread application in contexts such as Latin America would be difficult. On the other hand, the method we propose has the advantage of requiring little data while providing robust results.

However, as a mathematical law, the results should be considered to reflect only what is expected, i.e., that cases that do not conform to the expected behavior, indicate, in principle, "abnormality", but only with regard to the desired results under the law. In other words, the law is applicable to the occurrence of unexpected frequencies during an epidemic, which is an indication of a system's poor performance or an uncommon situation with respect to the epidemiological phenomenon analyzed.

In fact, as a mathematical model, Benford's law only constitutes an approach to explain an expected model of the frequency of the number of cases of a disease. However, the fact that the disease being analyzed does not fit the law implies the need for a deeper perspective, either because the surveillance system is incorrectly reporting the figures related to the epidemic or, given the nature of the phenomenon, it is not plausible for it to fit the law.

The lack of fit of the data to Benford's law is also apparent during the initial phase of an epidemic when there are reporting problems, as well as in other circumstances (16). Consequently, this type of surveillance systems evaluation applies ideally when notifications are increasing in order to make the needed real-time corrections and fits.

A limitation of the present study is the use of secondary data, which may reflect under-reporting due to difficulties in accessing health services. In

addition, asymptomatic cases are frequent and affect the quality of the data whose spatial reach at state level is also a limiting factor. If more disaggregated data were available, problems could be detected for smaller areas and the difficulties for obtaining better quality data could be investigated.

Furthermore, the socioeconomic information came from the last census (2002) because it provided disaggregated data for the variables included in the study. Nevertheless, a recent study (42) did not find large changes in socioeconomic conditions since the last census.

Another limitation is that results are not the same for all types of data or under all circumstances (26). Therefore, unlike our first study (16), the present work focused on dengue and incorporated variables that addressed the conditions present in the region. In other studies, the authors used this methodology to evaluate data of social interest, such as responses to surveys, and found different fits in terms of Benford's law (43). They also considered the lack of fit to the law as a red flag, and given the "generalizability" (44) of the technique, they recommended complementing it with additional *a posteriori* analyses.

Therefore, the way the process is conducted (16) in a given system should be considered to make timely adjustments to plans and redirect resources.

The present study made it possible to identify states where there was a fit with Benford's law and, therefore, we deemed it successful in terms of contributing to prioritizing actions and improving resources distribution (45). In addition, this is the first epidemiological study to incorporate the use of the second digit, and confirm its potential usefulness when the surveillance system reports a high number of zeros.

In conclusion, our findings may be useful to the ongoing epidemiological surveillance of dengue, as it was possible to identify when the system performed best, i.e., when a possible increase in incidences was expected, such as during summer months. We suggested keeping the system functioning at the same level during all seasons (46).

Surveillance systems should continue to investigate, innovate and incorporate new technologies that enable rapid estimations and that have demonstrated their ability to respond to disease activity in a more timely manner (13,47).

On the other hand, those who have searched for accessible techniques that quickly provide information in real-time (48), the so-called epidemic intelligence, indicate that few tools have been designed to enable using numbers in absolute terms in the field of public health because the conditions needed to develop them for traditional health surveillance indicators do not always exist (49).

In this sense, research is necessary in order to quickly improve quality and obtain alerts regarding the performance of case notification. This is important since surveillance data is crucial to address issues related to control and prevention activities, such as identifying at-risk groups and monitoring the effectiveness of interventions (46).

To be effective, surveillance systems should respond to the evaluation system and its various established procedures (50). We consider the comparison of the observed distribution of digits with those expected by Benford's law to be a technological development, which is relatively easy to implement at the operational level, and detects problems in the notification system, as already mentioned. Thereafter, health authorities will need to monitor more closely zones with performances that differ from what was expected.

Finally, we were able to recommend a process with well-defined steps, which combines internal and external evaluations that would help in the implementation of necessary measures.

Moreover, the method could contribute to the prevention of neglected diseases by using cost-effective public health interventions (51). Benford's law allows for an objective evaluation of surveillance systems data quality, which is one of the characteristics included in the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) guidelines (10) to ensure better disease surveillance.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

Funding

The authors financed the study.

References

1. Wilder-Smith A, Renhorn KE, Tissera H, Abu Bakar S, Alpheyy L, Kittayapong P, *et al.* DengueTools: Innovative tools and strategies for the surveillance and control of dengue. *Glob Health Action*. 2012;5:17273. <http://dx.doi.org/10.3402/gha.v5i0.17273>
2. Pan American Health Organization. Hemispheric plan to expand and intensify efforts to combat *Aedes aegypti*. Caracas: PAHO; 1997. Date of access: August 10, 2013. Available from: <http://www1.paho.org/english/Hcp/Hct/doc406.pdf>
3. Camacho T, de la Hoz F, Cárdenas V, Sánchez C, de Calderón L, Pérez L, *et al.* Incomplete surveillance of a dengue-2 epidemic in Ibagué, Colombia, 1995-1997. *Biomédica* 2004;24:174-82. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v24i2.1263>
4. Giménez VPE, Carpinelli MM, Ferreira L, Rovira C. Evaluation of the vulnerability to acquire hemorrhagic dengue in adult patients attending the Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud in 2007. *Mem Inst Investig Cienc Salud*. 2009;7:45-9.
5. Benítez-Leite S, Machi M, Gibert E, Rivarola K. Conocimientos, actitudes y prácticas acerca del dengue en un barrio de Asunción. *Rev Chil Pediatr*. 2002;73:64-72. <http://dx.doi.org/10.4067/S0370-41062002000100013>
6. Matheus S, Meynard JB, Lavergne A, Girod R, Moua D, Labeau B, *et al.* Dengue-3 outbreak in Paraguay: Investigations using capillary blood samples on filter paper. *Am J Trop Med Hyg*. 2008;79:685-7.
7. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Epidemia de dengue en Paraguay. Boletín Epidemiológico Semanal. 2007;13:1-2. Date of access: August 17, 2013. Available from: http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/D991CF10AFDEFFBCC12572C1004007AA-Reporte_completo.pdf.
8. Arbo A. New guidelines for treatment of dengue. *Pediatría (Asunción)*. 2011;38:8-38.
9. Machado JP, Oliveira RM, Souza-Santos R. Análise espacial da ocorrência de dengue e condições de vida na cidade de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2009;25:1025-34. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009000500009>
10. German RR, Lee LM, Horan JM, Milstein RL, Pertowski CA, Waller MN, *et al.* Updated guidelines for evaluating public health surveillance systems: Recommendations from the Guidelines Working Group. *MMWR Recomm Rep*. 2001;50:1-35.
11. Buehler JW, Hopkins RS, Overhage JM, Sosin DM, Tong V, Group CDCW. Framework for evaluating public health surveillance systems for early detection of outbreaks: Recommendations from the CDC Working Group. *MMWR Recomm Rep*. 2004;53:1-11.
12. Sánchez-Tarragó N, Arriola-Martínez Y. La vigilancia epidemiológica internacional en Cuba 2009-2011. *Rev Cubana Salud Pública*. 2014;40:317-30.
13. Oliveira CM, Cruz MM. Health Surveillance System in Brazil: Advances and challenges. *Saúde Debate*. 2015;39:255-67. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-110420151040385>
14. Caro-Murillo AM, Moreno-Iribas C, Irisarri F, Aldaz P, Napal V, Varela Santos C, *et al.* Evaluation of the surveillance system for human immunodeficiency virus infections of Navarra, Spain, 1985-2003. *Rev Esp Salud Pública*. 2007;81:387-98.
15. Thomas EG, McCaw JM, Kelly HA, Grant KA, McVernon J. Quantifying differences in the epidemic curves from three influenza surveillance systems: A nonlinear regression analysis. *Epidemiol Infect*. 2015;143:427-49. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268814000764>

16. **Idrovo AJ, Fernández-Niño JA, Bojórquez-Chapela I, Moreno-Montoya J.** Performance of public health surveillance systems during the influenza A(H1N1) pandemic in the Americas: Testing a new method based on Benford's Law. *Epidemiol Infect.* 2011;139:1827-34. <http://dx.doi.org/10.1017/S095026881100015X>
17. **Vilcarrero S, Casanova W, Ampuero JS, Ramal-Asayag S, Siles C, Díaz G, et al.** Lessons learned in the control of *Aedes aegypti* to address dengue and the emergency of chikungunya in Iquitos, Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública* 2015;32:172-8.
18. **Deen JL, Harris E, Wills B, Balmaseda A, Hammond SN, Rocha C, et al.** The WHO dengue classification and case definitions: Time for a reassessment. *Lancet.* 2006;368:170-3. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69006-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69006-5)
19. **Chowell G, Cazelles B, Broutin H, Munayco CV.** The influence of geographic and climate factors on the timing of dengue epidemics in Perú, 1994-2008. *BMC Infect Dis.* 2011;11:164. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-11-164>
20. **Cordeiro R, Donalisio MR, Andrade VR, Mafra AC, Nucci LB, Brown JC, et al.** Spatial distribution of the risk of dengue fever in southeast Brazil, 2006-2007. *BMC Public Health.* 2011;11:355. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-11-355>
21. **Nieto NC, Khan K, Ullah G, Teglas MB.** The emergence and maintenance of vector-borne diseases in the Khyber Pakhtunkhwa Province, and the Federally Administered Tribal Areas of Pakistan. *Front Physiol.* 2012;3:250. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2012.00250>
22. **Hill T.** The first digit phenomenon. *American Scientist.* 1998;86. Date of access: September 12, 2013. Available from: <http://people.math.gatech.edu/~hill/publications/PAPER%20PDFS/TheFirstDigitPhenomenonAmericanScientist1996.pdf>.
23. **Durtschi C HW, Pacini C.** The effective use of Benford's law to assist in detecting fraud in accounting data. *Journal of Forensic Accounting.* 2004;5:17-34.
24. **Benford F.** The law of anomalous numbers. *Proc Am Philos Soc.* 1938;78:551-72.
25. **Fewster RM.** A simple explanation of Benford's law. *American Statistician.* 2009;63:26-32. <http://dx.doi.org/10.1198/tast.2009.0005>
26. **Raimi RA.** The first digit problem. *Am Math Mon.* 1976;83:521-38. <http://dx.doi.org/10.2307/2319349>
27. **Brown RJ.** Benford's Law and the screening of analytical data: The case of pollutant concentrations in ambient air. *Analyst.* 2005;130:1280-5. <http://dx.doi.org/10.1039/b504462f>
28. **Nigrini MJ, Miller SJ.** Data diagnostics using second-order tests of Benford's Law. *Auditing: A Journal of Practice & Theory.* 2009;28:305-24. <http://dx.doi.org/10.2308/aud.2009.28.2.305>
29. **Barrera R.** Spatial stability of adult *Aedes aegypti* populations. *Am J Trop Med Hyg.* 2011;85:1087-92. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2011.11-0381>
30. **Dieng H, Saifur RG, Ahmad AH, Salmah MR, Aziz AT, Satho T, et al.** Unusual developing sites of dengue vectors and potential epidemiological implications. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2012;2:228-32. [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60047-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60047-1)
31. **Sutherst RW.** Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:136-73. <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.17.1.136-173.2004>
32. **Maciel-de-Freitas R, Marques WA, Peres RC, Cunha SP, Lourenço-de-Oliveira R.** Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102:489-96. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762007005000056>
33. **Teixeira TR, Cruz OG.** Spatial modeling of dengue and socio-environmental indicators in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saúde Pública.* 2011;27:591-602. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2011000300019>
34. **Duarte HH, Franca EB.** Data quality of dengue epidemiological surveillance in Belo Horizonte, Southeastern Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2006;40:134-42. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102006000100021>
35. **Toledo AL, Escosteguy CC, Medronho RA, Andrade FC.** Reliability of the final dengue diagnosis in the epidemic occurring in Rio de Janeiro, Brazil, 2001-2002. *Cad Saúde Pública.* 2006;22:933-40. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2006000500006>
36. **Mondini A, Chiaravalloti Neto F.** Socioeconomic variables and dengue transmission. *Rev Saúde Pública.* 2007;41:923-30. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89102007000600006>
37. **Barcellos C, Pustai AK, Weber MA, Brito MR.** Identificação de locais com potencial de transmissão de dengue em Porto Alegre através de técnicas de geoprocessamento. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38:246-50. <http://dx.doi.org/10.1590/S0037-86822005000300008>
38. **Souza LS, Barata RC.** Intraurbanos na distribuição de dengue em C Diferenciais uiabá, 2007 e 2008. *Rev Bras Epidemiol.* 2012;15:761-70. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2012000400008>
39. **Thammapalo S, Chongsuvivatwong V, Geater A, Dueravee M.** Environmental factors and incidence of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in an urban area, Southern Thailand. *Epidemiol Infect.* 2008;136:135-43. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268807008126>
40. **Pessanha JE, Caiaffa WT, Kroon EG, Proietti FA.** Dengue em três distritos sanitários de Belo Horizonte, Brasil: inquérito soropidemiológico de base populacional, 2006 a 2007. *Rev Panam Salud Pública.* 2010;27:252-8. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892010000400003>
41. **Buckeridge DL, Okhmatovskaia A, Tu S, O'Connor M, Nyulas C, Musen MA.** Predicting outbreak detection in public health surveillance: Quantitative analysis to enable evidence-based method selection. *AMIA Annu Symp Proc.* 2008;2008:76-80.
42. **Dirección General de Estadística, Encuestas y Censos.** Encuesta permanente de hogares, 2009. Date of access: August 23, 2013. Available from: <http://www.dgeec.gov.py/Publication/index.php#nogo>.
43. **Judge G, Schechter L.** Detecting problems in survey data using Benford's Law. *Journal of Human Resources.* 2009;44:1-24.
44. **Beer TW.** Terminal digit preference: Beware of Benford's law. *J Clin Pathol.* 2009;62:192. <http://dx.doi.org/10.1136/jcp.2008.061721>

45. **Baker MG, Easther S, Wilson N.** A surveillance sector review applied to infectious diseases at a country level. *BMC Public Health.* 2010;10:332. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2458-10-332>
46. **Runge-Ranzinger S, Horstick O, Marx M, Kroeger A.** What does dengue disease surveillance contribute to predicting and detecting outbreaks and describing trends? *Trop Med Int Health.* 2008;13:1022-41. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2008.02112.x>
47. **Teixeira CF.** SUS, modelos assistenciais e vigilância da saúde. In: Rozenfeld S, editor. *Fundamentos de vigilância sanitária.* Rio Janeiro: FIOCRUZ; 2000. p. 49-60.
48. **World Health Organization.** Early detection, assessment and response to acute public health events: Implementation of early warning and response with a focus on event-based surveillance, 2014. Date of access: February 19, 2016. Available from: http://www.who.int/ihr/publications/WHO_HSE_GCR_LYO_2014.4/en/
49. **Drumond MJ.** *Epidemiologia nos municípios.* 2nd ed. San Pablo: HUCITEC; 2011. p. 217.
50. **World Health Organization.** *Communicable disease surveillance and response systems. A guide to planning.* Geneva: WHO; 2006. Date of entry: April 22, 2016. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/surveillance/WHO_CDS_EPR_LYO_2006_1.pdf
51. **Ault SK, Nicholls RS.** El abordaje integral de las enfermedades tropicales desatendidas en América Latina y el Caribe: un imperativo ético para alcanzar la justicia y la equidad social. *Biomédica.* 2010;30:159-63.

ARTÍCULO ORIGINAL

Efecto de las alteraciones genéticas y epigenéticas de la cadherina E y su expresión en la transcripción en la propensión al cáncer de mama

Andrés Felipe Aristizábal-Pachón¹, Catarina Satie-Takahashi^{1,2}

¹ Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

² Departamento de Biología, Faculdade de Filosofia, Ciências y Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Introducción. La cadherina E (*CDH1*) cumple un papel importante en la transición epitelio-mesénquima y está relacionada con la invasión y las metástasis en varios tipos de carcinomas. Sin embargo, el efecto de las mutaciones y 'epimutaciones' germinales en la propensión al cáncer de mama no es claro.

Objetivo. Evaluar el polimorfismo rs5030625, los cambios en el patrón de metilación del promotor y la expresión en la transcripción del gen *CDH1* en pacientes con cáncer de mama.

Materiales y métodos. Se tomaron muestras de sangre periférica de 102 pacientes con cáncer de mama y 102 mujeres de control. La genotipificación del polimorfismo rs5030625 se hizo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y análisis de polimorfismos de longitud del fragmento de restricción; la PCR y el análisis de disociación de alta resolución sensible a metilación se emplearon para determinar el estado y el nivel de metilación del promotor del *CDH1*; por último, el nivel de expresión en la transcripción del *CDH1* se evaluó mediante PCR cuantitativa con transcripción inversa.

Resultados. Los resultados no evidenciaron asociación entre el polimorfismo rs5030625 y el cáncer de mama. Se encontraron perfiles aberrantes de metilación del promotor del *CDH1* en las pacientes con cáncer de mama relacionados con las primeras etapas de desarrollo del cáncer. La disminución de la expresión del *CDH1* se asoció con la presencia de metástasis y el estado de metilación del promotor.

Conclusión. Las alteraciones en el *CDH1* se asociaron con la invasión y las metástasis en el cáncer de mama. Se proporcionó evidencia adicional sobre la relevancia del *CDH1* en el desarrollo y la progresión del cáncer de mama.

Palabras clave: neoplasias de la mama/genética; cadherinas; reacción en cadena de la polimerasa; polimorfismo de longitud del fragmento de restricción; reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3135>

Effect of genetics, epigenetics and variations in the transcriptional expression of cadherin-E in breast cancer susceptibility

Introduction: Cadherin-E (*CDH1*) is an important regulator of epithelial-mesenchymal transition, invasion and metastasis in many carcinomas. However, germinal epimutations and mutations effect in breast cancer susceptibility is not clear.

Objective: To evaluate rs334558 polymorphism, promoter methylation status and *CDH1* expression profile in breast cancer patients.

Materials and methods: We collected peripheral blood samples from 102 breast cancer patients and 102 healthy subjects. The identification of rs334558 polymorphism was performed using PCR-RFLP, while methylation-specific PCR (MSP) and methylation-sensitive *high-resolution melting* (MS-HRM) were used to explore *CDH1* methylation status; finally, *CDH1* transcriptional expression profile was evaluated using RT-qPCR.

Results: We found no association between rs334558 polymorphism and breast cancer. Aberrant promoter methylation profile was found in breast cancer patients and it was related with early cancer stages. *CDH1* down-regulation was significantly associated with metastasis and promoter methylation.

Contribución de los autores:

Andrés Felipe Aristizábal-Pachón: recolección de muestras, datos clínicos y de histopatología, ejecución de experimentos y análisis de datos

Los dos autores participaron en la concepción del estudio, el diseño de los experimentos y en la escritura del artículo.

Conclusion: *CDH1* alterations were associated with invasion and metastasis in breast cancer. Our results offer further evidence of *CDH1* relevance in breast cancer development and progression.

Key words: Breast neoplasms/genetics; cadherins; polymerase chain reaction; restriction fragment length polymorphism; reverse transcriptase polymerase chain reaction.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3135>

La cadherina E es una glucoproteína de transmembrana codificada por el gen de la cadherina (*CDH1*) localizado en el cromosoma 16q22.1; es la proteína de adhesión más importante del epitelio y hace parte del tipo I de las cadherinas “clásicas”. Es responsable por las uniones celulares dependientes de Ca^{2+} , de la vía de adhesión celular homofílica, del desarrollo de la polaridad normal del epitelio y de la arquitectura del tejido (1,2). Además, une el entorno extracelular con el citoesqueleto y, mediante su dominio intracelular, hace parte de las vías de señalización celular con las cateninas, particularmente la p120, la alfa y la beta (3,4).

La cadherina E contiene un solo dominio transmembrana, cinco dominios extracelulares, de los cuales el más próximo a la membrana se caracteriza por presentar cuatro cisteínas conservadas que estabilizan la formación de un fuerte contacto celular mediante enlaces disulfuro, y un dominio citoplásmico que puede dividirse en dos subdominios: uno conservado proximal, generalmente denominado dominio yuxtamembrana, y el otro, el dominio de unión a beta catenina (5). El dominio citoplásmico se une a las cateninas (6). La catenina alfa es una proteína homóloga a la vinculina que se une a la actina. Las interacciones de la cadherina E y la catenina alfa forman la región adherente; estas interacciones son mediadas por la catenina beta, la cual actúa como un adaptador entre ellas (7).

La pérdida de la función adhesiva de la cadherina E es un paso crítico en la progresión de las células epiteliales hacia un fenotipo más agresivo. La cadherina E se reconoce ampliamente como un gen supresor de factores de invasión, ya que su inactivación o la disminución de su función debido a mutaciones, deleciones alélicas o alteraciones epigenéticas (por ejemplo, la hipermetilación del promotor), se asocian con la transición epitelio-mesénquima, lo que conlleva una mayor agresividad

del tumor y un mayor potencial metastásico. La función de la cadherina E se pierde frecuentemente durante el desarrollo del cáncer epitelial humano (8); además, se asocia con la diferenciación y la invasión del tumor, y la metástasis en ganglios linfáticos (2,9). Las alteraciones genéticas y epigenéticas, y los cambios en el nivel de transcripción de la cadherina E, se han asociado con el desarrollo del cáncer de mama (10-13), pero dichos resultados no son concluyentes y, en algunos casos han sido contradictorios.

El cáncer de mama se cuenta entre las enfermedades más comunes en las mujeres de todo el mundo; aproximadamente, 23 % de todos los casos diagnosticados de cáncer se relacionan con la mama. En 2012, su incidencia anual era de 1.677 millones de casos nuevos y 522.000 muertes (14,15). En Brasil, el cáncer de mama ha sido una de las principales causas de muerte desde 1979 (16,17), con 57.120 casos nuevos en el 2014, y un riesgo estimado de 56,1 casos por cada 100.000 mujeres; es el más común en la población femenina y representa el 20,8 % de todos los tipos de cáncer diagnosticados en las mujeres. Este cáncer es la séptima causa de muerte en Brasil, después de las enfermedades cerebrovasculares y la diabetes, supera los otros tipos de cáncer y fue la causa de muerte de 13.345 pacientes en el 2012 (17).

En este contexto, la importancia de una mejor comprensión de los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo y la progresión del cáncer de mama es evidente, ya que contribuye a mejorar el diagnóstico y el pronóstico en términos de tiempo y seguridad.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la asociación de las alteraciones genéticas y epigenéticas, y los cambios en la expresión en la transcripción del *CDH1*, con el desarrollo del cáncer de mama en un grupo de casos y un grupo de control.

Materiales y métodos

Población de estudio

Se tomaron muestras de sangre periférica de 204 mujeres de los hospitales Santa Casa y Hospital de las Clínicas de la ciudad de Ribeirão Preto (SP),

Correspondencia:

Andrés Felipe Aristizábal-Pachón, Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidad de São Paulo, Avenida Bandeirantes, 3900, 14049-900 Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Teléfono: (5516) 2101-9368; fax: (5516) 3315-3761
sagipe07@gmail.com y afaristizabal@udca.edu.co

Recibido: 23/11/15; aceptado: 03/05/16

Brasil. Del total, 102 correspondieron a pacientes con cáncer de mama sin importar su edad o la etapa de la enfermedad. La información sobre el estado de los receptores hormonales, el tipo histológico, la edad en el momento del diagnóstico y el estadio según el método de estadificación TNM se obtuvieron de la historia clínica de cada paciente (cuadro 1). El grupo de control estuvo conformado por 102 mujeres sanas, sin historia familiar de cáncer. La información sobre el número de gestaciones, la edad de la menopausia y la menarquia, el tabaquismo, el uso de anticonceptivos y el tratamiento de reemplazo hormonal, se recopiló mediante un cuestionario específico (cuadro 2).

Extracción de ADN

Se extrajo el ADN genómico de cada muestra con el kit de purificación Wizard Genomic DNA (Promega, Madison, WI, USA), siguiendo las instrucciones del proveedor. Cada muestra extraída se cuantificó por espectrofotometría en el equipo NanoVue (GE, Fairfield, CT, USA). Se evaluaron la pureza con las razones 260/230 y 260/280, y la integridad mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %.

Cuadro 1. Características generales de las pacientes con cáncer de mama y las del grupo de control

	PCM (N=102)		Controles (N=102)		p
	n	%	n	%	
Edad (años) (media ± DE)	58,16 ± 12,83		53,51 ± 11,52		0,407 ^a
Fumadores					
Sí	23	22,5	24	23,5	0,868 ^b
No	79	77,5	78	76,5	
Edad de menarquia ^c					
≤13	71	69,6	78	76,5	0,269 ^b
>13	31	30,4	24	23,5	
Estado de menopausia					
Sí	86	76,1	75	82,4	0,059 ^b
No	16	23,9	27	17,6	
ACO					
Sí	39	38,2	57	54,5	0,012^b
No	63	61,8	45	45,5	
TRH					
Sí	22	21,6	17	16,7	0,373 ^b
No	80	78,4	85	83,3	
Gestaciones ^c					
≤30	32	31,4	46	45,1	0,075 ^b
>30	50	49,0	35	34,3	
Nulípara	20	19,6	21	20,6	

PCM: pacientes con cáncer de mama

^c: edad en años

ACO: anticonceptivos orales; TRH: tratamiento de reemplazo hormonal. Los valores de p se calcularon mediante: ^a, test de t de Student y ^b, test de ji al cuadrado; los valores de p<0,05 se consideraron significativos y se destacan en negrilla.

Genotipificación

La región promotora del gen *CDH1* presenta el polimorfismo de un solo nucleótido (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) rs5030625, el cual se evaluó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y análisis de polimorfismos de longitud del fragmento de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP), usando iniciadores que amplifican regiones específicas del promotor del *CDH1*.

Las secuencias de los iniciadores se presentan en el cuadro 3. La PCR se hizo en un volumen total de 20 µl que contenían 100 ng de ADN genómico, 10 pmol de cada iniciador, 4 nmol de cada dNTP (GE, Fairfield, CT, USA), 2 mM de MgCl₂ y 1 U de *Taq* polimerasa Platinum en solución tampón 1X (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Las condiciones de la amplificación fueron las siguientes: un ciclo a 95 °C durante dos minutos, seguido de 35 ciclos a 94 °C durante un minuto, a 64 °C durante un minuto y a 72 °C durante un minuto, finalizando con uno a 72 °C durante cinco minutos.

Cuadro 2. Características clínicas del grupo de pacientes con cáncer de mama (N=102)

Variable	n (%)
Tipo histológico	
CDI	80 (78,4)
Otros	22 (19,6)
Grado del tumor	
I	33 (32,3)
II	40 (39,2)
III	18 (17,7)
IV	11 (10,8)
Tamaño del tumor	
T1	45 (44,1)
T2	40 (39,2)
T3	17 (16,7)
Estado de ganglios linfáticos	
Positivo	57 (36,7)
Negativo	48 (47,1)
Estado del receptor de estrógeno	
Positivo	90 (88,2)
Negativo	9 (8,8)
Sin información	3 (2,9)
Estado del receptor de progesterona	
Positivo	84 (82,4)
Negativo	15 (14,7)
Sin información	3 (2,9)
Estado de HER2/neu	
Positivo	22 (21,6)
Negativo	69 (67,6)
Sin información	11 (10,8)

CDI: carcinoma ductal invasivo; HER2neu: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano

Cuadro 3. Secuencias de los iniciadores y tamaño de los productos de amplificación para la evaluación del polimorfismo rs5030625 y el estado de metilación del gen *CDH1*

	Secuencia	Producto
Reacción en cadena de la polimerasa y análisis de polimorfismos de longitud del fragmento de restricción (PCR-RFLP)		
rs5030625	F – 5'- CCCC GACTTGTCTCTCTAC - 3' R – 5'- GGCCACAGCCAATCAGCA - 3'	448 – pb
PCR específica para metilación (MSP)		
Metilado	F – 5'- TTAGGTTAGAGGGTTATCGCGT - 3' R – 5'- TAACTAAAAATTCACCTACCGAC - 3'	115 – pb
No metilado	F – 5'- TAATTTTAGGTTAGAGGGTTATTGT - 3' R – 5'- CACAACTCAACAACAACA - 3'	97 – pb
MS-HRM	F – 5'- GAGTTTGC GGAAGTTAGTTTAGATTTTAG - 3' R – 5'- CGACTC AAAAACCCATAACTAACC - 3'	
Control de conversión		
Beta actina	F – 5'- TGGTGATGGAGGAGGTTTAGTAAGT - 3' R – 5'- AACCAATAAACCTACTCCTCCCTTAA - 3'	133 – pb

Las diferencias entre las secuencias de los iniciadores y del ADN modificado se muestran en negrilla. Las diferencias entre las secuencias metiladas y no metiladas están subrayadas. F: iniciador directo; R: iniciador inverso; pb: pares de bases

El producto amplificado fue de 447 pb y su digestión se hizo con la enzima de restricción *Ban*II (Fermentas, Waltham, MA, USA), la cual hace cortes en dos posiciones en ausencia del polimorfismo, generando tres fragmentos de 263, 116 y 68 pb, y un corte en presencia del polimorfismo, generando dos fragmentos de 331 y 116 pb. Los productos de la PCR y del análisis de RFLP se visualizaron en gel de agarosa al 2,5 %.

Conversión con bisulfuro

El ADN extraído se sometió a conversión de las citosinas no metiladas en uracilos con el estuche Cells-to-CpG™ Bisulfite Conversion Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA), aplicando el siguiente protocolo. El ADN se sometió a desnaturalización y se mezcló con bisulfito de sodio, y después, a ciclos a temperaturas de 95 °C y 65 °C durante dos horas, lo cual permitió que el grupo amino (-NH₂) de todas las citosinas se convirtiera en grupo cetona (=O) y, así, las primeras se convirtieran en uracilos; solo las 5' metilcitosinas no se convirtieron por interferencia electrónica del grupo metilo. Por último, la muestra de ADN se purificó en columnas de separación para retirar la sal y el bisulfito. Como control positivo de la conversión, se amplificó un fragmento de 133 pb del gen de la beta actina usando un conjunto de iniciadores específicos para ADN modificado, los cuales amplifican independientemente del estado de metilación de la muestra.

PCR específica para metilación (MSP)

Para evaluar el estado de la metilación del gen *CDH1*, se analizaron cinco islas CpG de la región

promotora en las posiciones 913, 852, 846, 838 y 836. Esta región específica se amplificó dos veces mediante PCR convencional usando iniciadores específicos para las islas CpG metiladas y las no metiladas, según descripción previa (18).

Las secuencias de los iniciadores se presentan en el cuadro 3. La PCR se hizo en un volumen total de 20 µl que contenían 100 ng de ADN convertido con bisulfito, 0,5 µM de cada iniciador, 0,2 mM de la mezcla de los dNTP (GE, Fairfield, CT, USA), 2 mM de cloruro de magnesio y 1 U de *Taq* polimerasa Platinum en solución tampón 1X (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Como control positivo de la amplificación del estado metilado y del no metilado, se hizo una reacción usando el estuche Cells-to-CpG™ Methylated & Unmethylated gDNA Control Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) para cada conjunto de iniciadores, en las siguientes condiciones: 95 °C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos a 94 °C durante 30 segundos, 57 °C y 53 °C (metilado y no metilado, respectivamente) durante 30 segundos y 72 °C durante 30 segundos, finalizando con 72 °C durante 10 minutos.

Análisis de la disociación de alta resolución sensible a la metilación

La disociación de alta resolución sensible a la metilación (*Methylation-Sensitive High Resolution Melting*, MS-HRM) se hizo para semicuantificar el grado de metilación del promotor del *CDH1*. Se diseñaron iniciadores específicos para la región promotora del *CDH1*, usando el programa Methyl Primer Express™ (Applied Biosystems, Carlsbad,

CA, USA), cuyas secuencias se presentan en el cuadro 3. La disociación se hizo en un volumen final de 20 μ l, usando la mezcla MeltDoctor™ HRM Master Mix 1X (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA), 0,5 μ M de cada iniciador y 80 ng de ADN convertido con bisulfito en las siguientes condiciones: un ciclo de 10 minutos a 95 °C, 40 ciclos de 15 segundos a 95 °C y uno de un minuto a 60 °C. Por último, el análisis de disociación de alta resolución se hizo a partir de 60 °C durante un minuto, con aumento progresivo de temperatura de 0,3 % cada 15 segundos hasta alcanzar los 95 °C. Se utilizaron diluciones del estuche Cells-to-CpG™ Methylated & Unmethylated gDNA Control Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) para elaborar las curvas de los patrones de metilación a 100, 10, 5, 2, 1 y 0 %.

Todos los experimentos se hicieron en el equipo Applied Biosystems Step One plus Real-Time PCR System. Con la comparación de las curvas de los patrones de metilación mediante el programa HRM™ v3.0.1 (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA), se determinó el porcentaje de metilación de las regiones promotoras del gen *CDH1* en el grupo de estudio.

Extracción de ARN

En cada muestra de sangre se separaron las células mononucleares (*Peripheral Blood Mono nuclear Cell*, PBMC) con el medio Histopaque 1077 (St. Louis, MO, USA). El ARN total se extrajo usando TRIzol (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Las muestras de ARN se cuantificaron en el equipo NanoVue (GE, Fairfield, CT, USA). Las razones 260 a 230 y 260 a 280 sirvieron para determinar la pureza, y la integridad de las moléculas se evaluó con la inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) del estuche RNA 6000 Nano Kit en un bioanalizador 2100 (Agilent, Santa Clara, CA, USA).

PCR cuantitativa en tiempo real

El ARN fue convertido en ADN complementario usando ADNasa I y transcriptasa inversa (SuperSript III Transcriptase Reverse, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). La expresión génica se evaluó cuantitativamente usando la mezcla Taqman Universal PCR Master Mix y las sondas Taqman prediseñadas del *CDH1* (Hs00254446_m1), y del *GAPDH* (Hs02758991_g1) usado como gen constitutivo, (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA), según el protocolo del proveedor.

Todos los experimentos se hicieron en el equipo Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System y se analizaron con el programa DataAssist v3.01™. El nivel de expresión de la transcripción (*Fold change*, FC) se calculó con la ecuación $FC=2^{-\Delta C_t}$ según recomendación de Schmittgen, *et al.* (19), comparando el grupo de casos con el de control. Cada experimento se hizo por triplicado con cada muestra.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el programa estadístico SPSS®, versión 22 para Windows (Chicago, IL, USA). Las pruebas t de Student y U de Mann-Whitney se usaron para comparar los datos de expresión génica entre los grupos. La regresión logística incondicional se usó para calcular la razón de probabilidades (*odds ratio*, OR), con un intervalo de confianza de 95 % (IC_{95%}), de la relación de los genotipos con el cáncer de mama.

Para evaluar la relación de los genotipos y los perfiles de metilación con las características histopatológicas, se hicieron la prueba de ji al cuadrado y la exacta de Fisher, en tanto que, con el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Kruskal-Wallis, se hizo el análisis multivariado. Los valores de probabilidad (p) menores de 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

Para el análisis de los resultados de expresión génica, el valor de p se ajustó mediante el método de Benjamini-Hochberg para establecer la tasa de falsos descubiertos.

Consideraciones éticas

Todos los procedimientos de este estudio fueron aprobados por el *Comité Nacional de Ética em Pesquisa*, bajo el número de aprobación CAAE: 01779812.9.0000.5440, y por el Comité de Ética en Investigación del Hospital das Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Sao Paulo. El consentimiento informado fue firmado por todos los participantes en el estudio.

Resultados

Asociación del polimorfismo rs5030625 y el riesgo de cáncer de mama

La variante rs5030625 del gen *CDH1* se analizó en 102 pacientes con cáncer de mama y en 102 mujeres sanas que hacían parte del grupo de control. Las frecuencias genotípicas se calcularon y se comprobó si se mantenía el equilibrio de Hardy-Weimberg ($p>0,05$), con lo cual se evidenció la falta

de estratificación poblacional. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de los genotipos G/G, G/GA y GA/GA entre el grupo de pacientes y el grupo de control ($\chi^2=0,329$; $gl=2$; $p=0,848$). El análisis de asociación hecho mediante regresión logística incondicional para evaluar el posible efecto de la variante en el riesgo de desarrollar cáncer de mama, indicó que no hubo asociación significativa entre la presencia del polimorfismo y el desarrollo de la enfermedad. En cuanto a las otras variables y factores de riesgo analizados en este estudio, no se encontraron diferencias significativas en la distribución de las frecuencias genotípicas entre el grupo de casos y el de control.

Estado de la metilación de las islas CpG en las regiones promotoras del CDH1 y el desarrollo del cáncer de mama

El estado de la metilación de las islas CpG de la región promotora del gen *CDH1* se evaluó mediante PCR específica para metilación (*Methylation-Specific PCR*, MSP) y MS-HRM. Los resultados obtenidos evidenciaron la existencia de perfiles de metilación aberrantes en el promotor del *CDH1*. Según el análisis por MSP del grupo de casos, en 59 (57,8 %) pacientes se encontró el promotor metilado. Debe resaltarse que no se observó metilación del promotor en los individuos del grupo de control. Después del análisis mediante MSP, las muestras se sometieron a MS-HRM para semicuantificar su nivel de metilación, y se comprobó de nuevo que en el grupo de control no hubo metilación (0 %) en la región promotora del *CDH1*. Con respecto al grupo de casos, el análisis de MS-HRM mostró niveles de metilación inferiores al 1 % en los individuos que habían presentado el promotor metilado en la MSP.

En cuanto a los otros factores de riesgo considerados en el estudio, como la edad de la menarquia, la edad de la menopausia, la edad y el número de gestaciones, el uso de anticonceptivos y el tratamiento de reemplazo hormonal, no hubo asociación de ninguno de ellos con el perfil aberrante de metilación ($p>0,05$).

Con respecto a las características clínico-patológicas del tumor, el estado de metilación del promotor del *CDH1* presentó diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la edad en el momento del diagnóstico ($\chi^2=12,57$; $gl=1$; $p<0,001$). Se encontraron resultados similares en relación con el tipo histológico, el tamaño del tumor y la presencia de metástasis ($\chi^2=14,185$; $gl=1$; $p<0,001$; $\chi^2=13,123$;

$gl=1$; $p<0,001$, y $\chi^2=7,954$; $gl=1$; $p=0,005$, respectivamente). En el cuadro 4 se resumen los resultados obtenidos y su distribución según las características clínico-patológicas del tumor. Cabe resaltar la tendencia del estado de la metilación con respecto a la progresión del cáncer. El porcentaje de pacientes que no presentaban metilación del promotor del *CDH1* fue mayor en aquellos individuos con etapas más avanzadas de la enfermedad (tumor de mayor tamaño y grado, y metástasis).

Los resultados del estado de la metilación se analizaron en relación con la variante rs5030625 y no se encontraron diferencias en la distribución de los genotipos en cuanto al estado de la metilación del promotor del *CDH1* ($\chi^2=0,930$; $gl=2$; $p=0,628$). De igual manera, se encontró metilación

Cuadro 4. Estado de metilación de las regiones promotoras del gen *CDH1* en el grupo de estudio

	U (%)	M (%)	p
Todos			
Control	102 (100)	0 (0,0)	<0,001
PCM	43 (42,16)	59 (57,84)	
≤60 años			
Control	38 (48,7)	37 (47,4)	0,002
BC	11 (23,4)	36 (76,6)	
>60 años			
Control	6 (25,0)	18 (75,0)	0,007
BC	32 (58,2)	23 (41,8)	
Tipo histológico			
CDI	26 (32,5)	54 (67,5)	<0,001
Otros	17 (77,3)	5 (22,7)	
Grado del tumor			
I+II	27 (37,0)	46 (63,0)	0,093
III+IV	16 (55,2)	13 (44,8)	
Tamaño del tumoral			
T1	10 (22,2)	35 (77,8)	<0,001
T2+T3	33 (57,9)	24 (42,1)	
Estado de ganglios linfáticos			
Positivo	22 (38,6)	35 (61,4)	0,412
Negativo	21 (46,7)	24 (53,3)	
Metástasis			
Positivo	34 (37,4)	57 (62,6)	0,005
Negativo	9 (81,8)	2 (18,2)	
Estado del receptor hormonal			
RE+	40 (44,4)	50 (55,6)	0,728
RE-	3 (33,3)	6 (66,7)	
RP+	39 (46,4)	45 (53,6)	0,155
RP-	4 (26,7)	11 (73,3)	
HER-	29 (42,0)	40 (58,0)	0,926
HER+	9 (40,9)	13 (59,1)	

PCM: pacientes con cáncer de mama; U: promotor no metilado; M: promotor metilado; CDI: carcinoma ductal invasivo; RE: receptor de estrógeno; RP: receptor de progesterona; HER: receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano; +: positivo; -: negativo
El valor de $p<0,05$ se consideró significativo y se destaca en negrilla.

del promotor en 42 de las 71 (59,2 %) pacientes homocigotas para el alelo silvestre, en 14 de las 27 (51,9 %) pacientes heterocigotas y en dos de las cuatro (50 %) pacientes homocigotas para la variante.

Perfil de expresión génica del *CDH1* y su relación con el riesgo de cáncer de mama

La expresión génica del *CDH1* se evaluó en todos los individuos que participaron en el estudio. Los resultados evidenciaron que en el grupo de pacientes con cáncer de mama había una leve disminución de la expresión génica del *CDH1*, en comparación con el grupo de control; sin embargo, esta no fue estadísticamente significativa ($\log_2 \text{fold change} = -0,168 \pm 0,13$; $p=0,506$). En cuanto a las características histopatológicas del tumor, la presencia de metástasis distales se correlacionó con alteraciones en la expresión génica del *CDH1* (figura 1). Los resultados mostraron una disminución estadísticamente significativa en las pacientes que presentaban metástasis distales, en comparación con aquellas que no la presentaban ($p=0,002$). Otras características tumorales y el estado de los receptores hormonales de estrógeno, de progesterona y del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (*Human Epidermal Growth Factor Receptor*, HER2), no mostraron influencias significativas en la distribución de los resultados.

Con respecto a la variante rs5030625, los análisis no mostraron asociación entre los genotipos y los cambios en la expresión génica del *CDH1*, ni en el grupo de casos ni en el de control. Por último, los análisis del estado de la metilación del promotor del *CDH1* revelaron una disminución significativa en la expresión génica del *CDH1* en cuanto al estado de la metilación del promotor ($p=0,004$), como se muestra en la figura 2.

Discusión

La cadherina E tiene un papel importante en la regulación de las concentraciones citoplasmáticas de la beta catenina. En este estudio se analizó la variante rs5030625 localizada en la región promotora del gen *CDH1*. Este polimorfismo es una inserción del nucleótido adenina (A) en la posición 347 de la secuencia promotora. Los SNP en la región promotora pueden modular la eficiencia de la transcripción del gen y su función; Shin, *et al.*, en líneas celulares específicas, demostraron que el polimorfismo rs5030625 presenta un efecto significativo en la actividad en la transcripción, ya

que en la proximidad del promotor se encuentran dos cajas E, una caja CAAT y una caja rica en G-C con sitio de unión en el factor de transcripción SP1, el cual interactúa con varios elementos reguladores que controlan la expresión específica del epitelio del *CDH1* (20).

Hasta donde se pudo constatar, esta es la primera vez que la variante rs5030625 se estudia en población brasilera. Estos resultados no mostraron asociación significativa entre la presencia del polimorfismo y el riesgo de desarrollar cáncer de mama; tampoco se encontró asociación con los cambios en el nivel de expresión de la transcripción del gen. Tipirisetti, *et al.*, evaluaron este mismo polimorfismo en las células mononucleares de sangre periférica de pacientes con cáncer de mama en población de la India y no encontraron asociación

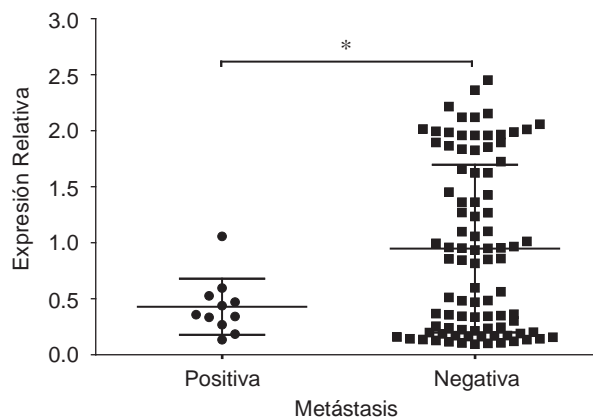


Figura 1. Nivel de expresión en la transcripción relativa del gen *CDH1* en el grupo de pacientes con cáncer de mama estratificadas según la presencia de metástasis

*Diferencias estadísticamente significativas: $p < 0,05$

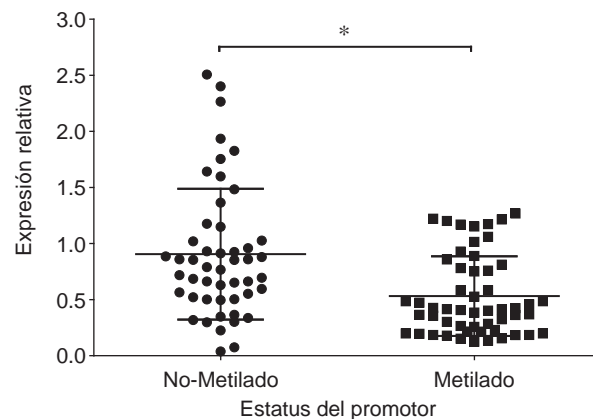


Figura 2. Nivel de expresión en la transcripción relativa del gen *CDH1* en relación con el estado de metilación del promotor

*Diferencias estadísticamente significativas: $p < 0,05$

de esta variante con el riesgo de desarrollar cáncer de mama, lo cual coincide con los resultados de este estudio (10). En algunos estudios se ha analizado la relación de otro polimorfismo en esta región del *CDH1*, la variante -160A, con el riesgo de desarrollar cáncer de mama y no se ha encontrado asociación (21,22), mientras que en algunos otros estudios, se encontró un aumento significativo del riesgo de desarrollar este cáncer (10,23). Los resultados concernientes al efecto de las variables en la región promotora del *CDH1* y su asociación con el cáncer de mama no fueron suficientemente claros, por lo que es necesario determinar el efecto real de estas mutaciones en el funcionamiento de la proteína. Contrario a lo observado en este estudio, en varias investigaciones se ha asociado el polimorfismo rs5030625 con la endometriosis (24,25) y el cáncer colorrectal en población china (2), con una mayor agresividad del adenocarcinoma esofágico en población holandesa (26) y, del cáncer gástrico familiar, en Corea del Sur (20,27), resultados que indican la importancia de estudiar estos polimorfismos en diferentes poblaciones, pues la variabilidad genética puede influir en su efecto en la propensión individual a desarrollar cáncer.

El gen *CDH1* frecuentemente se encuentra en estado de metilación en el tejido tumoral en el cáncer de la mama, mas no en el tejido mamario normal (13). Los resultados que se presentan revelaron un estado aberrante de metilación en el promotor del gen *CDH1*, y en el análisis mediante MS-HRM se determinó un porcentaje de metilación bajo (inferior a 1 %), pero diferente en casos y controles, lo cual evidenció que los niveles de metilación de los promotores específicos en las PBMC de mujeres con cáncer de mama eran moderadamente mayores que los de las mujeres sanas, y que podrían servir de base para el desarrollo de marcadores específicos de diagnóstico de esta enfermedad. En este mismo sentido, Sebova, *et al.*, encontraron el promotor del *CDH1* en estado de metilación en la sangre periférica de 20 de 92 pacientes con cáncer de mama.

Al igual que en este estudio, el promotor metilado del *CDH1* no se encontró en el grupo de control, y no se asoció con ninguna característica histopatológica del tumor (28). Contrario a lo aquí reportado, en los estudios de Sturgeon, *et al.*, y de Zmetakova, *et al.*, no se asoció la metilación del promotor del *CDH1* con el cáncer de mama (29,30). En cuanto a las características histopatológicas del tumor, se observó una asociación entre el estado de la metilación del promotor y los estados

iniciales del tumor, caracterizados por ausencia de metástasis y un menor tamaño del tumor, lo cual evidenciaría la necesidad de la célula maligna de inactivar la cadherina E en las primeras fases del proceso de carcinogénesis. El gen *CDH1* es un importante supresor tumoral asociado previamente con muchos tipos de cáncer. En el caso del cáncer de mama, los resultados que se presentan ofrecen evidencia adicional de que en el proceso de carcinogénesis ocurren epimutaciones en genes claves del control celular, como el *CDH1*, que pueden alterar la expresión en la transcripción de sus productos génicos y estimular la transformación y aparición del fenotipo maligno.

Existen varios estudios que señalan el posible papel de la metilación constitutiva en el ADN extraído de sangre periférica como factor de predisposición al cáncer (31-33). Wong, *et al.*, encontraron que la metilación del promotor del gen *BRCA1* en sangre periférica era más frecuente en pacientes que habían desarrollado el cáncer de mama precozmente y, también, correlacionaron estos resultados con altos niveles de metilación del *BRCA1* en muestras de biopsia de tumores (32).

En la presente investigación, los resultados evidenciaron un perfil diferencial de metilación del *CDH1* en los grupos de estudio y se pudieron separar con mucha especificidad los casos de los controles; los datos sugieren la existencia de diferencias reales, aunque pequeñas, por lo cual se precisa prestar mucha atención y validarlos para evitar posibles falsos positivos. Tomados en conjunto, estos resultados sugieren que la metilación en sangre puede reflejar una predisposición al cáncer. Sin embargo, dichos cambios fueron relativamente pequeños y, además, se registró una gran superposición entre casos y controles, por lo cual la potencial utilidad de los perfiles de metilación del ADN en sangre periférica para la detección o como marcador de diagnóstico para cáncer puede ser limitada.

La expresión en la transcripción del *CDH1* mostró una disminución no significativa en los pacientes con cáncer de mama. En este mismo sentido, en muchos estudios se ha encontrado una disminución significativa de la expresión génica del *CDH1* en este tipo de cáncer, independientemente del tipo histológico o molecular, lo cual sugiere la importancia de este gen en la progresión del cáncer de mama (11,12). Con relación a las características histopatológicas del tumor, se encontró una disminución de la expresión en la transcripción

del *CDH1* en presencia de metástasis. En este estudio, se registró una clara disminución de los niveles de expresión en la transcripción del *CDH1* en las pacientes con cáncer metastásico, lo cual concuerda con lo encontrado en estudios anteriores, e indica la importancia de la cadherina E en la adhesión celular y en el mantenimiento normal del epitelio que relacionan estrechamente esta molécula con el proceso de metástasis. Asimismo, los altos niveles de expresión del *CDH1* se relacionaron con tumores en las etapas iniciales que mantenían su adherencia celular y tenían bajo poder metastásico, mientras que una menor expresión se relacionó con mayores grados del tumor, con la pérdida de la adhesión celular y con un acentuado comportamiento invasivo (2,11,34). Los niveles de expresión en la transcripción del *CDH1* no se relacionaron con el estado de la metilación del promotor, posiblemente debido a que otros mecanismos, como las mutaciones génicas, la pérdida de heterocigosidad, los cambios en la estructura de la cromatina y las alteraciones específicas de la transcripción, regulan la expresión del *CDH1* (11).

Puede concluirse que la cadherina E juega un papel muy importante en el proceso de carcinogénesis, especialmente relevante en la metástasis tumoral. El polimorfismo rs5030625 en la región promotora del *CDH1* no mostró asociación con el desarrollo del cáncer de mama; sin embargo, los cambios en los perfiles de metilación y de expresión en la transcripción de este gen se relacionaron claramente con características histopatológicas del tumor, como la presencia de metástasis, y podrían servir de base para el desarrollo de marcadores específicos de diagnóstico de esta enfermedad. Los resultados que aquí se presentan evidencian el papel relevante de la cadherina-E en el desarrollo y la progresión del cáncer de mama.

Agradecimientos

Los autores agradecen sinceramente la cooperación de todos los voluntarios que participaron en este estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ninguna relación de carácter financiero con ninguna organización o entidad que pudiera dar lugar a un conflicto de intereses respecto a este artículo.

Financiación

Esta investigación fue financiada en parte por la Fundação de Amparo à pesquisa do Estado de

São Paulo – FAPESP (Proceso no. 2013/00824), la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES y el Programa de Estudante Convênio – Pós-Graduação – PEC-PG (Proceso no. 5516-11-0).

Referencias

1. **Takeichi M.** Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science*. 1991;251:1451-5. <http://dx.doi.org/10.1126/science.2006419>
2. **Zou XP, Dai WJ, Cao J.** CDH1 promoter polymorphism (-347G-->GA) is a possible prognostic factor in sporadic colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2009;15:5340-5. <http://dx.doi.org/10.3748/wjg.15.5340>
3. **van Roy F, Berx G.** The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65:3756-88. <http://dx.doi.org/10.1007/s00018-008-8281-1>
4. **Aristizábal-Pachón AF.** Complexo de Degradação de b-Catenina e o Câncer de mama. Saarbrücken: Novas Edições Acadêmicas; 2015. p. 25-9.
5. **Rimm DL, Morrow JS.** Molecular cloning of human E-cadherin suggests a novel subdivision of the cadherin superfamily. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;200:1754-61. [http://dx.doi.org/S0006-291X\(84\)71656-1](http://dx.doi.org/S0006-291X(84)71656-1)
6. **Gumbiner BM, McCrean PD.** Catenins as mediators of the cytoplasmic functions of cadherins. *J Cell Sci Suppl*. 1993;17:155-8.
7. **Cavallaro U, Christofori G.** Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2004;4:118-32. <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1276>
8. **Chien MH, Chou LSS, Chung TT, Lin CH, Chou MY, Weng MS, et al.** Effects of E-cadherin (CDH1) gene promoter polymorphisms on the risk and clinicopathologic development of oral cancer. *Head Neck*. 2012;34:405-11. <http://dx.doi.org/10.1002/hed.21746>
9. **Handschuh G, Candidus S, Lubber B, Reich U, Schott C, Oswald S, et al.** Tumour-associated E-cadherin mutations alter cellular morphology, decrease cellular adhesion and increase cellular motility. *Oncogene*. 1999;18:4301-12. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1202790>
10. **Tipiriseti NR, Govatati S, Govatati S, Kandukuri LR, Cingeetham A, Singh L, et al.** Association of E-cadherin single-nucleotide polymorphisms with the increased risk of breast cancer: A study in South Indian women. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2013;17:494-500. <http://dx.doi.org/10.1089/gtmb.2012.0485>
11. **Asiaf A, Ahmad ST, Aziz SA, Malik AA, Rasool Z, Masood A, et al.** Loss of expression and aberrant methylation of the CDH1 (E-cadherin) gene in breast cancer patients from Kashmir. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15:6397-403.
12. **Tudoran O, Virtic O, Balacescu L, Pop L, Dragla F, Eniu A, et al.** Differential peripheral blood gene expression profile based on HER2 expression on primary tumors of breast cancer patients. *PLoS One*. 2014;9:e102764. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0102764>
13. **Campan M, Weisenberger DJ, Laird PW.** DNA methylation profiles of female steroid hormone-driven human malignancies. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;310:141-78.

14. **Aristizábal-Pachón AF, Carvalho TI, Carrara HH, Andrade J, Takahashi CS.** AXIN2 polymorphisms, the beta-catenin destruction complex expression profile and breast cancer susceptibility. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16:7277-84. <http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.16.7277>
15. **Aristizábal-Pachón AF, de Carvalho TI, Carrara HH, de Andrade JM, Takahashi CS.** Detection of human mammaglobin A mRNA in peripheral blood of breast cancer patients before treatment and association with metastasis. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2015;27:217-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnci.2015.09.003>
16. **Brito C, Portela MC, Vasconcellos MT.** Survival of breast cancer women in the state of Rio de Janeiro, Southeastern Brazil. *Rev Saúde Pública.* 2009;43:481-9. <http://dx.doi.org/S0034-89102009000300012>
17. **Instituto Nacional de Câncer.** Estimativa 2014 – Incidência de Câncer no Brasil. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2015. Disponible en: http://www.inca.gov.br/rbc/n_60/v01/pdf/11-resenha-estimativa-2014-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf
18. **Tahara T, Shibata T, Nakamura M, Okubo M, Yamashita H, Yoshioka D, et al.** Association between polymorphisms in the XRCC1 and GST genes, and CpG island methylation status in colonic mucosa in ulcerative colitis. *Virchows Arch.* 2011;458:205-11. <http://dx.doi.org/10.1007/s00428-010-1038-x>
19. **Schmittgen TD, Livak KJ.** Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat Protoc.* 2008;3:1101-8.
20. **Shin Y, Kim IJ, Kang HC, Park JH, Park HR, Park HW, et al.** The E-cadherin -347G-->GA promoter polymorphism and its effect on transcriptional regulation. *Carcinogenesis.* 2004;25:895-9. <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgh073>
21. **Beeghly-Fadiel A, Lu W, Gao YT, Long J, Deming SL, Cai Q, et al.** E-cadherin polymorphisms and breast cancer susceptibility: A report from the Shanghai Breast Cancer Study. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;121:445-52. <http://dx.doi.org/10.1007/s10549-009-0579-7>
22. **Lei H, Sjoberg-Margolin S, Salahshor S, Werelius B, Jandakova E, Hemminki K, et al.** CDH1 mutations are present in both ductal and lobular breast cancer, but promoter allelic variants show no detectable breast cancer risk. *Int J Cancer.* 2002;98:199-204. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.10176>
23. **Yu JC, Hsu HM, Chen ST, Hsu GC, Huang CS, Hou MF, et al.** Breast cancer risk associated with genotypic polymorphism of the genes involved in the estrogen-receptor-signaling pathway: A multigenic study on cancer susceptibility. *J Biomed Sci.* 2006;13:419-32. <http://dx.doi.org/10.1007/s11373-006-9069-7>
24. **Shan K, Xiao-Wei M, Na W, Xiu-Feng Z, Deng-Gui W, Wei G, et al.** Association of three single nucleotide polymorphisms of the E-cadherin gene with endometriosis in a Chinese population. *Reproduction.* 2007;134:373-8. <http://dx.doi.org/134/2/373>
25. **Tempfer CB, Simoni M, Destenaves B, Fauser BC.** Functional genetic polymorphisms and female reproductive disorders: Part II--endometriosis. *Hum Reprod Update.* 2009;15:97-118. <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmn040>
26. **Boonstra JJ, Marion R, Tilanus HW, Dinjens WN.** Functional polymorphisms associated with disease-free survival in resected carcinoma of the esophagus. *J Gastrointest Surg.* 2010;15:48-56. <http://dx.doi.org/10.1007/s11605-010-1358-9>
27. **Yamada H, Shinmura K, Goto M, Iwaizumi M, Konno H, Kataoka H, et al.** Absence of germline mono-allelic promoter hypermethylation of the CDH1 gene in gastric cancer patients. *Mol Cancer.* 2009;8:63. <http://dx.doi.org/10.1186/1476-4598-8-63>
28. **Sebova K, Zmetakova I, Bella V, Kajo K, Stankovicova I, Kajabova V, et al.** RASSF1A and CDH1 hypermethylation as potential epimarkers in breast cancer. *Cancer Biomark.* 2011;10:13-26. <http://dx.doi.org/10.3233/CBM-2012-0230>
29. **Sturgeon SR, Balasubramanian R, Schairer C, Muss HB, Ziegler RG, Arcaro KF.** Detection of promoter methylation of tumor suppressor genes in serum DNA of breast cancer cases and benign breast disease controls. *Epigenetics.* 2012;7:1258-67. <http://dx.doi.org/10.4161/epi.22220>
30. **Zmetakova I, Danihel L, Smolkova B, Mego M, Kajabova V, Krivulcik T, et al.** Evaluation of protein expression and DNA methylation profiles detected by pyrosequencing in invasive breast cancer. *Neoplasma.* 2013;60:635-46. http://dx.doi.org/10.4149/Neo_2013_082
31. **Marsit CJ, Koestler DC, Christensen BC, Karagas MR, Houseman EA, Kelsey KT.** DNA methylation array analysis identifies profiles of blood-derived DNA methylation associated with bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2011;29:1133-9. <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2010.31.3577>
32. **Wong EM, Southey MC, Fox SB, Brown MA, Dowty JG, Jenkins MA, et al.** Constitutional methylation of the BRCA1 promoter is specifically associated with BRCA1 mutation-associated pathology in early-onset breast cancer. *Cancer Prev Res (Phila).* 2011;4:23-33. <http://dx.doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-10-0212>
33. **Brennan K, García-Closas M, Orr N, Fletcher O, Jones M, Ashworth A, et al.** Intragenic ATM methylation in peripheral blood DNA as a biomarker of breast cancer risk. *Cancer Res.* 2012;72:2304-13. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-3157>
34. **Yuan YL, Wang YM, Liu H, Qin GF, Tang AG, Duan Y.** Aberrant expression of E-cadherin in lung tissues of patients with probable lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13:5149-53.

ARTÍCULO ORIGINAL

Efecto citotóxico de los compuestos de inclusión de paladio (II) en la beta-ciclodextrina

Nancy Jaimes¹, Siham Salmen², Melisa Carolina Colmenares³, Ana Esperanza Burgos⁴, Lenka Tamayo⁴, Rosa Virginia Mendoza³, Astrid Cantor²

¹ Grupo de Investigación en Biología Molecular y Genética, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia

² Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

³ Centro de Microscopía Electrónica "Dr. Ernesto Palacios Prú", Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela

⁴ Grupo de Investigación en Química de Coordinación y Bioinorgánica, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D. C., Colombia

Introducción. Las tiosemicarbazonas y sus complejos de paladio (II) poseen actividad antineoplásica con pocos efectos secundarios, por lo cual se las considera como una nueva alternativa terapéutica. Sin embargo, existen diferencias en los rangos de la concentración inhibitoria media (CI_{50}) asociada a la divergencia estructural y la solubilidad de los complejos, así como a la sensibilidad de los blancos celulares. La inclusión de fármacos en la beta-ciclodextrina con fines terapéuticos ha mejorado su solubilidad y estabilidad, pero los efectos de su combinación con los complejos de paladio (II) y las tiosemicarbazonas no se han comprobado aún.

Objetivo. Estudiar el efecto citotóxico de los complejos de paladio en la beta-ciclodextrina.

Materiales y métodos. La actividad citotóxica de los complejos de paladio en la beta-ciclodextrina se evaluó en la línea celular de cáncer de mama (MCF-7), empleando el método de la sulforodamina B.

Resultados. Los ligandos MePhPzTSC y Ph2PzTSC, sus complejos de paladio (II) libres e incluidos en la beta-ciclodextrina y el cisplatino mostraron actividad citotóxica en la línea celular MCF-7; sin embargo, la citotoxicidad fue mayor con la inclusión en la beta-ciclodextrina ($[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$ y $[Pd(Ph_2PzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$). La concentración inhibitoria media (CI_{50}) para estos complejos se obtuvo en concentraciones de 0,14 y 0,49 μM , y con dosis hasta cinco veces inferiores comparadas con las concentraciones de los ligandos libres (1,4 y 2,9 μM), de los complejos de paladio (II) libres (0,57 y 1,24 μM) y del cisplatino (6,87 μM).

Conclusiones. El uso de la beta-ciclodextrina mejoró significativamente la actividad citotóxica de las tiosemicarbazonas y sus complejos de paladio (II), lo cual probablemente está asociado al incremento de la solubilidad y biodisponibilidad del compuesto, estrategia que se puede sugerir para el diseño de futuros fármacos antineoplásicos.

Palabras clave: paladio; tiosemicarbazonas; beta-ciclodextrinas; neoplasias de la mama/terapia.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2880>

Cytotoxic effect of palladium (II) inclusion compounds in beta-cyclodextrin

Introduction: Thiosemicarbazonas and palladium (II) complexes have antineoplastic activities with mild side effects, for which they are considered new alternative antineoplastic drugs. However, the IC_{50} ranges of these complexes vary due to differences in their structure and solubility and their sensitivities for various cellular targets. Beta-cyclodextrin is an additive used to improve the solubility and stability of various drugs for therapeutic use, but the combination of beta-cyclodextrin with palladium (II) complexes and thiosemicarbazonas has not been tested yet.

Objective: To study the cytotoxic effect of palladium (II) inclusion complexes in beta-cyclodextrin.

Materials and methods: We tested the cytotoxic activity of palladium complexes combined with beta-cyclodextrin in the breast cancer cell line MCF-7 using a sulforhodamine B assay.

Results: We tested the antiproliferative activity of palladium (II) complexes with and without the ligands MePhPzTSC and Ph2PzTSC and with and without beta-cyclodextrin in MCF-7 cells and compared them to that of cisplatin. All combinations showed antiproliferative activity; however, the activity was greater for the combinations that included beta-cyclodextrin: $[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$ and $[Pd$

Contribución de los autores:

Nancy Jaimes, Siham Salmen, Melisa Colmenares, Rosa Virginia Mendoza y Astrid Cantor: estructuración del proyecto, realización y análisis de las pruebas de laboratorio

Ana Esperanza Burgos y Lenka Tamayo: síntesis y caracterización de los complejos de paladio

Todos los autores participaron en el análisis de los resultados y la escritura del manuscrito.

(Ph2PzTSC) 2] • β -CD), at concentrations of 0.14 and 0.49 μ M, respectively. The IC₅₀ for this complex was 5-fold lower than that of the ligand-free combinations (1.4 and 2.9 μ M, respectively). The IC₅₀ for free palladium (II) complex was 0.571.24 μ M and that for cisplatin was 6.87 μ M.

Conclusions: Beta-cyclodextrin significantly enhanced the cytotoxic activities of palladium (II) complexes and thiosemicarbazones probably by improving their solubility and bioavailability. The addition of beta-cyclodextrin is a possible strategy for designing new anticancer drugs.

Key words: Palladium; thiosemicarbazone; beta-cyclodextrins; breast neoplasm/therapy.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.2880>

Se estima que alrededor de 1,3 millones de mujeres en el mundo tienen diagnóstico de cáncer de mama, el cual, por su frecuencia en las mujeres, constituye uno de los principales problemas de salud en términos de morbilidad, mortalidad y costo del tratamiento (1). Aunque son muchos los fármacos que se comercializan, la respuesta a ellos sigue siendo insatisfactoria y, por lo tanto, persiste la necesidad urgente de proponer nuevas alternativas terapéuticas. En la actualidad, se están ensayando numerosos complejos de paladio (II) (2) y tiosemicarbazonas (3) con actividad promisoría contra líneas celulares de tumores, debido a su notable actividad citotóxica y menores efectos secundarios en comparación con otros compuestos anticancerígenos de metales pesados (4-6). Además de su potencial actividad antineoplásica, tienen mayor solubilidad y menos efectos secundarios que el cisplatino (7-9).

Las tiosemicarbazonas son una clase importante de ligandos con átomos donadores de electrones, como el azufre y el nitrógeno, que actúan como agentes quelantes de metales de transición (10) y exhiben actividad antineoplásica (5,11,12). De hecho, las tiosemicarbazonas y sus complejos metálicos son de gran interés por su amplio rango de efectos biológicos (13,14), ya que tanto los ligandos derivados de ellas como los complejos metálicos de transición tienen otras propiedades farmacológicas antivirales, antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias y antitumorales (3,10,15-18).

Con las tiosemicarbazonas se han sintetizado compuestos como el paladio, el cual presenta una actividad citotóxica similar a los fármacos basados en platino (cisplatino, carboplatino y oxaliplatino) (5), pero cuya asociación con las tiosemicarbazonas

(19), potencia su actividad biológica. Debido a sus propiedades farmacológicas, la síntesis de complejos con metales de transición y ligandos como la tiosemicarbazona suscitan un gran interés (8). Se han propuesto varios mecanismos para explicar la acción antitumoral de estos complejos, entre los cuales está la inhibición de la biosíntesis del ADN mediante el bloqueo de la enzima ribonucleótido reductasa, esencial en la conversión de ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos, y su acción como agente intercalado entre las bases de pirimidina y de guanina del ADN, lo cual induce cambios en la conformación de la doble hélice y conduce a la muerte celular (5,7,20,21), y al bloqueo de la división de las células cancerosas (13).

A pesar de que la actividad citotóxica *in vitro* de los complejos de paladio (II) y las tiosemicarbazonas es mayor que la de sus respectivos ligandos, las dosis requeridas para lograr el efecto inhibitorio deseado en las células tumorales es muy variable y depende de la línea tumoral utilizada, por lo que se reportan rangos en las concentraciones inhibitorias que van de 0,08 a 38 μ M para los complejos de paladio (II) y de 23 a 250 μ M para las tiosemicarbazonas (9,10,12,15,22). En el caso de las células de cáncer de mama, por ejemplo la línea celular humana de adenocarcinoma de mama MCF-7, los complejos de paladio (II) y las tiosemicarbazonas muestran mayor actividad citotóxica; sin embargo, con estas se requieren concentraciones relativamente superiores para alcanzar la dosis inhibitoria deseada. Además, la diferencia en los rangos de las concentraciones inhibitorias se considera una desventaja, probablemente asociada a las divergencias estructurales entre los complejos, a la sensibilidad de los blancos celulares (9) o a la solubilidad de los complejos de paladio y de las tiosemicarbazonas.

Tamayo, *et al.*, propusieron recientemente una estrategia para mejorar su actividad biológica y su solubilidad, y disminuir su toxicidad. Estos investigadores lograron la inclusión parcial de los complejos en la beta-ciclodextrina, compuesto

Correspondencia:

Nancy Jaimes, Departamento de Biología, Universidad de Pamplona, Edificio Simón Bolívar, Ciudad Universitaria, Pamplona, Norte de Santander, Colombia
Teléfonos: (577) 568 5303 y 568 5304, extensión 243
najame3@hotmail.com

Recibido: 18/06/15; aceptado: 05/05/16

que mejora su solubilidad y le da estabilidad fisicoquímica (24). En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto citotóxico en la línea celular MCF-7 de los complejos Pd (MePhPzTSC)₂ y Pd(Ph₂PzTSC)₂ (figura 1 a y b) parcialmente incluidos en la beta-ciclodextrina, para determinar si al mejorar las propiedades fisicoquímicas se incrementaba su actividad biológica contra dicha línea celular.

Materiales y métodos

Complejos metálicos

Se evaluaron los siguientes ligandos: 3-metil-1-fenil-1-pirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (MePhPzTSC) y 1,3-difenilpirazol-4-carboxaldehído tiosemicarbazona (Ph₂PzTSC), así como los complejos de paladio Pd(MePhPzTSC)₂ y Pd(Ph₂PzTSC)₂, y los compuestos de asociación o inclusión parcial en la beta-ciclodextrina [Pd(MePhPzTSC)₂] \cdot β -CD y [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD. Estos compuestos se sintetizaron y caracterizaron en el Grupo de Investigación en Química de Coordinación y Bioinorgánica de la Universidad Nacional de Colombia (23,25).

La inclusión del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂] \cdot β -CD se hizo en una relación molar de 1 a 1 con 15 mg de [Pd(MePhPzTSC)₂] y 27,35 mg de beta-ciclodextrina en una disolución acuosa con agitación constante a temperatura ambiente durante 24 horas; en tanto que la inclusión del [Pd(Ph₂PzTSC)₂] \cdot β -CD se hizo en una relación molar de 1 a 1 con 15 mg de [Pd(Ph₂PzTSC)₂] y 22,8 mg de beta-ciclodextrina mezclados en un mortero de ágata hasta obtener un polvo homogéneo.

Con el propósito de comparar el efecto inhibitorio de la proliferación celular de estos compuestos con fármacos antineoplásicos comerciales, se utilizó el cisplatino (Cytoplatin®) bajo las mismas condiciones experimentales.

Cultivo celular

La línea celular humana de adenocarcinoma de mama (MCF-7) descongelada se repicó dos veces antes de exponerla a los compuestos y se cultivó en medio RPMI-1640 con 0,05 % de antibiótico con suplemento de suero fetal bovino al 10 % hasta obtener una confluencia del 80 %. Posteriormente, las células se disociaron con tripsina al 0,25 % y se sembraron en placas de cultivo de 96 pozos, a una densidad de 20.000 células por 100 μ l por pozo. Se permitió la adhesión celular durante 24 horas y luego se añadieron los compuestos diluidos en dimetil sulfóxido (DMSO) en un rango de concentraciones de 0,1 a 10 μ M. Este mismo procedimiento se aplicó simultáneamente para evaluar los compuestos en otras líneas celulares: la línea celular humana de adenocarcinoma de colon (HCT-15) y la línea celular humana de adenocarcinoma de próstata (PC-3). Los cambios en la morfología y la densidad celulares se observaron bajo el microscopio óptico invertido Nikon 37762.

Purificación de células mononucleares de sangre periférica

Las células mononucleares de sangre periférica se purificaron mediante gradiente de densidad en medio Ficoll-Hypaque 1,077. Las células extraídas se lavaron tres veces con medio RPMI y su

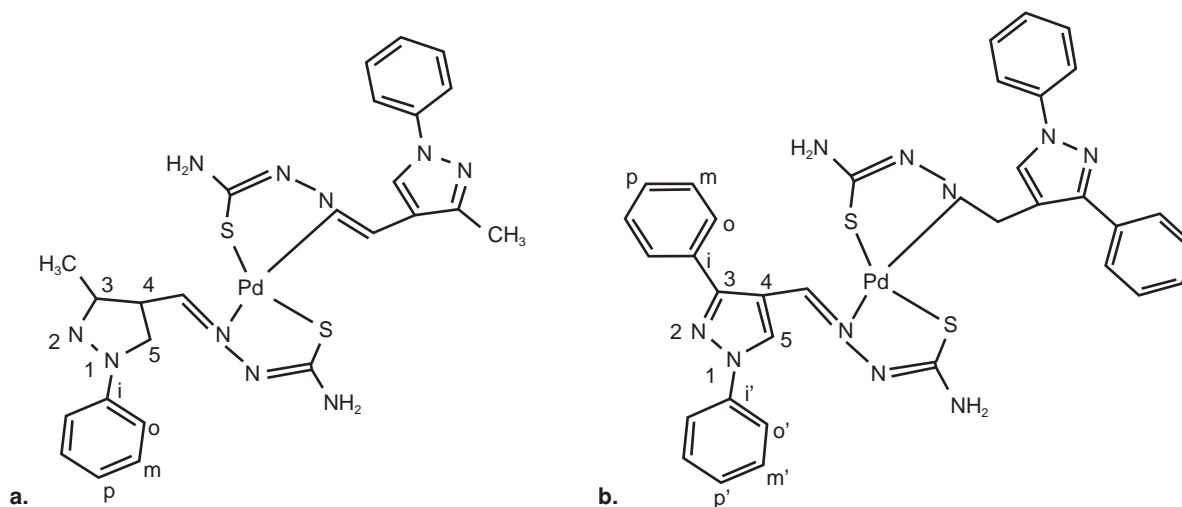


Figura 1. a. Estructura química del complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]. b. Estructura química del complejo [Pd(Ph₂PzTSC)₂]

suspensión se repitió en el mismo medio para cuantificarlas y determinar su viabilidad mediante el método de exclusión del colorante azul de tripano. Las células se ajustaron con medio RPMI y suero fetal bovino al 10 % a 7×10^5 células/200 μ l y se estimularon con 20 μ g/ml de fitohemaglutinina (PHA) durante 48 horas. Posteriormente se añadieron los compuestos y 24 horas después se hizo la lectura.

Actividad citotóxica

Para la evaluación de la actividad citotóxica se siguió uno de los métodos propuestos por Skehan, et al. (26): al cabo de 24 horas de tratamiento con los compuestos, se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo de la sulforodamina B (SRB). Las células se fijaron con 100 μ l de ácido tricloroacético al 10 % y se tiñeron durante 30 minutos con 50 μ l de la solución de SRB al 0,4 % disuelta en ácido acético al 1 %; luego, las placas se lavaron cinco veces con ácido acético al 1 % y se extrajo el colorante celular utilizando 100 μ l de solución tampón Tris Base a 10 mM (pH 10,5) durante cinco minutos en agitación suave. Por último, se examinó la densidad óptica de la solución solubilizada a 556 nm en un espectrofotómetro Tecan Spectra Classic. El efecto de los complejos sobre las células MCF-7 se expresó en términos de valores del porcentaje de inhibición, usando la siguiente fórmula: porcentaje de inhibición = $[1 - (\text{absorbancia media de células tratadas/absorbancia media del control})] \times 100$.

Análisis estadístico

La concentración inhibitoria, es decir, la concentración de los complejos necesaria para inhibir el 50 % del crecimiento en las células MCF-7 (CI_{50}), se midió mediante el cálculo de las curvas de inhibición de porcentaje y concentración. Se seleccionó el modelo no lineal hiperbólico para el ajuste de los datos. El análisis de regresión no lineal empleado permitió la obtención de los estimadores del modelo mediante mínimos cuadrados, usando como variable de respuesta la dosis inhibitoria y como variable de regresión la concentración de los complejos evaluados. Se utilizó este modelo por su gran utilidad en este tipo de ensayos y por tener el más bajo criterio de información de Akaike (AIC).

Resultados

La inclusión parcial del complejo de paladio (II) en la beta-ciclodextrina incrementa su actividad citotóxica en la línea celular de cáncer de mama.

Uno de los parámetros más utilizados para medir el potencial antitumoral de los productos con efecto

antineoplásico es la evaluación de la actividad citotóxica. Por ello, se ensayó la inhibición de la proliferación celular *in vitro* de la línea celular humana de cáncer de mama MCF-7 en presencia de los complejos de paladio. Los resultados iniciales indicaron que tanto los ligandos libres MePhPzTSC y Ph 2PzTSC, como los complejos de paladio (II) libres e incluidos [Pd(MePhPzTSC)₂], [Pd(Ph2PzTSC)₂], [Pd(MePhPzTSC)₂] • β -CD, [Pd(Ph2PzTSC)₂] • β -CD, presentaban acción citotóxica con valores de CI_{50} inferiores a 10 μ M; se observó una disminución significativa en la proliferación celular en las diferentes concentraciones evaluadas. Además, la inhibición de la proliferación fue mayor con la unión del ligando al ion metálico y con la inclusión en la beta-ciclodextrina (cuadro 1).

En el caso de la inclusión parcial en la beta-ciclodextrina de los complejos [Pd(MePhPzTSC)₂] • β -CD y [Pd(Ph2PzTSC)₂] • β -CD, se logró una inhibición de 50 % del crecimiento celular en concentraciones de 0,14 y 0,49 μ M, valores bajos en comparación con los valores de 1,4 y 2,9 μ M de los ligandos MePhPzTSC, Ph 2PzTSC, y de 0,57 y 1,24 μ M de los complejos de paladio (II) [Pd(MePhPzTSC)₂] y [Pd(Ph2PzTSC)₂]. Además, al comparar las concentraciones de los complejos incluidos parcialmente (0,14 y 0,49 μ M) con el cisplatino (6,87 μ M), se evidenció que las concentraciones inhibitorias de los complejos incluidos fueron mucho más bajas que las del cisplatino. Estos resultados indican que los complejos de paladio incluidos parcialmente en la beta-ciclodextrina requirieron concentraciones hasta 10 veces menores que la del cisplatino para alcanzar la CI_{50} en la línea celular MCF-7 (cuadro 1). Este efecto probablemente esté asociado con la mayor solubilidad de los complejos, lo cual puede contribuir a incrementar su actividad sobre el blanco celular.

Cuadro 1. Valores de la concentración inhibitoria media (CI_{50} en μ M) de los ligandos de tiosemicarbazonas y sus complejos de paladio (II) en la línea celular MCF-7

MCF-7		
Ligandos TSC y complejos de paladio (II)	CI_{50} (μ M)	DE \pm
(MePhPzTSC)	1,4	3,6
[Pd(MePhPzTSC) ₂]	0,57	4,6
[Pd(MePhPzTSC) ₂] • β -CD	0,14	3,0
(Ph 2PzTSC)	2,9	1,9
[Pd(Ph2PzTSC) ₂]	1,24	7,9
[Pd(Ph2PzTSC) ₂] • β -CD	0,49	2,7
Cisplatino	6,87	1,9

CI_{50} : concentración inhibitoria del 50 % de la proliferación celular
DE: desviación estándar

En la visualización con el microscopio de luz invertida, se evidenció que las células MCF-7 no tratadas con los complejos de paladio (II) parcialmente incluidos en la beta-ciclodextrina exhibían una morfología epitelial en monocapa. Sin embargo, al tratarlas con los complejos de paladio (II) parcialmente incluidos en beta-ciclodextrina, perdieron la morfología epitelial y el contacto con las células vecinas y adquirieron una morfología de células redondas, cambios que serían compatibles con el proceso de muerte celular (figura 2 a y b).

Con el fin de determinar si el efecto inhibitorio observado en las MCF-7 se producía en otras líneas celulares, se probaron los complejos de paladio con otras dos, la HTC-15 y la PC-3, y se evidenció que el complejo Pd(MePhPzTSC)₂•β-CD en las MCF-7 requería una concentración inhibitoria menor que en las otras dos líneas celulares, mientras que el complejo [Pd(Ph₂PzTSC)₂]•β-CD

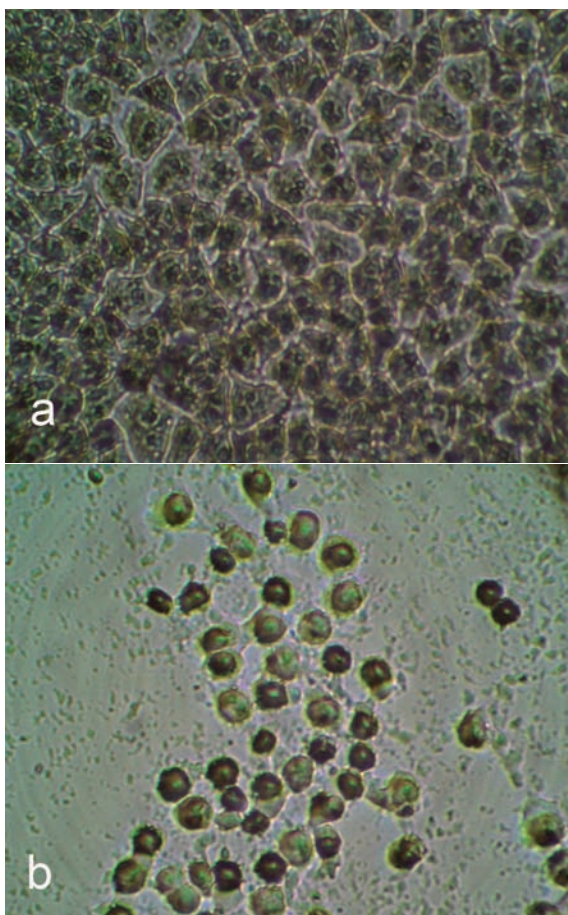


Figura 2. Imagen por microscopía de luz invertida de: **a.** la línea celular humana de cáncer de mama MCF-7 sin tratamiento, y **b.** las células tratadas durante 24 horas con 0,14 μM de [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD, 200X

se comportaba de forma similar en las tres líneas evaluadas. Sin embargo, los compuestos incluidos parcialmente en la beta-ciclodextrina presentaron acción citotóxica en las líneas celulares exploradas con concentraciones inhibitorias inferiores a 10 μM (cuadro 2).

Efecto inhibitorio de los complejos [Pd(Ph₂PzTSC)₂]•β-CD, [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD en las células mononucleares de sangre periférica

Para indagar sobre el posible efecto secundario de los complejos de paladio (II) en células normales no tumorales, se ensayaron también en células mononucleares de sangre periférica con los valores de CI₅₀ determinados para cada uno. Como se evidencia en la figura 3, el complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD inhibió en un 5 % la proliferación celular inducida por 20 μg/ml del agente mitógeno fitohemaglutinina (PHA); estos datos indican que, aunque el complejo [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD requirió una CI₅₀ menor (0,14 μM), fue poco tóxico para las células normales y en ningún caso alcanzó a inhibir el 50 % de la población celular normal, porcentaje de inhibición que sí se evidenció en la línea tumoral MCF-7.

Discusión

Desde los años 90, el *National Cancer Institute* de los Estados Unidos publica datos sobre la citotoxicidad en diversas líneas celulares con la finalidad de detectar *in vitro* medicamentos contra el cáncer. En este contexto, se han presentado como promisorios aquellos que recurren a compuestos de metales pesados (rodio, paladio, plata, iridio platino, oro, mercurio, estaño, plomo, antimonio y bismuto, entre otros) y de ligandos de las tiosemicarbazonas. Los resultados del perfil citotóxico indican que tienen especificidad frente a ciertas células tumorales, según sus propiedades (27).

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que los ligandos libres MePhPzTSC y Ph₂PzTSC, los complejos metálicos de paladio (II) libres Pd(MePhPzTSC)₂ y Pd(Ph₂PzTSC)₂ y sus respectivos compuestos de inclusión parcial en la beta-ciclodextrina, presentan propiedades citotóxicas en la línea celular MCF-7 y en otras, como la HCT-15 y la PC-3. Asimismo, la CI₅₀ en las MCF-7 se logró con dosis menores que las de los compuestos de inclusión parcial de paladio (II) en la beta-ciclodextrina. Los complejos [Pd(MePhPzTSC)₂]•β-CD y [Pd(Ph₂PzTSC)₂]•β-CD exhibieron un mayor efecto citotóxico contra la línea celular MCF-7

Cuadro 2. Comparación de la concentración inhibitoria media (CI_{50} en μM) de los complejos de paladio (II) parcialmente incluidos en la beta ciclodextrina para las líneas celulares MCF-7, HCT-15 y PC-3

Complejos de paladio (II) parcialmente incluidos en la beta ciclodextrina	CI_{50} (μM) Líneas celulares		
	MCF-7	HCT-15	PC-3
Pd(MePhPzTSC)2 • β -CD	0,14 DE \pm 3	0,40 DE \pm 1,4	0,29 DE \pm 2,7
[Pd(Ph2PzTSC)2] • β -CD	0,49 DE \pm 2,7	0,34 DE \pm 1,1	0,49 DE \pm 0,5

CI_{50} : concentración inhibitoria del 50 % de la proliferación celular; DE: desviación estándar

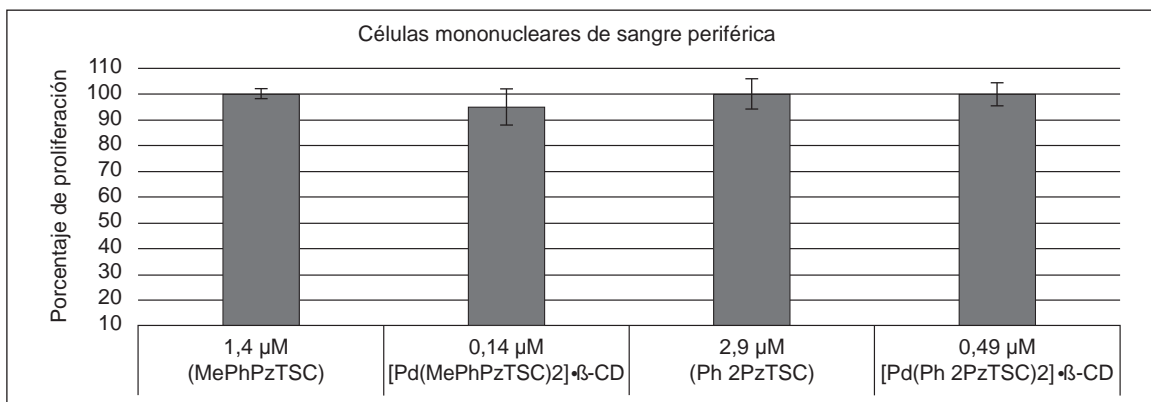


Figura 3. Efecto citotóxico registrado en las células mononucleares de sangre periférica tratadas durante 24 horas con los ligandos MePhPzTSC (1,4 μM), Ph 2PzTSC (2,9 μM) y los complejos de paladio parcialmente incluidos en la beta ciclodextrina [Pd(MePhPzTSC)2]• β -CD: 0,14 μM , y [Pd(Ph2PzTSC)2]• β -CD: 0,49 μM . La proliferación se evaluó mediante el ensayo de la sulforodamina B.

dependiente de la dosis, lo cual podría relacionarse con una mayor solubilidad y biodisponibilidad de los complejos cuando se forman los compuestos de inclusión. La inclusión parcial de los complejos de paladio (II) [Pd(MePhPzTSC)2] y [Pd(Ph2PzTSC)2] en beta-ciclodextrina facilita su transporte y aumenta su biodisponibilidad a través de la membrana y hacia el sitio de acción dentro de la célula por las interacciones entre moléculas del tipo de van der Waals o enlaces de hidrógeno.

Según el concepto de Overtone de permeabilidad celular, la membrana lipídica que rodea la célula favorece el paso de materiales solubles a lípidos, ya que esta característica es un factor importante de control de la actividad (28). La polaridad del ion de paladio (II) se reduce por la superposición de los orbitales del ligando y el intercambio parcial de carga positiva del ion metálico a los átomos donadores del ligando, lo que aumenta la deslocalización de electrones sobre el quelato, mejora el comportamiento lipófilo de los complejos y, en consecuencia, incrementa la penetración del complejo en la membrana de lípidos. De esta manera, los sitios de unión de metales en las

enzimas de los organismos se bloquean, lo cual probablemente perturba el proceso de respiración de la célula e inhibe la síntesis de las proteínas, restringiendo el crecimiento celular (28,29). Además, el mecanismo de acción de los complejos de inclusión parcial puede implicar la formación de un enlace de hidrógeno mediante el grupo azometino (-C=N) del complejo con los centros activos de los componentes de las células, lo cual resulta en la interferencia de su proceso normal.

Uno de los efectos no deseados de muchos fármacos antineoplásicos es su efecto tóxico sobre los leucocitos de sangre periférica (30), por lo que su vigilancia durante la terapia oncológica es fundamental. Por ello, se decidió probar su efecto tóxico sobre los linfocitos normales. Los resultados evidenciaron que ninguno de los compuestos analizados mostró actividad inhibitoria significativa sobre las células mononucleares de sangre periférica activadas, lo cual sugiere que tienen baja toxicidad en las células linfoides normales.

Los compuestos de inclusión parcial de paladio (II) disminuyen en 50 % la proliferación de las células MCF-7 con concentraciones menores de 3 μM

(figura 2, cuadro 1), las cuales son inferiores a las reportadas en la literatura científica, pues la CI_{50} en la línea celular MCF-7 fluctúa entre 4,41 y 100 μM (9,31). La diferencia en la CI_{50} puede estar asociada con la mayor solubilidad y estabilidad fisicoquímica producto de la inclusión en la beta-ciclodextrina del complejo de paladio (II) (24,32). Otros autores han propuesto diferentes metodologías para mejorar la actividad de los complejos de paladio (II), por ejemplo, la modificación de la proporción del ligando de las tiosemicarbazonas, con una CI_{50} de 0,13 μM (10), comparable con las reportadas en este estudio en la línea celular MCF-7, y la del complejo $[Pd(MePhPzTSC)_2]$ parcialmente incluido en la beta-ciclodextrina, con una CI_{50} de 0,14 μM .

La adición de beta-ciclodextrina se ha ensayado en otros fármacos, como los antihelmínticos, y se ha evidenciado un incremento significativo de su eficacia con menores dosis (33), por lo que esta estrategia es una alternativa para el diseño de otros complejos de metales de transición que tengan potencial actividad antineoplásica. Las beta-ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos que forman complejos de inclusión en una variedad de moléculas hidrofóbicas (34), por lo cual se considera que confieren mayor solubilidad y estabilidad a las propiedades biológicas de las moléculas (30), efecto que se vería potenciado por las propiedades farmacológicas de los complejos de paladio (cuadro 1, 2) en la inhibición de la síntesis de ADN o por unión no covalente con el ADN, ocasionando así la muerte celular y logrando un mayor efecto con menores dosis, sin afectar de manera significativa las células linfoides normales.

Además, las células MCF-7 tratadas con los compuestos de paladio (II) de las tiosemicarbazonas mostraron una morfología similar a las células en apoptosis. Recientemente, se ha logrado discernir parte de los eventos moleculares asociados con la actividad citotóxica de estos complejos. Las células expuestas a ellos exhiben cambios asociados con la apoptosis, tales como la ruptura de la doble hélice de ADN, asociados con la activación de la caspasa 3/7, y la condensación y fragmentación de la cromatina nuclear, eventos que se observan incluso en ausencia del gen *p53*, el *Bax* o la caspasa 3 (35). Este hallazgo es prometedor, pues la mayoría de las células cancerígenas que son resistentes a la muerte celular se asocian con mutaciones en el *p53*, en la caspasa 3 o en miembros de la familia de las Bcl2 (36).

Por último, estos resultados sugieren que los complejos de paladio (II) modificados con la inclusión parcial en la beta-CD ($[Pd(MePhPzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$ y $[Pd(Ph_2PzTSC)_2] \cdot \beta\text{-CD}$), pueden considerarse como posibles agentes quimioterapéuticos debido a su potencial efecto citotóxico en las líneas celulares MCF-7, HCT-15 y PC-3, induciendo la muerte celular y, en consecuencia, el bloqueo de la división celular.

Se propone, entonces, estudiar la beta-ciclodextrina como una nueva alternativa de medicamento antineoplásico, optimizando su biodisponibilidad y reduciendo los efectos tóxicos no deseados en las células normales. Tales estudios deberán evaluar su acción citotóxica en otras líneas celulares, para establecer su sensibilidad frente a estos complejos y los eventos moleculares que determinan el efecto citotóxico de la inclusión parcial de los complejos de paladio (II) en la beta-ciclodextrina en las células neoplásicas.

Agradecimientos

A todos los miembros del Centro de Microscopía Electrónica "Dr. Ernesto Palacios Prú", Instituto de Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, y al Centro Integral de Hematología y Oncología Médica C.A., por su apoyo y colaboración en el desarrollo de la investigación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que durante la realización de este trabajo no tuvieron conflicto de intereses.

Financiación

La investigación fue financiada por la Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, la Universidad de Pamplona, el Centro de Microscopía Electrónica "Dr. Ernesto Palacios Prú" y el Instituto de Inmunología Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Referencias

1. **Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D.** Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:69-90. <http://dx.doi.org/10.3322/caac.20107>
2. **Kapdi AR, Fairlamb IJ.** Anti-cancer palladium complexes: A focus on PdX₂L₂, palladacycles and related complexes. *Chem Soc Rev.* 2014;43:4751-77. <http://dx.doi.org/10.1039/c4cs00063c>
3. **Serda M, Kalinowski DS, Rasko N, Potuckova E, Mrozek-Wilczkiewicz A, Musiol R, et al.** Exploring the anti-cancer activity of novel thiosemicarbazones generated through the combination of retro-fragments: Dissection of critical structure-activity relationships. *PLoS One.* 2014;9:e110291. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0110291>

4. **Ari F, Aztopal N, Icelse C, Yilmaz VT, Guney E, Buyukgungor O, *et al.*** Synthesis, structural characterization and cell death-inducing effect of novel palladium(II) and platinum(II) saccharinate complexes with 2-(hydroxymethyl)pyridine and 2-(2-hydroxyethyl)pyridine on cancer cells *in vitro*. *Bioorg Med Chem.* 2013;21:6427-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2013.08.050>
5. **Ari F, Cevatemre B, Armutak EI, Aztopal N, Yilmaz VT, Ulukaya E.** Apoptosis-inducing effect of a palladium(II) saccharinate complex of terpyridine on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Bioorg Med Chem.* 2014;22:4948-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2014.06.039>
6. **Padhye S, Afrasiabi Z, Sinn E, Fok J, Mehta K, Rath N.** Antitumor metallothiosemicarbazones: Structure and antitumor activity of palladium complex of phenanthrenequinone thiosemicarbazone. *Inorg Chem.* 2005;44:1154-6. <http://dx.doi.org/10.1021/ic048214v>
7. **Matesanz AI, Perles J, Souza P.** New palladium and platinum complexes with bioactive 3,5-diacetyl-1,2,4-triazol bis(4-cyclohexyl thiosemicarbazone) ligand: Chemistry, antiproliferative activity and preliminary toxicity studies. *Dalton Trans.* 2012;41:12538-47. <http://dx.doi.org/10.1039/C2DT31199B>
8. **Prabhakaran R, Kalaivani P, Poornima P, Dallemer F, Huang R, Vijaya Padma V, *et al.*** Synthesis, DNA/protein binding and *in vitro* cytotoxic studies of new palladium metallothiosemicarbazones. *Bioorg Med Chem.* 2013;21: 6742-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2013.08.005>
9. **Ulukaya E, Ari F, Dimas K, Ikitimur EI, Guney E, Yilmaz VT.** Anti-cancer activity of a novel palladium(II) complex on human breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Med Chem.* 2011;46:4957-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2011.07.055>
10. **Hernández W, Paz J, Carrasco F, Vaisberg A, Spodine E, Manzur J, *et al.*** Synthesis and characterization of new palladium(II) thiosemicarbazone complexes and their cytotoxic activity against various human tumor cell lines. *Bioinorg Chem Appl.* 2013;2013:524701. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/524701>
11. **Jagadeesh M, Rashmi HK, Subba Rao Y, Sreenath Reddy A, Prathima B, Uma Maheswari Devi P, *et al.*** Synthesis and spectroscopic characterization of 3,4-difluoroacetophenone-thiosemicarbazone and its palladium(II) complex: Evaluation of antimicrobial and antitumor activity. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2013;115:583-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2013.06.071>
12. **Ramachandran E, Kalaivani P, Prabhakaran R, Rath NP, Brinda S, Poornima P, *et al.*** Synthesis, X-ray crystal structure, DNA binding, antioxidant and cytotoxicity studies of Ni(II) and Pd(II) thiosemicarbazone complexes. *Metallomics.* 2012;4:218-27. <http://dx.doi.org/10.1039/C1MT00143D>
13. **Kalaivani P, Prabhakaran R, Dallemer F, Poornima P, Vaishnavi E, Ramachandran E, *et al.*** DNA, protein binding, cytotoxicity, cellular uptake and antibacterial activities of new palladium(II) complexes of thiosemicarbazone ligands: Effects of substitution on biological activity. *Metallomics.* 2012;4:101-13. <http://dx.doi.org/10.1039/c1mt00144b>
14. **Sasmal PK, Streu CN, Meggers E.** Metal complex catalysis in living biological systems. *Chem Commun (Camb).* 2013;49: 1581-7. <http://dx.doi.org/10.1039/C2CC37832A>
15. **Hernández W, Paz J, Vaisberg A, Spodine E, Richter R, Beyer L.** Synthesis, characterization, and *in vitro* cytotoxic activities of benzaldehyde thiosemicarbazone derivatives and their palladium (II) and platinum (II) complexes against various human tumor cell lines. *Bioinorg Chem Appl.* 2008;2008:690952. <http://dx.doi.org/10.1155/2008/690952>
16. **Kovala-Demertzi D, Demertzi MA, Miller JR, Papadopoulou C, Dodorou C, Filousis G.** Platinum(II) complexes with 2-acetyl pyridine thiosemicarbazone. Synthesis, crystal structure, spectral properties, antimicrobial and antitumor activity. *J Inorg Biochem.* 2001;86:555-63. [http://dx.doi.org/10.1016/S0162-0134\(01\)00224-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0162-0134(01)00224-0)
17. **Kovala-Demertzi D, Varadinova T, Genova P, Souza P, Demertzi MA.** Platinum(II) and palladium(II) complexes of pyridine-2-carbaldehyde thiosemicarbazone as alternative antiherpes simplex virus agents. *Bioinorg Chem Appl.* 2007;2007:56165. <http://dx.doi.org/10.1155/2007/56165>
18. **Prabhakaran R, Renukadevi SV, Karvembu R, Huang R, Mautz J, Huttner G, *et al.*** Structural and biological studies of mononuclear palladium(II) complexes containing N-substituted thiosemicarbazones. *Eur J Med Chem.* 2008;43:268-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.03.006>
19. **Jagadeesh M, Lavanya M, Kalangi SK, Sarala Y, Ramachandraiah C, Varada Reddy A.** Spectroscopic characterization, antioxidant and antitumor studies of novel bromo substituted thiosemicarbazone and its copper(II), nickel(II) and palladium(II) complexes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2015;135:180-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2014.06.141>
20. **Finch RA, Liu M, Grill SP, Rose WC, Loomis R, Vásquez KM, *et al.*** Triapine (3-aminopyridine-2-carboxaldehyde-thiosemicarbazone): A potent inhibitor of ribonucleotide reductase activity with broad spectrum antitumor activity. *Biochem Pharmacol.* 2000;59:983-91. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952\(99\)00419-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-2952(99)00419-0)
21. **Shao J, Zhou B, Chu B, Yen Y.** Ribonucleotide reductase inhibitors and future drug design. *Curr Cancer Drug Targets.* 2006;6:409-31. <http://dx.doi.org/10.2174/156800906777723949>
22. **Rosu T, Pahontu E, Pasculescu S, Georgescu R, Stanica N, Curaj A, *et al.*** Synthesis, characterization antibacterial and antiproliferative activity of novel Cu(II) and Pd(II) complexes with 2-hydroxy-8-R-tricyclo[7.3.1.0.(2,7)]tridecane-13-one thiosemicarbazone. *Eur J Med Chem.* 2010;45:1627-34. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.12.015>
23. **Tamayo LV, Burgos AE, Brandão PF.** Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of the ligand 3-methylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone and its Pd(II) complex. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat Elem.* 2013;189:52-9. <http://dx.doi.org/10.1080/10426507.2013.777726>
24. **Mura P.** Analytical techniques for characterization of cyclodextrin complexes in the solid state: A review. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;113:226-38. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpba.2015.01.058>
25. **Burgos AE, Tamayo L, Torrellas-Hidalgo R.** Synthesis, characterization and antimicrobial activity of a Pd(II) complex with a 1,3-diphenylpyrazole-4-carboxaldehyde thiosemicarbazone ligand. *Rev Udca Actual Divulg Cient.* 2014;17:477-86.

26. **Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, et al.** New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst.* 1990;82:1107-12. <http://dx.doi.org/10.1093/jnci/82.13.1107>
27. **Huang R, Wallqvist A, Covell DG.** Anticancer metal compounds in NCI's tumor-screening database: Putative mode of action. *Biochem Pharmacol.* 2005;69:1009-39. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2005.01.001>
28. **Mishra L, Singh VK.** Synthesis and structural and antifungal studies of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with new Schiff bases bearing benzimidazoles. *Indian J. Chem.* 1993;32A:446-9.
29. **Malhota L, Kumar S, Dhindsa KS.** Synthesis, characterization and microbial activity of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes of aryloxyacetic acid and hydrazides. *Indian J Chem.* 1993;32:457-9.
30. **Turaneck J, Wang XF, Knotigova P, Koudelka S, Dong LF, Vrublova E, et al.** Liposomal formulation of alpha-tocopheryl maleamide: *In vitro* and *in vivo* toxicological profile and anticancer effect against spontaneous breast carcinomas in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009;237:249-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.027>
31. **Matesanz AI, Leitao I, Souza P.** Palladium(II) and platinum(II) bis(thiosemicarbazone) complexes of the 2,6-diacetylpyridine series with high cytotoxic activity in cisplatin resistant A2780cisR tumor cells and reduced toxicity. *J Inorg Biochem.* 2013;125:26-31. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2013.04.005>
32. **Loftsson T, Duchene D.** Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm.* 2007;329:1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2006.10.044>
33. **Codina AV, García A, Leonardi D, Vasconi MD, Di Masso RJ, Lamas MC, et al.** Efficacy of albendazole: Beta-cyclodextrin citrate in the parenteral stage of *Trichinella spiralis* infection. *Int J Biol Macromol.* 2015;77:203-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.02.049>
34. **Szejtli J.** Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev.* 1998;98:1743-54. <http://dx.doi.org/10.1021/cr970022c>
35. **Kacar O, Adiguzel Z, Yilmaz VT, Cetin Y, Cevatemre B, Arda N, et al.** Evaluation of the molecular mechanisms of a palladium(II) saccharinate complex with terpyridine as an anticancer agent. *Anticancer Drugs.* 2014;25:17-29. <http://dx.doi.org/10.1097/CAD.0b013e328364c6ad>
36. **Ulukaya E, Acilan C, Yilmaz Y.** Apoptosis: Why and how does it occur in biology? *Cell Biochem Funct.* 2011;29:468-80. <http://dx.doi.org/10.1002/cbf.1774>

ORIGINAL ARTICLE

Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: A multicenter matched case-control study

Paola Mariana Arias-Ortiz¹, Libia del Pilar Calderón^{1†}, Juan Sebastián Castillo^{2,3}, José Moreno⁴, Aura Lucía Leal^{2,5}, Jorge Alberto Cortés^{2,6}, Carlos Arturo Álvarez^{2,6}, on behalf of *Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá* (GREBO)

¹ Maestría en Epidemiología, Universidad el Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

³ Instituto para la Evaluación de la Calidad y Atención en Salud, Bogotá, D.C., Colombia.

⁴ Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad del Rosario, Bogotá, D.C., Colombia

⁵ Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

⁶ Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

† Died June 17, 2014

Introduction: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is a frequent pathogen at critical care services. Its presence leads to increased hospital stays and mortality risk in patients with bacteremia. However, the etiology of this resistance marker has not been fully studied.

Objective: To identify risk factors associated with the emergence of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia in critically ill patients treated at intensive care units in Bogotá, Colombia.

Materials and methods: We conducted a retrospective paired case-control study, nested in a cohort of patients diagnosed with *S. aureus* bacteremia and treated at intensive care units between 2006 and 2008 in Bogotá. Cases were patients with positive blood culture to methicillin resistance, matched in a 1:1 ratio with methicillin-sensitive controls isolated from the same institution and hospitalization year. We used conditional logistic regression to analyze the risk factors associated with the presence of resistance, with emphasis on prior antibiotic therapy.

Results: We included 372 patients with *S. aureus* bacteremia. Factors such as the use of pre-hospital devices: vascular (OR=1.986, 95% CI 1.038 to 3.801) and urinary (OR=2.559, 95% CI: 1.170 to 5.596), along with the number of previously used antibiotics, were associated with the emergence of resistance. The number of antibiotics used previously was determined to have a gradient effect, particularly carbapenems.

Conclusions: The rational use of antibiotics and surveillance of exposure to surgical procedures or use of invasive devices are interventions that could diminish the emergence of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia causes.

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; risk factors; drug resistance, microbial; intensive care units; case-control studies.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3193>

Factores de riesgo de la resistencia a meticilina de *Staphylococcus aureus* causante de bacteriemia: estudio multicéntrico de casos y controles emparejados

Introducción. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina es uno de los agentes patógenos más frecuentes en las unidades de cuidados intensivos. Su presencia prolonga las hospitalizaciones y aumenta el riesgo de mortalidad en los pacientes con bacteriemia. Sin embargo, la etiología de este marcador de resistencia no ha sido completamente estudiada.

Objetivo. Determinar los factores asociados con la aparición de *S. aureus* resistente a la meticilina causante de bacteriemia en pacientes atendidos en unidades de cuidados intensivos en Bogotá.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio retrospectivo de casos y controles emparejados, anidado en una cohorte de pacientes con diagnóstico de bacteriemia por *S. aureus* atendidos en unidades de cuidados intensivos de Bogotá entre 2006 y 2008. Los casos fueron pacientes con hemocultivo positivo para resistencia a la meticilina, emparejados 1 a 1 con controles con hemocultivos sensibles

Author's contributions:

Juan Sebastián Castillo, Aura Lucía Leal, Jorge Alberto Cortés, Carlos Arturo Álvarez: project design, funding, management and field work implementation

Paola Mariana Arias-Ortiz, Libia del Pilar Calderón, Juan Sebastián Castillo, José Moreno: data review and analysis

All authors participated in manuscript preparation, revision and submission.

a la meticilina de la misma institución y año de hospitalización. Se analizaron mediante regresión logística condicional los factores de riesgo asociados con la presencia de resistencia, con énfasis en el tratamiento previo con antibióticos.

Resultados. Se incluyeron 372 pacientes con bacteriemia por *S. aureus*. Factores como el uso de dispositivos previos a la hospitalización: vasculares (*Odds ratio*, OR=1,986; IC_{95%} 1,038-3,801) y urinarios (OR=2,559; IC_{95%} 1,170-5,596), así como el número de antibióticos administrado previamente, se asociaron con la aparición de resistencia. Se registró un efecto de gradiente con el número de antibióticos usados previamente, especialmente carbapenémicos.

Conclusiones. El uso racional de antibióticos y la vigilancia de la exposición a procedimientos quirúrgicos o al uso de dispositivos invasivos, son intervenciones que podrían disminuir la aparición de *S. aureus* resistente a meticilina causante de bacteriemia.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina; factores de riesgo; farmacorresistencia microbiana; unidades de cuidados intensivos; estudios de casos y controles.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3193>

The emergence of resistant microorganisms is a worldwide phenomenon with serious implications on the quality of care and the efficiency of health services (1). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the principal microorganisms that cause infections in hospitals, especially in intensive care units (ICU). Bloodstream infections are notable among those caused by this agent (2). Methicillin resistance has been shown to impact clinical and economic outcomes negatively, particularly in terms of increased morbimortality and duration of hospitalization, as well as the demand for additional interventions to mitigate its clinical impact (3,4). The emergence of MRSA in the ICU is a priority problem because of the convergence of factors in critically ill patients such as the existence of comorbidities involving immune response effects, intensive use of devices and antibiotics and the circulation of resistant strains (5). To reduce the effect of the infection, studies have recommended anticipating the diagnosis of methicillin-resistant *S. aureus* and administering appropriate and timely therapy (6,7).

In order to classify patients who could become infected with MRSA, proven risk factors must be evaluated in advance to compensate for the current limitations in determining an early diagnosis (6). MRSA bacteremia emergence among ICU patients has been associated with several factors, which can be classified according to three groups: a) those related to the microorganisms, primarily the spread of resistant clones (8); b) those associated

with the host, which include age, sex, presence of comorbidities (particularly chronic illnesses), previous use of antibiotics and invasive devices (9-12), and c) the characteristics of hospital and community environments (9,11,13), particularly previous use of antibiotics given the high risk associated with this factor and the control of cross-transmission of microorganisms.

In Colombia, the rates of resistance to methicillin in *S. aureus* bacteremia are roughly 33% of all isolates. In spite of a decreasing trend in MRSA, both mortality as well as negative outcomes for the health system continue to be of concern (14). The early identification of patients with MRSA bacteremia and interventions to prevent risk factors related to its emergence can contribute to mitigating the phenomenon. Nevertheless, no studies exist in Colombia that adequately identify the factors associated with the emergence of methicillin resistance in patients with bloodstream infections treated in intensive care units. Therefore, the present study, conducted in a hospital network in the city of Bogotá, Colombia, determined the factors associated with the emergence of MRSA as a causal agent of bacteremia in critically ill patients treated at the ICU.

Materials and methods

Design and participants

This was a case-control study of patients diagnosed with *S. aureus* bacteremia selected from 41 intensive care units at 18 public and highly complex hospitals in Bogotá between January 2006 and December 2008. Cases were defined as patients over 15 years of age hospitalized in the ICU with methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia confirmed by blood culture according to the criteria established by infection surveillance systems used in Colombia

Corresponding author:

Juan Sebastián Castillo, Instituto para la Evaluación de la Calidad y Atención en Salud, Carrera 13 N° 32-51, torre 3, oficina 321, Bogotá, D.C., Colombia
Telephone: (571) 755 1880; fax: (571) 755 1879
juan.castillo@iecas.org

Received: 17/12/15; accepted: 05/05/16

(15). Methicillin resistance was determined using the automated systems VITEK[®] (bioMérieux Inc., Marcy l'Étoile, France) and MicroScan[®] (Siemens Healthcare Diagnostics Inc; Tarrytown, New York, United States). We selected controls among patients with methicillin-susceptible *S. aureus* bacteremia (MSSA) in the institution where each case was diagnosed during the same year of hospitalization. The relationship between cases and controls was 1:1. We excluded patients with polymicrobial bacteremia and those for whom a legible clinical chart was unavailable, or who had previously been included in the study (second isolate).

Definition and recording of variables

A medical team trained in using standardized tools to record information collected demographic and clinical information from the medical record of each individual. Questions and discrepancies in the recording of the information were resolved in a committee composed of infection control professionals at each institution.

We defined use of antibiotics prior to hospitalization as exposure to intravenous antibiotics three months before the bacteremia of interest, and the use of invasive devices as reported clinical history of their use prior to hospitalization or while hospitalized prior to admittance to the ICU. We classified devices as central vascular (central venous catheter, transcutaneous pacemaker, prosthetic valve, endovascular catheter, artery vein fistula and acute dialysis catheter); respiratory (endotracheal tube, thoracostomy tube, mediastinal tube, pleural catheter and tracheotomy cannula); urinary (gall bladder catheter, cystostomy and nephrostomy catheter); gastrointestinal (prosthesis, biliary catheter, peritoneal catheter, nasogastric, orogastric and nasojejunal tubes, gastrostomy, ileostomy and colostomy), and other devices (central nervous system catheter, orthopedic devices and drainages).

We defined "history of surgery" as a report of at least one major surgical procedure within 30 days prior to the blood culture with which the bacteremia was diagnosed, or report of surgery within the previous 12 months in the case of prosthetic implant material, and "history of ICU stay" as a clinical history of at least one day of hospitalization in an ICU unit prior to the bacteremia and up to 6 weeks prior to admittance to the hospital.

Comorbidities were obtained by disaggregating the Charlson's index (16), which includes: Peripheral vascular disease, peptic ulcer, connective tissue

disease, hepatic disease, AIDS, hemiplegia and dementia. The cancer category was disaggregated by patients with hematological tumors, solid tumors with metastasis and solid tumors without metastasis. Any patient with the following history was considered immunosuppressed: Use of corticoids over 20 mg per day for more than 15 days, chemotherapy during the six previous months, history of transplants, severe malnutrition or albumin <2.5 mg/dl, uncontrolled diabetes mellitus, organ failure (cirrhosis of the liver or renal insufficiency), neoplasm, HIV infection, autoimmune disease, severe burn and primary genetic immune deficiency disorder.

The primary infection site was defined as the likely location of the origin of the bacteremia according to the treating physician. This was classified based on the criteria described by Calandra, *et al.* (17), for infections in the ICU and Horan, *et al.* criteria (CDC) as: Vascular, respiratory, skin and soft tissues, and others, which included those less frequent (urinary, gastrointestinal, central nervous system, orthopedic and mediastinal origins) (15).

Statistical analysis

We described quantitative variables using central tendencies and dispersions and qualitative variables with absolute and relative frequencies based on the profile of susceptibility to *S. aureus*. The association between risk factors and the emergence of resistance was evaluated with crude and adjusted estimations using conditional logistic regression (18,19), based on the pairing conducted at each institution. To construct the adjusted model, we selected variables reported in the literature and progressively eliminated them using the backward stepwise technique. To evaluate the association between type of previous antibiotic use and methicillin resistance, we adjusted individual models for each group of antibiotics: Beta-lactams, non-carbapenems, carbapenems, quinolone, aminoglycosides and vancomycin. For each case, the final models only included variables with a significance level of $p < 0.05$. All the analyses were performed with the Stata version 12 statistical package (20). The figures were designed with GraphPad[®], Version 6.05 (Trial) (GraphPad Software, Inc. La Jolla, CA, USA) (21).

Results

We included 372 subjects in the study, 186 cases of MRSA bacteremia, and 186 MSSA bacteremia paired by institution and year.

Table 1 summarizes the distribution of the baseline characteristics and differences among groups. No statistically significant differences were observed among groups in terms of sex ($p=0.250$), age ($p=0.918$), comorbidities ($p=0.340$), immunosuppression ($p=0.34$), history of previous hospitalization ($p=0.31$), previous stay in the ICU ($p=0.21$), primary infection site ($p=0.56$) or known source of infection ($p=0.69$). Although no significant differences were found in history of invasive devices prior to hospitalization ($p=0.36$), some differences were observed among the subgroups corresponding to type of device.

We demonstrated significant differences between MRSA and MSSA with regard to history of previous surgery (67.2% vs. 39.2%), use of devices prior to hospitalization (94.6% vs. 84.9%), history of previous intravenous antibiotic use (76.9% vs. 30.6%) and place where the bacteremia was acquired.

The multivariate analysis (Table 2) demonstrated an association between the presence of MRSA and history of use of vascular catheters (OR=1.986; 95% CI: 1.038-3.801) and of urinary catheters prior to hospitalization (OR=2.559; 95% CI: 1.170-5.596). The previous use of intravenous antibiotics was also associated with the emergence of methicillin resistance. In addition, a gradient related to the number of antibiotic families used was found in the study population: One family (OR=4.565; 95% CI: 2.541-8.203), two families (OR=12.405; 95% CI: 5.286-29.111) and three or more families (OR=31.742; 95% CI: 8.967-112.367).

The effect of the type of antibiotic, adjusted by history of previous surgery and presence of urinary, respiratory and vascular catheters is summarized in figure 1. We found that the effect of carbapenems on the emergence of MRSA was greater than that of quinolone, beta-lactams, aminoglycosides and vancomycin.

Discussion

Previous intensive exposure to antibiotics emerged as the main risk factor for the presence of MRSA as a causal agent of bacteremia in the ICU of the hospital network in the city of Bogotá, Colombia. The previous use of vascular and urinary catheters had a similar effect. The presence of these histories should serve as an alert to identify at-risk populations so as to anticipate and prevent the negative consequences of MRSA infection (7). Our study suggests that for *S. aureus* infections, the combined exposure to antibiotics and poor

measures to control the infections increase the risk of resistance, as demonstrated with other microorganisms (22).

In Latin America, a study by Porto, *et al.* demonstrated a similar relationship between the presence of MRSA and the use of high dosages of cephalosporins, carbapenems and vancomycin as a monotherapy or in combination (10). As shown in figure 1, we independently identified the effects of the different types of antibiotics on the emergence of MRSA. The present study shows that the previous use of carbapenems has a significant effect on the emergence of methicillin resistance, followed by other effects also reported in the literature such as previous use of vancomycin, quinolone and beta-lactams (in order of importance) (23). This result can be found online in an earlier investigation by Tacconelli, *et al.*, which identified the association of this family of antibiotics with the emergence of resistant microorganisms in hospitals, indicating patterns of consuming broad spectrum antimicrobials which should be reviewed locally (24). The indiscriminate use of antibiotics has been described as a factor that exerts selection pressure on *S. aureus* resistant clones in the health-care setting (8).

The use of invasive devices as a risk factor for the presence of MRSA in bloodstream infections has been proven by earlier studies, as reported by Carnicer-Pont, *et al.* (12). The study by Porto, *et al.* also determined that a history of vascular, respiratory and gastric catheters represented a risk factor (10). The increased risk of MRSA infection can be explained by factors such as bacterial colonization of devices, greater exposure to manipulation and therefore to cross-transmission, and increased exposure to the use of prophylactic antimicrobials which could have a selective effect on the microorganism. An investigation performed at the same time as this study in one of the participating institutions identified a clonal spread of *S. aureus* among patients in the ICU, demonstrating this microorganism's enormous potential for cross-transmission (25).

The presence of comorbidities and the immunological status of patients have been presented previously as risk factors for the presence and prognosis of MRSA as a causal agent of bacteremia (9,10). Nevertheless, this was not proven in the study population. These variables may have been underreported due to the quality of the information given the retrospective nature of the information and the difficulty of verification with patient interviews.

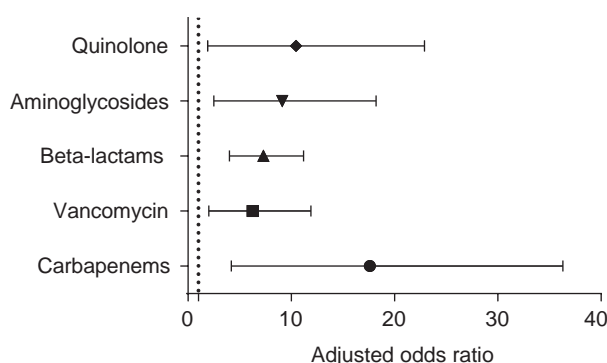
Table 1. Bivariate analysis using conditional logistic regression for factors associated with the emergence of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia

Variables	MRSA	MSSA	p	OR	CI 95%	
	(N=186)	(N=186)				
Risk factors	n	n				
Sex (female)	70	81	0.250	1.27	0.843	1.921
Age (average SD)	58 (19.26)	58 (19.66)	0.918	0.99	0.988	1.010
Immunosuppression *	94	85	0.340	1.22	0.807	1.845
Uncontrolled diabetes	38	28	0.169	1.46	0.849	2.533
Organ failure	30	28	0.775	1.09	0.619	1.900
Cancer	18	15	0.579	1.23	0.593	2.547
Burns	11	11	1.000	1.00	0.343	2.914
Others	26	23	0.512	1.24	0.650	2.367
Comorbidities*						
Congestive heart failure	36	47	0.082	0.64	0.387	1.058
Chronic pulmonary disease	31	37	0.319	0.76	0.450	1.295
Acute myocardial infarction	25	34	0.137	0.64	0.359	1.150
Renal disease (>moderate)	31	28	0.741	1.09	0.628	1.922
Cerebrovascular disease	20	26	0.255	0.69	0.372	1.299
Diabetes mellitus type 2	40	32	0.292	1.32	0.786	2.225
Peripheral vascular disease	17	11	0.291	1.52	0.695	3.348
Cancer	20	17	0.601	1.20	0.604	2.386
Others	48	42	0.690	1.11	0.659	1.875
Previous hospitalization	105	88	0.316	1.33	0.762	2.316
Previous ICU stay	33	23	0.219	1.46	0.795	2.712
Previous surgery	125	73	0.000	3.37	2.180	5.225
Invasive devices when admitted to hospital	86	78	0.363	1.23	0.787	1.924
Type of devices*						
Central vascular accesses	166	128	0.000	4.78	2.574	8.900
Respiratory devices	136	88	0.000	3.32	2.103	5.248
Urinary catheters	145	66	0.000	3.04	1.868	4.960
Gastrointestinal devices	92	64	0.002	2.03	1.298	3.179
Others	18	6	0.016	3.18	1.239	8.198
Devices prior to bacteremia during hospitalization	176	158	0.002	3.59	1.629	7.926
Type of devices*						
Central vascular accesses	64	37	0.001	2.21	1.361	3.603
Respiratory devices	47	18	0.000	3.22	1.780	5.845
Urinary catheters	29	9	0.001	3.62	1.666	7.907
Gastrointestinal devices	34	11	0.000	3.59	1.756	7.357
Others	18	6	0.782	0.86	0.289	2.544
Antibiotic use prior to bacteremia*	143	57	0.000	7.88	4.893	12.716
Prior to hospitalization	52	22	0.000	3.92	2.005	7.668
During hospitalization	130	44	0.000	8.41	5.151	13.755
Type of antibiotic prior to bacteremia*						
Beta-lactams	129	42	0.000	8.48	5.209	13.826
Carbapenems	46	4	0.000	15.46	5.420	44.143
Aminoglycosides	34	5	0.000	8.31	3.158	21.888
Quinolone	26	3	0.000	10.21	3.021	34.544
Vancomycin	30	9	0.000	4.23	1.890	9.474
Place where bacteremia was acquired			0.003	1.34	1.104	1.629
Community**	13	36				
Referring institution	26	26	0.015	1.26	1.229	6.840
Hospital, not ICU	42	35	0.002	3.36	1.544	7.340
Hospital, in the ICU	105	89	0.001	3.35	1.659	6.767
Source of infection is known	127	132	0.563	0.87	0.555	1.377
Primary infection site						
Vascular	73	74	0.913	0.97	0.635	1.499
Respiratory	24	32	0.238	0.75	0.426	1.318
Skin and soft tissues	18	17	0.859	1.07	0.530	2.137
Others	12	9	NS			

*: Not mutually exclusive variables, **: Reference category, NS: not significant

Table 2. Factors associated with the emergence of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia: Multivariate analysis using conditional logistic regression

Associated factor	OR	p	CI	CI
Previous surgery	1.760	0.037	1.034	2.994
Number of previous intravenous antibiotics*				
One	4.565	0.000	2.541	8.203
Two	12.405	0.000	5.286	29.111
Three or more	31.742	0.000	8.967	112.367
Urinary catheters prior to hospitalization	2.559	0.019	1.170	5.596
Central vascular catheters prior to hospitalization	1.986	0.038	1.038	3.801

Pseudo R²=0.3115. * Reference category: no previous exposure**Figure 1.** Adjusted effect of the type of antibiotic on the emergence of methicillin-resistant *S. aureus* bacteremia in the ICU. Estimators adjusted by previous surgery and exposure to vascular, respiratory and urinary catheters

A history of previous surgery was clearly identified as a factor associated with MRSA in the global as well as adjusted models for each type of antibiotic. The main explanation for this may be related to the risk of cross-transmission and intensive exposure to antibiotic use for therapeutic or prophylactic purposes.

Most of the infections were considered to have been hospital-acquired at the treating institution (79.0% MRSA vs. 66.7% MSSA) or the referring institution (14.0% for both groups). We observed a predominance of infections classified as community-acquired among patients with methicillin-sensitive *S. aureus* (13 MRSA vs. 36 MSSA). Although the origin of the bacteremia has been associated with the methicillin resistance level where community-acquired isolations are predominantly sensitive to methicillin (14), the multivariate analysis did not find this to be a risk factor for the presence of MRSA, despite its bivariate association with hospital-acquired infection. We did not perform

the molecular definition of the type of isolations and their relationships with community-acquired infection in the present investigation. Some reports in Colombia have described the presence of USA 300 clones related with SCC mec type IV genes in patients with multisensitive MRSA infection (8,23), which changed the predominant clone towards the end of the 2000-2010 decade (22,26).

The present study was retrospective and did not include an active search for bacteremia or colonization. Additional limitations were the lack of assessment of other variables related to the presence of MRSA and the use of devices such as prior colonization of these and other environmental variables. The results obtained from a hospital network contribute to the definition of groups at risk for MRSA infection. The risks were identified as previous exposure to invasive vascular and urinary catheters, a history of previous surgery and previous and intensive exposure to various antibiotics. The recognition of these risk factors serves as a guide for health professionals and services to provide differentiated and anticipatory care consisting of the best selection of the empirical antimicrobial therapy, early identification of failure of the established treatment and the correct implementation of measures to control infections in these patients. In order to mitigate the impact of infection by this microorganism on patients treated in intensive care units, health services need to locally define and implement strategies that enable both the early identification of MRSA infection and evidence-based management of this population.

Acknowledgements

We wish to thank all participant institutions from the *Grupo para el control de la resistencia bacteriana en Bogotá*, GREBO, for cooperating in the generation of cohort data that were used to perform the analysis.

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interest.

Financing

The original research providing the information used in the present study had the support of a research grant from Colciencias (110140820452-2007) and the *Universidad Nacional de Colombia* (DIB-2008 202010011672).

References

1. **World Health Organization.** Antimicrobial resistance, global report on surveillance. Geneva; WHO: 2014. Date

- of access: December 15, 2015. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf
2. **Cavalcanti SM, França ER, Cabral C, Vilela MA, Montenegro F, Menezes D, et al.** Prevalence of *Staphylococcus aureus* introduced into intensive care units of a University Hospital. *Braz J Infect Dis.* 2005;9:56-63. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702005000100010>
 3. **Engemann JJ, Carmeli Y, Cosgrove SE, Fowler VG, Bronstein MZ, Trivette SL, et al.** Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. *Clin Infect Dis.* 2003;36:592-8. <http://dx.doi.org/10.1086/367653>
 4. **Whitby M, McLaws ML BG.** Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: A meta-analysis. *Med J Aust.* 2001;175:264-7.
 5. **Warren DK, Guth RM, Coopersmith CM, Merz LR, Zack JE, Fraser VJ.** Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a surgical intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2006;27:1032-40.
 6. **Liu C, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, et al.** Clinical practice guidelines by the infectious diseases society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children. *Clin Infect Dis.* 2011;52:e18-55. <http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciq146>
 7. **Castillo JS, Leal AL, Cortés JA, Álvarez CA, Sánchez R, Buitrago G, et al.** Mortality among critically ill patients with bacteremia: A multicenter cohort study in Colombia Study setting. *Rev Panam Salud Pública.* 2012;32:343-50. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892012001100004>
 8. **Arias C a, Rincón S, Chowdhury S, Martínez E, Coronell W, Reyes J, et al.** MRSA USA300 clone and VREF--a U.S.-Colombian connection? *N Engl J Med.* 2008;359:2177-9. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMc0804021>
 9. **Ho KM, Robinson JO.** Risk factors and outcomes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia in critically ill patients: A case control study. *Anaesth Intensive Care.* 2009;37:457-63.
 10. **Porto JP, Santos RO, Pinto P, Filho G, Ribas RM.** Active surveillance to determine the impact of methicillin resistance on mortality in patients with bacteremia and influences of the use of antibiotics on the development of MRSA. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46:713-8. <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0199-2013>
 11. **Vidal PM, Trindade PA, García TO, Pacheco RL, Costa SF, Reinert C, et al.** Differences between "classical" risk factors for infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and risk factors for nosocomial bloodstream infections caused by multiple clones of the staphylococcal cassette chromosome mec type IV. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009;30:139-45. <http://dx.doi.org/10.1086/593954>
 12. **Carnicer-Pont D, Bailey KA, Mason BW, Walker AM, Evans MR, Salmon RL.** Risk factors for hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: A case-control study. *Epidemiol Infect.* 2006;134:1167-73. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268806006327>
 13. **Zhanell GG, DeCorby M, Laing N, Weshnowski B, Vashisht R, Tailor F, et al.** Antimicrobial-resistant pathogens in intensive care units in Canada: Results of the Canadian National Intensive Care Unit (CAN-ICU) study, 2005-2006. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:1430-7. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01538-07>
 14. **Cortés JA, Leal AL, Montañéz AM, Buitrago G, Castillo JS, Guzmán L.** Frequency of microorganisms isolated in patients with bacteremia in intensive care units in Colombia and their resistance profiles. *Braz J Infect Dis.* 2014;17:346-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2012.10.022>
 15. **Horan TC, Andrus M, Dudeck MA.** CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am J Infect Control.* 2008;36:309-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2008.03.002>
 16. **Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR.** A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40:373-83.
 17. **Calandra T, Cohen J.** The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2005;33:1538-48.
 18. **Greenland S, Schwartzbaum JA, Finkle WD.** Problems due to small samples and sparse data in conditional logistic regression analysis. *Am J Epidemiol.* 2000;151:531-9.
 19. **Li X, Song X, Gray R.** Comparison of the missing-indicator method and conditional logistic regression in 1:m matched case-control studies with missing exposure values. *Am J Epidemiol.* 2004;159:603-10. <http://dx.doi.org/10.1093/aje/kwh075>
 20. **StataCorp.** Stata Data Analysis and Statistical Software 2011. College Station, TX: StataCorp LP; 2012.
 21. **GraphPad Software, Inc.** GraphPad Software. La Jolla: GraphPad Software, Inc.; 2012.
 22. **Jonas D, Meyer E, Schwab F, Grundmann H.** Genodiversity of resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates in relation to antimicrobial usage density and resistance rates in intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008;29:350-7. <http://dx.doi.org/10.1086/528811>
 23. **Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Pozzi E, Cauda R.** Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:26-38. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkm416>
 24. **Tacconelli E, De Angelis G, Cataldo MA, Mantengoli E, Spanu T, Pan A, et al.** Antibiotic usage and risk of colonization and infection with antibiotic-resistant bacteria: A hospital population-based study. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:4264-9. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00431-09>
 25. **Olarte NM, Valderrama IA, Reyes KR, Garzón MI, Escobar JA, Castro BE, et al.** Colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina en una unidad de cuidados intensivos de adultos de un hospital colombiano: caracterización fenotípica y molecular con detección de un clon de circulación en la comunidad. *Biomédica.* 2010;182:353-61. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v30i3.269>
 26. **Escobar-Pérez JA, Castro BE, Márquez-Ortiz RA, Gaines S, Chavarro B Moreno J, et al.** Aislamientos de *Staphylococcus aureus* sensibles a metilina relacionados genéticamente con el clon USA300, ¿origen de los aislamientos SARM de genotipo comunitario en Colombia? *Biomédica.* 2014;34(Suppl.1):124-36. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1661>

ARTÍCULO ORIGINAL

Alteraciones de las células de la microglía del sistema nervioso central provocadas por lesiones del nervio facial

Jeimmy Cerón¹, Julieta Troncoso^{1,2}

¹ Laboratorio de Neurofisiología Comportamental, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

² Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. El grupo de investigación del Laboratorio de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia ha descrito modificaciones estructurales y electrofisiológicas en neuronas piramidales de la corteza motora producidas por la lesión del nervio facial contralateral en ratas. Sin embargo, poco se sabe sobre la posibilidad de que dichos cambios neuronales se acompañen también de modificaciones en las células gliales circundantes.

Objetivo. Caracterizar el efecto de la lesión unilateral del nervio facial sobre la activación y proliferación de las células de la microglía en la corteza motora primaria contralateral en ratas.

Materiales y métodos. Se hicieron pruebas de inmunohistoquímica para detectar las células de la microglía en el tejido cerebral de ratas sometidas a lesión del nervio facial, las cuales se sacrificaron en distintos momentos después de la intervención. Se infligieron dos tipos de lesiones: reversible (por compresión, lo cual permite la recuperación de la función) e irreversible (por corte, lo cual provoca parálisis permanente). Los tejidos cerebrales de los animales sin lesión (grupo de control absoluto) y de aquellos sometidos a falsa cirugía se compararon con los de los animales lesionados sacrificados 1, 2, 7, 21 y 35 días después de la lesión.

Resultados. Las células de la microglía en la corteza motora de los animales lesionados irreversiblemente mostraron signos de proliferación y activación entre el tercero y séptimo días después de la lesión. La proliferación de las células de la microglía en animales con lesión reversible fue significativa solo a los tres días de infligida la lesión.

Conclusiones. La lesión del nervio facial produce modificaciones en las células de la microglía de la corteza motora primaria. Estas modificaciones podrían estar involucradas en los cambios morfológicos y electrofisiológicos descritos en las neuronas piramidales de la corteza motora que comandan los movimientos faciales.

Palabras clave: microglía; células piramidales; corteza motora; rata.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3259>

Facial nerve injuries cause changes in central nervous system microglial cells.

Introduction: Our research group has described both morphological and electrophysiological changes in motor cortex pyramidal neurons associated with contralateral facial nerve injury in rats. However, little is known about those neural changes, which occur together with changes in surrounding glial cells.

Objective: To characterize the effect of the unilateral facial nerve injury on microglial proliferation and activation in the primary motor cortex.

Materials and methods: We performed immunohistochemical experiments in order to detect microglial cells in brain tissue of rats with unilateral facial nerve lesion sacrificed at different times after the injury. We caused two types of lesions: reversible (by crushing, which allows functional recovery), and irreversible (by section, which produces permanent paralysis). We compared the brain tissues of control animals (without surgical intervention) and sham-operated animals with animals with lesions sacrificed at 1, 3, 7, 21 or 35 days after the injury.

Results: In primary motor cortex, the microglial cells of irreversibly injured animals showed proliferation and activation between three and seven days post-lesion. The proliferation of microglial cells in reversibly injured animals was significant only three days after the lesion.

Contribución de los autores:

Jeimmy Cerón: pruebas de inmunohistoquímica, cortes en crióstato del tejido cerebral, procesamiento de las imágenes de los tejidos para análisis y conteo celular

Julieta Troncoso: cirugías de lesión del nervio facial, pruebas de inmunohistoquímica, captura de fotografías del tejido cerebral, análisis de resultados y redacción del manuscrito.

Conclusions: Facial nerve injury causes changes in microglial cells in the primary motor cortex. These modifications could be involved in the generation of morphological and electrophysiological changes previously described in the pyramidal neurons of primary motor cortex that command facial movements.

Key words: Microglial; pyramidal cells; motor cortex; rat.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3259>

En algunos roedores el movimiento activo de las vibrisas posibilita la exploración táctil del entorno inmediato de manera muy precisa y les permite construir una representación dinámica de los objetos a su alrededor (1-3). Cuando los animales baten activamente sus vibrisas, lo hacen por la contracción alternada de los músculos intrínsecos y extrínsecos del parche de vibrisas, lo cual permite que estas se muevan en el plano horizontal hacia adelante y hacia atrás de manera coordinada, rítmica y a una gran velocidad (4,5).

Los músculos asociados a los movimientos de las vibrisas son controlados por motoneuronas cuyos somas se ubican en el núcleo facial, las cuales, a su vez, están comandadas por múltiples estructuras premotoras (6). En la corteza cerebral, las células piramidales de la capa V de la corteza motora agranular medial, o corteza motora primaria de las vibrisas (*Vibrissal Motor Cortex*, vM1), actúan mediante proyecciones monosinápticas directas sobre las motoneuronas del núcleo del nervio facial que comandan el movimiento de las vibrisas (neuronas córtico-faciales) (7). Tanto el tálamo somatosensorial como la corteza somatosensorial primaria, envían proyecciones a la corteza vM1, de modo que esto permite ajustar el patrón de movimientos con base en la información sensorial recibida (8).

La axotomía del nervio facial en roedores se ha utilizado ampliamente para el estudio de la plasticidad del sistema sensitivo y motor de las vibrisas, no solo en las motoneuronas dañadas y las células gliales circundantes en el núcleo del nervio facial, sino también para lo relacionado con los cambios en otras estructuras cerebrales (9). Se sabe que después de las lesiones de nervio periférico, las motoneuronas cuyos axones han sido lesionados sufren cambios que incluyen la retracción de su árbol dendrítico (10,11), la modificación de

sus propiedades electrofisiológicas (tanto activas como pasivas) (12-14) y cambios en los niveles de expresión de determinados genes (15-18).

El Laboratorio de Neurofisiología Comportamental de la Universidad Nacional de Colombia se ha enfocado en evaluar los cambios que se producen en las neuronas piramidales de la vM1 después de la axotomía del nervio facial. En tal sentido, se ha encontrado que estas neuronas corticales que se proyectan directamente sobre las motoneuronas lesionadas sufren una retracción del árbol dendrítico (19,20) y una disminución de las espinas dendríticas apicales y basales, después de la lesión irreversible del nervio facial (20). Más aún, se ha descrito que las propiedades electrofisiológicas de las neuronas de la vM1 cambian cuando se produce la lesión del nervio facial: hay una modificación en la frecuencia basal de disparo, en la probabilidad de disparo como reacción a estímulos sensoriales y en el ritmo de estas neuronas después de la lesión (21). En reportes previos a este trabajo se describe, además, que en la corteza motora hay activación de los astrocitos y un aumento de la expresión de la proteína conexina 43 después de la lesión del nervio facial (22), y una reorganización de los mapas corticales motores después de la axotomía (23).

Por otra parte, se sabe que, tras lesiones del sistema nervioso central, el árbol dendrítico de las neuronas sometidas a axotomía y de las 'denervadas' se remodela y se registra un aumento en la expresión de las quimiocinas, las cuales activan las células de la microglía residentes; se ha planteado que dicha activación es necesaria para que ocurra la remodelación neuronal después de una lesión (24,25). Es por esto que las células de la microglía se consideran los sensores más sensibles de alteraciones en el sistema nervioso central. En cerebros sanos, las células de la microglía residentes poseen largas y finas prolongaciones móviles con las cuales exploran y hacen el reconocimiento de su entorno (microglía en reposo o residente) (26). Ante una lesión central, un proceso inflamatorio o cualquier otro evento que perturbe la homeostasis cerebral, las células de la microglía se activan, es decir, sufren

Correspondencia:

Julietta Troncoso, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Ciudad Universitaria, Carrera 30 N° 45-02, Edificio 421, Oficina 225, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (571) 316 5000, extensión 11331
jtroncoso@unal.edu.co

Recibido: 03/03/16; aceptado: 05/05/16

un proceso de transformación que les confiere la capacidad de liberar una gran cantidad de sustancias que pueden actuar en beneficio o detrimento de las células a su alrededor. En este estado activo, las células de la microglía pueden proliferar y migrar hacia el sitio de la lesión, cumpliendo uno de sus principales roles: actuar como células capaces de fagocitar desechos celulares, así como de promover la secreción de sustancias que permiten la supervivencia neuronal (27).

Poco se sabe, sin embargo, sobre la activación de las células de la microglía en la corteza motora después de lesiones periféricas. Nuestro grupo de investigación publicó recientemente datos que sugieren que las células de la microglía proliferan en la corteza motora después de la lesión del nervio facial. Efectivamente, se ha registrado un aumento significativo de las células de la microglía cercanas a las neuronas piramidales de la vM1 después de la lesión irreversible del nervio facial en ratones transgénicos que expresaban proteína verde fluorescente en las células de la microglía (20). A pesar de este dato preliminar, no se conocía la dinámica de la proliferación de las células de la microglía y su posible activación como reacción a la lesión del nervio facial en ratas. Tampoco se conocían las posibles diferencias en el comportamiento de las células de la microglía en la corteza cerebral después de una lesión reversible del nervio facial, en comparación con las lesiones permanentes, es decir, irreversibles.

En este contexto, el objetivo del presente estudio fue conocer la dinámica de la activación de las células de la microglía que rodean las neuronas piramidales de proyección córtico-facial después de lesiones reversibles o irreversibles del nervio facial.

Materiales y métodos

Sujetos

Se utilizaron 40 machos adultos de ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar, de 290 ± 30 g de peso, provenientes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud en Bogotá. Los animales se mantuvieron en grupos de cuatro por caja en un salón con humedad (40 ± 5 %) y temperatura (20 ± 3 °C) controladas, sometidos a ciclos de 12 horas de luz y oscuridad (las luces se encendían a las 7:00 am). Los animales tuvieron acceso *ad libitum* a agua y comida, y permanecieron al menos cuatro días en el laboratorio antes de cualquier procedimiento experimental para que se habituaran a las nuevas condiciones de alojamiento.

Diseño experimental

Los animales se dividieron en cinco grandes grupos experimentales: de control absoluto ($n=4$), de control positivo ($n=2$), sometidos a falsa cirugía ($n=4$), con lesión reversible ($n=15$) y con lesión irreversible ($n=15$) del nervio facial. Los animales lesionados de forma reversible e irreversible se dividieron, a su vez, en cinco subgrupos de tres ejemplares cada uno según el día de sacrificio (1, 3, 7, 21 o 35 días después de la lesión). Los animales se asignaron al azar a cada uno de los 13 grupos experimentales. El esquema del diseño experimental se presenta en la figura 1A.

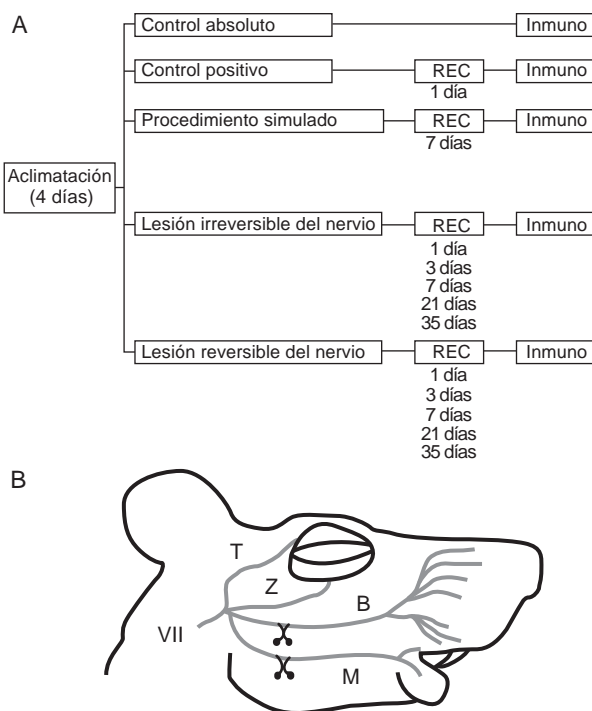


Figura 1. A. Esquema del diseño experimental. Control absoluto: animales sin ningún tipo de intervención quirúrgica; control positivo: animales con lesión cortical; falsa cirugía: animales sometidos a falso procedimiento de lesión del nervio facial; lesión irreversible: lesión por corte de las ramas bucal y mandibular del nervio facial; lesión reversible: lesión por compresión de las ramas bucal y mandibular del nervio facial. REC: tiempo de recuperación después de la intervención quirúrgica; inmuno: procesamiento del tejido cerebral para estudios de inmunohistoquímica con el anticuerpo Iba-1 para la detección de microglías. **B.** Lesión del nervio facial. En la lesión irreversible se corta y se retira aproximadamente 1 mm de las ramas mandibular y bucal del nervio facial. En la lesión reversible se comprimen las dos ramas con una pinza mosquito durante 30 segundos en una dirección y durante otros 30 segundos en posición perpendicular a la primera. VII: séptimo par craneal (nervio facial). T: rama temporal; Z: rama zigomática (en este experimento quedaron intactas).

Procedimiento experimental

Grupo de control absoluto (C): animales que no habían sido sometidos a ningún procedimiento quirúrgico antes del procesamiento de su tejido cerebral para los estudios inmunohistoquímicos.

Grupo de control positivo: animales sometidos a lesión cerebral para corroborar positivamente la activación de las células de la microglía. Los animales se colocaron en un marco estereotáxico bajo anestesia general con ketamina (100 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg) administradas por vía intraperitoneal y en condiciones asépticas. Después de afeitar la cabeza del animal, se expuso el cráneo mediante una incisión fronto-occipital para remover la piel. Se removió el periostio de una pequeña porción que comprendiera la corteza motora de las vibrisas del lado derecho (vM1, coordenadas en el eje antero-posterior (AP): +1,5; lateral (L): 0,5), y se procedió a perforar el cráneo con una broca de 1 mm de diámetro. Una vez en la superficie del cerebro, se deslizó perpendicularmente una aguja de 0,5 mm de calibre hasta una profundidad de 0,5 cm, aproximadamente. Por último, la piel se suturó con puntos discontinuos utilizando seda 4-0.

Grupo de animales sometidos a falsa cirugía: animales sometidos al procedimiento con falsa cirugía simulando lesión del nervio facial. Bajo anestesia general con ketamina (100 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg) administradas por vía intraperitoneal y en condiciones asépticas, se afeitó la región periauricular del lado derecho del animal colocado en decúbito lateral. A través de una incisión horizontal de 2 cm por encima del ángulo mandibular se disecaron las ramas bucal y mandibular del nervio facial manteniendo intacta su integridad. La incisión en la piel se suturó con puntos discontinuos utilizando seda 4-0.

Grupo de animales sometidos a cirugía de lesión reversible del nervio facial: animales con posibilidad de recuperación de la función motora. Bajo anestesia general con ketamina (100 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg) administradas por vía intraperitoneal y en condiciones asépticas, se afeitó la región periauricular del lado derecho del animal colocado en decúbito lateral. A través de una incisión horizontal de 2 cm por encima del ángulo mandibular, se disecaron las ramas bucal y mandibular del nervio facial, y se procedió a la lesión por compresión de cada una de las ramas (figura 1B). La lesión se hizo presionando cada rama mediante pinzas mosquito durante 30

segundos en una dirección y otros 30 segundos en dirección perpendicular a la primera compresión. La efectividad de la lesión se confirmó por estimulación eléctrica de las regiones proximales y distales de cada rama lesionada; se la consideró satisfactoria si el animal movía las vibrisas con la estimulación eléctrica distal, pero no con la estimulación eléctrica proximal de cada una de las ramas. Los bordes de piel se suturaron con puntos discontinuos utilizando seda 4-0.

Grupo de animales sometidos a cirugía de lesión irreversible del nervio facial: animales con parálisis facial permanente. Bajo anestesia general con ketamina (100 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg) administradas por vía intraperitoneal y en condiciones asépticas, se afeitó la región periauricular del lado derecho del animal colocado en decúbito lateral. A través de una incisión horizontal de 2 cm por encima del ángulo mandibular, se disecaron las ramas bucal y mandibular del nervio facial y se procedió a hacer un corte y retirar 1 mm de cada una de las ramas del nervio facial (figura 1B). La efectividad de la lesión se confirmó mediante estimulación eléctrica de las regiones proximales y distales de cada rama lesionada. La lesión se consideró satisfactoria si el animal movía las vibrisas con la estimulación eléctrica distal, pero no con la estimulación eléctrica proximal de cada una de las ramas. Los bordes de piel se suturaron con puntos discontinuos utilizando seda 4-0.

Evaluación de la actividad motora

Los movimientos de las vibrisas se monitorizaron diariamente mediante una cámara de video manual a partir del día siguiente del procedimiento quirúrgico, tanto en los animales sometidos a falsa cirugía como en aquellos lesionados reversible o irreversiblemente. Cada animal se filmó durante dos minutos diariamente mientras se le permitía explorar libremente con sus vibrisas algún objeto novedoso que el experimentador le presentaba. Esto se hizo hasta el séptimo día después de la lesión con los animales del grupo sometido al procedimiento simulado, momento en el que se sacrificaron para hacer los estudios de inmunohistoquímica. En el caso de los animales con lesión del nervio facial, su sacrificio se hizo en los días 1, 3, 7, 21 o 35 de la lesión.

Inmunohistoquímica

Perfusión. A cada animal se lo sometió a sedación profunda mediante la administración intraperitoneal de uretano en una dosis de 1,6 g/kg. Se abrió la cavidad torácica para exponer el corazón y se

insertó una cánula en el ventrículo izquierdo, con el fin de retirar por completo la sangre del animal mediante perfusión intracardiaca con 40 a 50 ml de solución salina al 0,9 %, y fijar el tejido cerebral con 80 a 100 ml de una solución de paraformaldehído al 4 % preparada en solución tampón PBS (*Phosphate-Buffered Saline*) 0,1 M (pH 7,4).

Corte con crióstato. Al finalizar la perfusión intracardiaca, el cerebro de cada animal se almacenó en la solución fijadora. Posteriormente, los cerebros se transfirieron a una solución de sacarosa al 30 % durante 72 horas aproximadamente, para su protección en frío. Finalizado este período, los cerebros se congelaron en isopentano en hielo seco (-70 °C) y se almacenaron en un congelador a -70 °C, hasta el momento de su sección. Se obtuvieron secciones coronales de 50 µm de grosor con un crióstato a una temperatura de -20 °C. De cada animal se recolectaron y almacenaron secciones elegidas para visualizar la corteza motora primaria (eje AP: +3,70 a -0,26) (27).

Anticuerpos anti-Iba-1

Para la detección de las células de la microglía se utilizó como marcador la proteína Iba1 (*Ionized calcium binding adaptor molecule 1*), la cual se expresa de forma específica en macrófagos y células de la microglía, y es regulada positivamente ante la activación de dichas células.

La inmunorreacción de la proteína Iba1 se detectó empleando el antisuero policlonal producido en conejo anti-Iba1 (Wako, Cat. #019-19741). La unión de antígeno y anticuerpo se reveló mediante la técnica de avidina, biotina, peroxidasa, con el kit ABC de Vectastain (Laboratorios Vector, USA, Ref. PK 6101). Para retirar el anticongelante las secciones de tejido se lavaron inicialmente dos veces durante diez minutos en solución tampón PBS 0,1 M (pH 7,4). Posteriormente, se bloqueó la peroxidasa endógena incubando los tejidos en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 1 % durante veinte minutos; se hicieron cuatro lavados adicionales con PBS 0,1 M antes de iniciar el bloqueo de los sitios de unión inespecíficos con suero fetal bovino (SFB al 10 %. ABM. Ref. TM999) y gelatina de piel de bovino (GPB al 10 %. Sigma-Aldrich. Ref. G6650-100G) durante una hora a temperatura ambiente y en agitación.

A continuación, las secciones se incubaron toda la noche con el anticuerpo primario (anti-Iba1, dilución 1:1000 en la solución de bloqueo) a temperatura ambiente y en agitación. Al finalizar la incubación con el anticuerpo primario, se hicieron cuatro

lavados de cinco minutos en PBS 0,1 M, y se inició la incubación con el anticuerpo secundario biotinilado anti-conejo producido en cabra (Laboratorios Vector, USA, Ref. PK 6101; 1:250, PB-Tritón, SFB al 3 %, GPB al 10 %), durante dos horas en agitación a temperatura ambiente. Después de cuatro lavados de cinco minutos en PBS 0,1 M, las secciones se incubaron con solución de avidina-biotina durante dos horas, se lavaron nuevamente con PBS 0,1 M, y se inició el proceso de revelado empleando una solución de 3,3'-diaminobenzidina (DAB al 0,05 %, Laboratorios Vector, USA, Ref. SK-4100); la reacción se detuvo retirando la solución de DAB y añadiendo PBS 0,1 M. Por último, las secciones de tejido se montaron en láminas histológicas para ser fotografiadas posteriormente.

Análisis de datos

El análisis de las células de la microglía se hizo sobre las láminas de histología con un microscopio de luz, según la guía del atlas de coordenadas estereotáxicas de Paxinos, *et al.* (28). Las células positivas para Iba-1 en la corteza vM1 se cuantificaron en las fotomicrografías tomadas con un aumento de 400X (10X ocular más 40X objetivo). El número de células se expresó por campo fotografiado de 280 x 230 µm. Para la estimación del área ocupada por las células de la microglía, las fotomicrografías se procesaron con el programa Image J, el cual permite calcular el área ocupada por las células de la microglía en contraste con el fondo.

Pruebas estadísticas

Los datos del análisis del conteo de las células de la microglía, así como del área total, se sometieron a pruebas estadísticas de ANOVA de una vía para establecer diferencias significativas entre los grupos. Se utilizó un valor crítico de significación de p<0,05. Para las comparaciones pareadas entre los grupos de control absoluto y de falsa cirugía, se utilizó la prueba t de Student, con un valor crítico de significación de p<0,05.

Consideraciones éticas

Todos los procedimientos experimentales, así como las condiciones de alojamiento y la disposición de los residuos biológicos y químicos, se ajustaron a la normativa dispuesta en la Ley 84 del 27 de diciembre de 1989. También se observaron los procedimientos para el manejo y cuidado de animales de laboratorio recomendados por la Unión Europea (8616091EU) y por los *National Institutes of Health (NIH Guide for the Use and Care of Laboratory Animals)* de los Estados Unidos.

Todos los experimentos se diseñaron y se efectuaron de tal manera que se ocasionara el menor sufrimiento posible a los animales, y en su diseño se garantizó la utilización de la menor cantidad de ejemplares.

Los experimentos recibieron la aprobación de los Comités de Ética de las Facultades de Ciencias (Acta 01 05/2011) y de Medicina (Acta 05/2011) de la Universidad Nacional de Colombia.

Resultados

Modificaciones de la actividad motora

Los movimientos de las vibrisas de los animales se filmaron durante cinco semanas mediante una sesión diaria, a partir del día después de la lesión de las ramas mandibular y bucal del nervio facial derecho. Se estableció que, una semana después de la lesión por compresión unilateral del nervio facial (lesión reversible), los animales recuperaron la tonicidad de los músculos intrínsecos de las vibrisas del lado lesionado; dos semanas después de la lesión, recuperaron la movilidad, aunque sus movimientos no eran sincrónicos con respecto al lado no lesionado, y cuatro semanas después, los animales recuperaron las características normales de batido de las vibrisas del lado lesionado (arco de movimiento, velocidad, sincronización), en comparación con el lado contralateral no lesionado (figura 2A).

Por otro lado, los animales sometidos a lesión por corte del nervio facial (lesión irreversible) no recuperaron nunca la función motora perdida, es decir, sufrieron una parálisis permanente de las vibrisas (por lo menos durante las cinco semanas registradas). Los animales con lesión irreversible mostraron, además, desviación de la nariz hacia el lado no lesionado, retracción de sus vibrisas inmóviles durante las dos primeras semanas después de la lesión y recuperación parcial de la tonicidad a partir de la tercera semana (figura 2B), tal como se había descrito en experimentos anteriores (19,20). Por último, los animales sometidos a falsa cirugía, al igual que los animales con lesión cerebral (grupo de control positivo), mostraron un batido de vibrisas indistinguible de aquellos no intervenidos del grupo de controles.

Corroboración de la activación de las células de la microglía

Se sabe que las células de la microglía se activan con diversos estímulos y que una microglía activada se distingue de una residente por su morfología y



Figura 2. Modificación de la función motora tras la lesión del nervio facial. **A.** Lesión reversible del nervio facial. Los animales con intervención simulada movían las vibrisas de manera rítmica y sincronizada, tal como los animales de control absoluto. Un día después de la lesión reversible de las ramas mandibular y bucal del nervio facial, los animales presentaban parálisis facial evidenciada por la ausencia de los movimientos característicos de las vibrisas. A los siete días de la lesión (7 días), los animales recuperaron la tonicidad muscular. A las dos semanas de la lesión (14 días), se detectaron movimientos de las vibrisas del lado lesionado aunque sin sincronización con respecto al lado contralateral. A las cinco semanas de la lesión (35 días), la recuperación funcional era completa. **B.** Lesión irreversible del nervio facial. Después del corte de las ramas mandibular y bucal del nervio facial, los animales no recobraron el movimiento, a pesar de haber recuperado la tonicidad a partir de la primera semana de la lesión.

capacidad antigénica. Una forma de asegurarse de que las células de la microglía residentes en el sistema nervioso central se activen consiste en provocar un daño directo en el tejido cerebral.

Tal como se esperaba, los tejidos de los animales con lesión cerebral (controles positivos) mostraron claros patrones de activación de las células de la microglía, con cambios morfológicos como reacción al daño cortical (figura 3A). Las células de la microglía se mostraron abundantes y con prolongaciones celulares gruesas y cortas (figura 3A, izquierda). En una fotografía con mayor ampliación, se pudo observar la morfología alterada de estas células de la microglía después de la lesión cerebral (figura 3A). También, se encontraron abundantes células redondeadas con inmunorreacción positiva frente a Iba-1 en el sitio de la lesión (figura 3A), células redondeadas que podrían ser monocitos infiltrados en el tejido desde el sistema circulatorio.

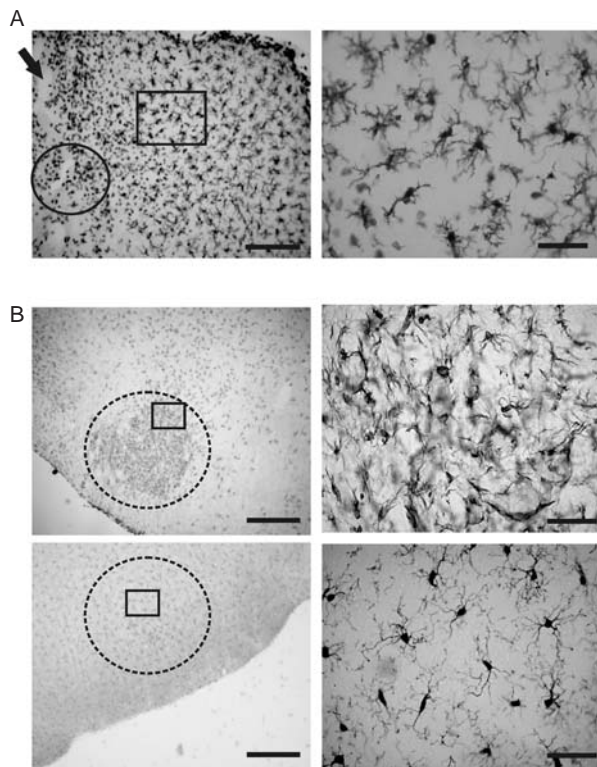


Figura 3. A. Inmunorreacción frente a Iba 1 en animales del grupo de control positivo (lesión cortical directa). Izquierda: fotografía representativa de la corteza motora primaria (vM1) en la que se aprecia la lesión cortical (flecha), la infiltración de monocitos en el tejido (círculo) y la activación de las microglías (rectángulo) producto de la lesión directa en el sistema nervioso central. Las fotografías se tomaron un día después de la lesión cortical. Barra de calibración: 200 μ m. Derecha: ampliación del recuadro de la fotografía de la izquierda. Barra de calibración: 50 μ m. **B.** Inmunorreacción frente a Iba 1 de los núcleos faciales de animales sometidos a lesión irreversible del nervio facial derecho. Arriba, izquierda: fotografía representativa del núcleo facial derecho en la que se observa una clara activación de las microglías en todo el núcleo del nervio facial (círculo punteado), es decir, en torno a los cuerpos celulares de las motoneuronas lesionadas; derecha: ampliación del recuadro de la fotografía de la izquierda. Abajo, izquierda: fotografía del núcleo del nervio facial izquierdo en el que se observan las microglías residentes sin activación; derecha: ampliación del recuadro de la fotografía de la izquierda. Barras de calibración, izquierda: 400 μ m; derecha: 50 μ m. Las fotografías se tomaron una semana después de la lesión del nervio facial derecho.

Modificación de las células de la microglía del núcleo del nervio facial tras la axotomía

La axotomía del nervio facial es un sistema experimental ampliamente utilizado para detectar la activación de las células de la microglía en el núcleo de dicho nervio (9). En este modelo experimental, los macrófagos no pueden invadir el núcleo del nervio facial desde el torrente sanguíneo ya que, tratándose de una lesión periférica, no hay

una ruptura de la barrera hematoencefálica. Para corroborar esto, se examinaron los cambios en la expresión de Iba-1 en el núcleo del nervio facial de los animales sometidos a lesiones irreversibles del nervio, una semana después de la intervención.

Como puede verse con poca ampliación en la figura 3B (fotografía con poca ampliación), hubo un incremento en la inmunorreacción frente a Iba-1 circunscrito al núcleo del nervio facial del lado lesionado. A medida que se utilizó un mayor aumento, se pudieron distinguir células muy teñidas, correspondientes a las células de la microglía activadas que rodean las motoneuronas cuyo axón había sido dañado (figura 3B). Se pudo observar, además, que la forma de estas células se había alterado y presentaban grandes somas y prolongaciones cortas y gruesas.

Expresión de Iba-1 en animales sin lesión del grupo de control

La inmunorreacción de la proteína Iba1 en la vM1 en los grupos de control absoluto y de intervención simulada, se presenta en fotografías representativas de animales de ambos grupos en la figura 4. Como se puede apreciar, tanto en los animales del

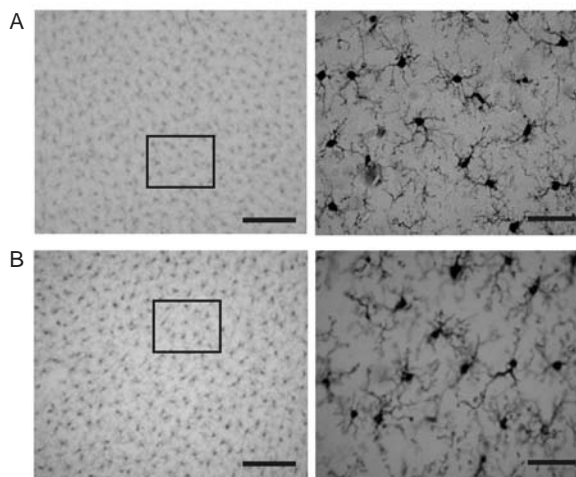


Figura 4. Inmunorreacción frente a Iba 1 en la corteza motora primaria de las vibrisas (vM1) de los animales de control. **A.** Control absoluto (sin intervención quirúrgica). Izquierda: la fotografía representativa de la vM1 muestra microglías con largas prolongaciones y somas pequeños, correspondientes al fenotipo de microglía residente sin activación; derecha: ampliación de la fotografía de la izquierda. **B.** Falsa cirugía. Izquierda: al igual que el grupo de control absoluto, las microglías en la vM1 presentan una morfología característica de células residentes sin activación; derecha: ampliación de la fotografía de la izquierda. Las fotografías se tomaron una semana después de la falsa cirugía. Nótese que no hay diferencia entre las microglías de ninguno de los grupos. Barra de calibración para A y B: izquierda: 200 μ m, derecha: 50 μ m.

grupo de control absoluto como en los sometidos a falsa cirugía, las células de la microglía presentaban una morfología similar, típica de su estado de reposo (residente), caracterizado por un cuerpo celular pequeño acompañado de prolongaciones largas y ramificadas. Tampoco se presentaron diferencias entre los grupos en cuanto al patrón de distribución celular ni en el número de células por campo ($t_{(6)}=1,16$; $p=0,29$), o en el área ocupada por las mismas ($t_{(6)}=0,89$; $p=0,41$).

Activación de las células de la microglía en la corteza motora primaria de las vibrisas después de la lesión irreversible del nervio facial

En la figura 5A se puede apreciar una secuencia fotográfica del patrón de activación de las células de la microglía en la corteza motora primaria de las vibrisas, después de la lesión irreversible del nervio facial en animales sacrificados en distintos momentos después de la intervención. En general, la determinación del estado de activación de las células de la microglía se basa en sus características morfológicas; en estado activo, estas células presentan, no solo proliferación, sino también alteraciones morfológicas caracterizadas principalmente por el engrosamiento y la retracción de sus ramificaciones, así como por cuerpos celulares agrandados. Este patrón es semejante al encontrado en el presente estudio tras la lesión cortical (figura 3).

La activación de las células de la microglía en la vM1 se inició de forma rápida tras la lesión del nervio facial, y fue evidente desde el día siguiente de producirse, con un pico máximo a los tres días de la lesión, punto en el cual las células presentaban una morfología con prolongaciones más gruesas en comparación con las registradas en cualquiera de los otros intervalos de tiempo analizados (figura 5B). La activación de las células de la microglía se redujo, aunque continuó siendo evidente, una semana después de la lesión. Tres semanas después de esta, las células de la microglía recuperaron su morfología en estado basal o de reposo, y se evidenciaron características morfológicas y patrones de distribución similares a los observados en la corteza motora de los animales sometidos a falsa cirugía; estas características se seguían observando cinco semanas después de la lesión. Vale la pena destacar que la reducción en la activación de las células de la microglía tres y cinco semanas después de la lesión ocurrió sin que se recuperara el movimiento de las vibrisas del lado lesionado, pues la parálisis era irreversible.

Cuantificación de las modificaciones de las células de la microglía en la corteza motora primaria de las vibrisas después de la lesión irreversible

El análisis de varianza reveló diferencias significativas entre los grupos en la densidad de células de la microglía contabilizadas en la vM1 ($F_{(5, 17)}=62,94$; $p<0,001$). Específicamente, las comparaciones mediante el método de Holm-Sidak mostraron un incremento significativo en la densidad de las células de la microglía en los grupos de animales sacrificados a los tres y los siete días de la lesión ($p<0,001$), en comparación con el grupo sometido a falsa cirugía. Por otra parte, en los grupos de animales sacrificados a los 21 y a los 35 días de la lesión, este aumento se revirtió, ya que no se presentaron diferencias significativas en la densidad de las células de la microglía con respecto al grupo sometido a falsa cirugía (figura 5C).

De igual forma, el análisis de varianza para comparar el área ocupada por las células de la microglía en las vM1, empleada como un indicador de activación después de la lesión, mostró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(5, 17)}=11,54$; $p<0,001$). Específicamente, las comparaciones mostraron que a los tres días de la lesión hubo un aumento significativo de las células de la microglía activadas en la vM1, en comparación con el grupo de falsa cirugía (figura 5C).

Activación de las células de la microglía en la corteza motora primaria de las vibrisas después de la lesión reversible del nervio facial

En la figura 6A se muestra la secuencia fotográfica correspondiente al patrón de activación de las células de la microglía en la vM1 en animales sacrificados en distintos momentos después de la compresión de las ramas bucal y mandibular del nervio facial derecho. El análisis de las fotografías del procedimiento de inmunohistoquímica reveló que hubo proliferación de las células de la microglía en la vM1 tras la lesión reversible del nervio facial. Se observaron alteraciones morfológicas caracterizadas principalmente por engrosamiento y retracción de sus ramificaciones, así como un aumento en la cantidad de células por campo, tal como ocurrió en el caso de la lesión irreversible. Sin embargo, con la lesión reversible estos cambios fueron menos notorios y más transitorios.

Como se muestra en la figura 6A, la activación de las células de la microglía en la vM1 se inició rápidamente tras la lesión reversible del nervio facial, y se hizo más evidente a los tres días de la

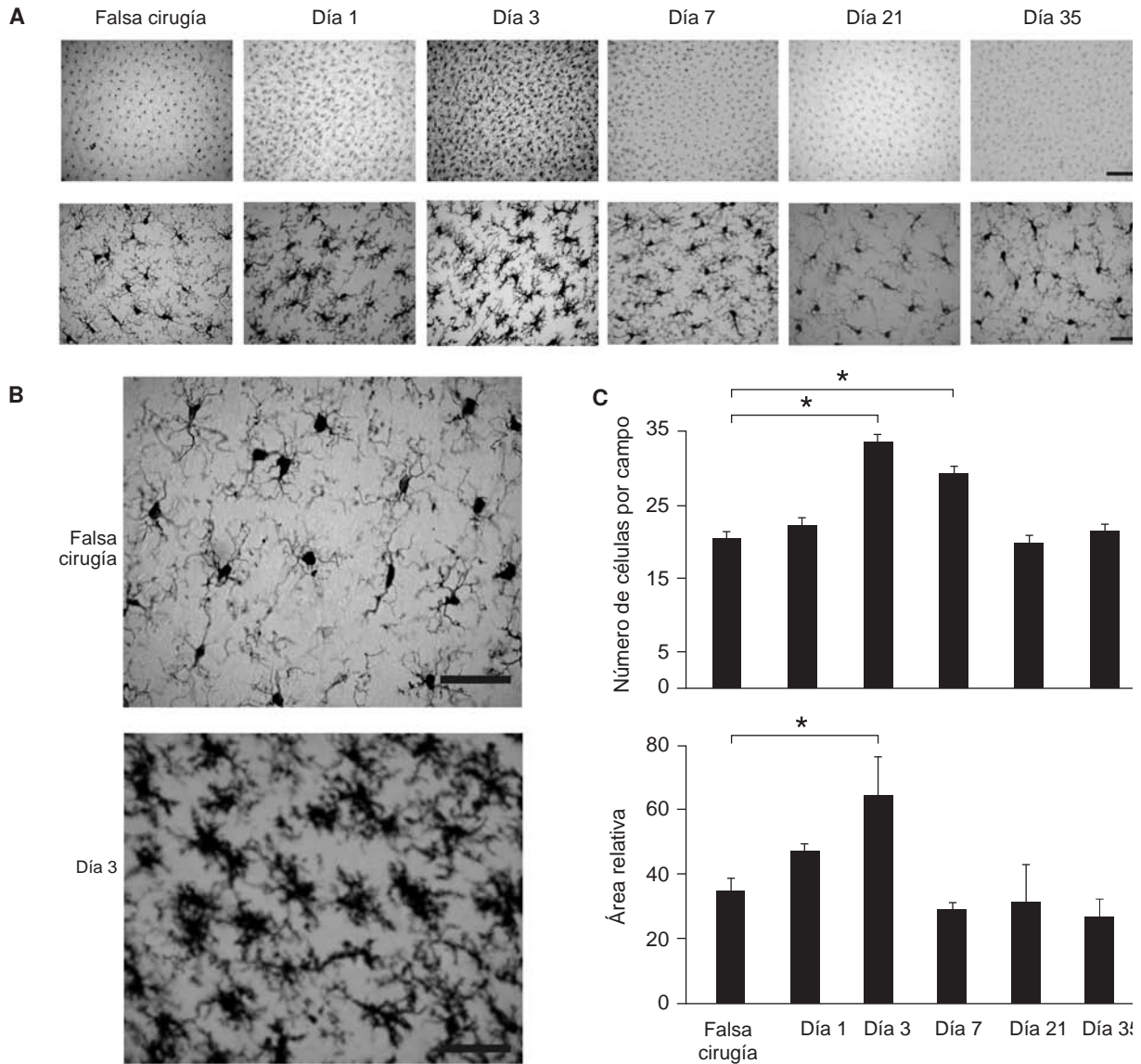


Figura 5. A. Evolución de los cambios en las microglías en la corteza motora primaria de las vibrisas (vM1) después de la lesión unilateral irreversible del nervio facial. Se muestran fotografías representativas de la evolución de los cambios en las microglías resultado de los cortes coronales de la vM1 en los animales sacrificados en distintos momentos después de la lesión irreversible del nervio facial, comparados con el grupo de control sometido a la intervención simulada: animales sacrificados 1, 3, 7, 21 y 35 días después de la lesión irreversible del nervio facial derecho. Barras de calibración, arriba: 200 μm; abajo: 50 μm. **B.** Expresión de las microglías a los tres días de la lesión. Se muestra una ampliación de fotografías correspondientes a los grupos de falsa cirugía a los tres días de la lesión, en la cual pueden apreciarse mejor los cambios morfológicos y la proliferación de microglías asociada a la lesión irreversible a los tres días de la lesión comparados con el grupo de falsa cirugía. **C.** Cuantificación de las modificaciones en las microglías en la corteza motora primaria de las vibrisas (vM1). Arriba: número de microglías en cortes de vM1 de animales sometidos a lesión del nervio facial comparados con los sometidos a falsa cirugía; abajo: área relativa ocupada por las microglías en cortes de vM1 de animales sometidos a lesión del nervio facial comparados con los sometidos a falsa cirugía. *: p<0,01

lesión. Al igual que con la lesión irreversible, a los tres días de la lesión reversible las células de la microglía exhibían prolongaciones más gruesas en comparación con las observados en cualquiera de los otros intervalos de tiempo analizados (figura 6B). A los tres días de la lesión reversible, la activación

de las células de la microglía se redujo. A partir de los siete días de la lesión retornaron al grado basal de activación, y se evidenciaron características morfológicas y patrones de distribución similares a los observados en la corteza motora de los animales sometidos a falsa cirugía.

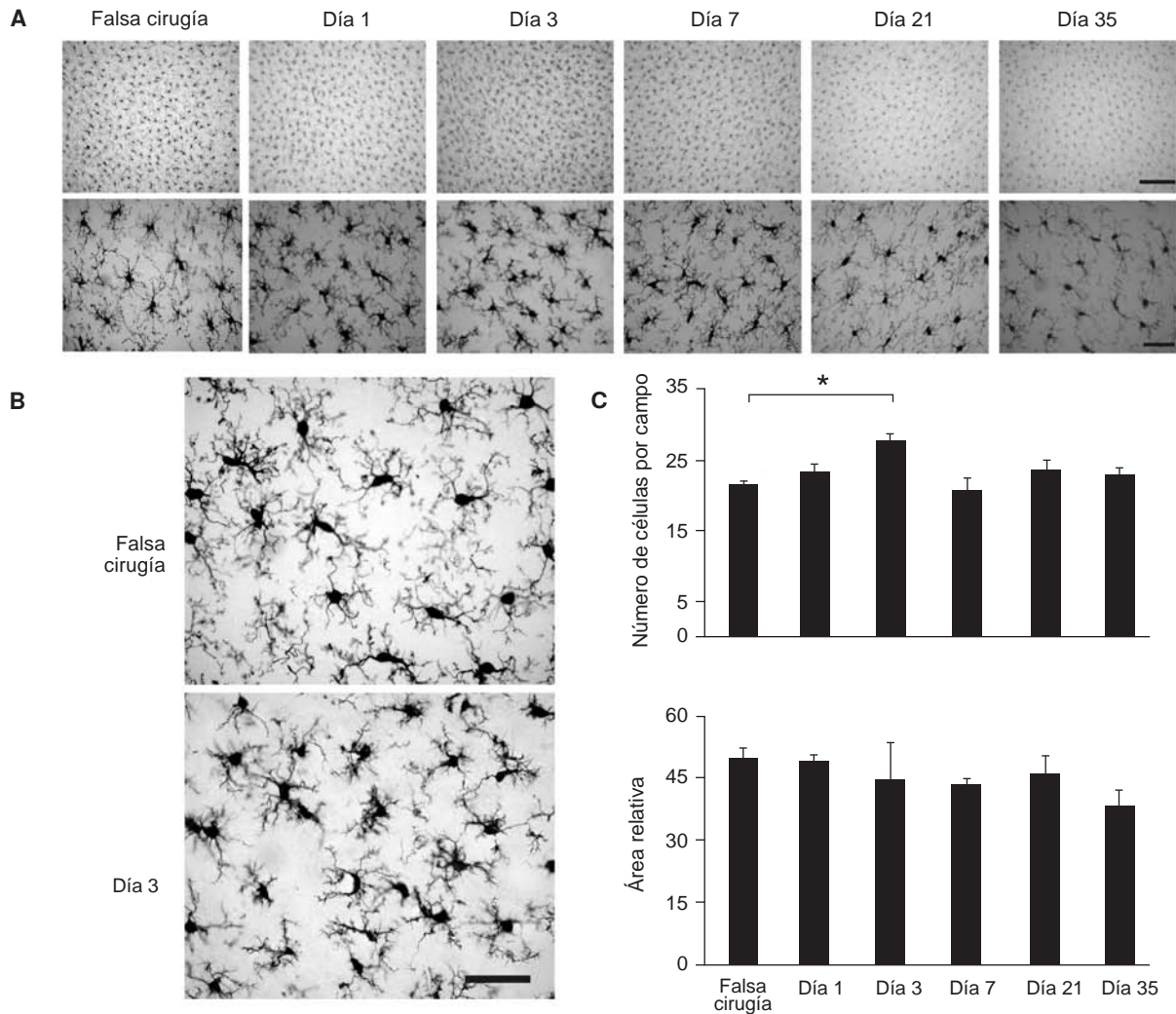


Figura 6. A. Evolución de los cambios de las microglías en la corteza motora primaria de las vibrisas (vM1) después de la lesión unilateral reversible del nervio facial. Se muestran fotografías representativas de la evolución de los cambios en las microglías de animales sacrificados en diferentes momentos después de la lesión comparados con los del grupo de falsa cirugía en cortes coronales de la vM1: animales sacrificados 1, 3, 7, 21 y 35 días después de la lesión. Barras de calibración: arriba: 200 μ m; abajo: 50 μ m. **B.** Expresión de las microglías tres días después de la lesión. Se muestra una ampliación de fotografías correspondientes a los grupos sometidos a falsa cirugía y los sacrificados al tercer día, en la cual puede apreciarse mejor la proliferación de microglías asociada a la lesión reversible a los tres días de la lesión en el grupo sometido a intervención simulada. **C.** Cuantificación de las modificaciones en las microglías en la vM1. Arriba: número de microglías en cortes de la vM1 de animales sometidos a lesión del nervio facial comparados con los sometidos a falsa cirugía; abajo: área relativa ocupada por las microglías en cortes de la vM1 de animales sometidos a lesión del nervio facial comparados con los sometidos a falsa cirugía. *: $p < 0,01$

En este caso, la reducción de la activación de las células de la microglía precedió la recuperación funcional: si bien los animales comenzaron a mover nuevamente las vibrisas a partir de la segunda semana de la lesión (dado que se trataba de una lesión reversible con recuperación de la función, figura 2), las células de la microglía volvieron a su estado de reposo a partir de los siete días de la lesión, es decir, cuando la recuperación de la función aún no se había evidenciado.

Cuantificación de las modificaciones de las células de la microglía en la corteza motora primaria de las vibrisas después de la lesión reversible

El análisis de varianza reveló diferencias significativas entre los grupos en la densidad de células de la microglía contabilizadas en la vM1 ($F_{(5,17)}=30,5$; $p < 0,001$). Específicamente, las comparaciones con el método de Holm-Sidak mostraron un incremento significativo en la densidad de las células de la

microglía en los grupos de animales sacrificados a los tres días de la lesión ($p < 0,001$), comparados con el grupo de control sometido a falsa cirugía. Por otra parte, en los grupos de animales sacrificados a los 7, 21 y 35 días de la lesión, dicho aumento se revirtió, ya que no se presentaron diferencias significativas en la densidad de las células de la microglía comparada con la del grupo de falsa cirugía (figura 6C).

Por el contrario, el análisis de varianza para comparar el área ocupada por las células de la microglía (indicador de activación) en la vM1 después de la lesión reversible, no mostró diferencias significativas entre los grupos ($F_{(5,17)} = 50,2$; $p = 0,6$) (figura 6C).

Discusión

Una de las estructuras de máximo interés para nuestro grupo de investigación es la corteza motora primaria y, además, los cambios que se producen en ella después de una lesión del nervio facial. En el 2005, Ginevich, *et al.*, demostraron (7) que en los roedores existe una conexión monosináptica directa entre la corteza motora primaria y el núcleo del nervio facial (proyección córtico-facial motora o vM1) (7). De este modo, y sabiendo que las motoneuronas lesionadas se modifican estructural y funcionalmente después de daños en sus axones (9), cabe esperar que también ocurran modificaciones en las células que se proyectan sobre ellas. De hecho, se han descrito modificaciones de los mapas corticales motores (23), y cambios morfológicos (19,20) y electrofisiológicos (21) en las células piramidales de la vM1 asociados a una lesión del nervio facial. En el presente estudio, el propósito de la investigación fue evaluar los cambios en las células de las células de la microglía que circundan las neuronas piramidales de la vM1 después de una lesión del nervio facial.

Los resultados obtenidos evidenciaron que en los primeros días después de la lesión del nervio facial, se produjo una reacción controlada en la vM1 consistente en la proliferación y la alteración morfológica de las células de la microglía. Estos cambios parecen preceder las alteraciones ya descritas en las neuronas de la corteza motora primaria, por lo que es necesario estudiar si existe alguna relación entre ambos fenómenos y, de haberla, determinar los mecanismos involucrados.

Resulta relevante que el patrón observado de alteración de las células de la microglía varió considerablemente entre los animales sometidos a

lesión irreversible del nervio facial y los sometidos a lesión reversible. En general, la proliferación de las microglías tras la lesión irreversible fue más marcada y duradera que en el caso de la lesión por compresión del nervio facial. De igual manera, al usar como indicador de actividad el área ocupada por las microglías tras la lesión, se puede inferir que la activación de aquellas que circundan las células piramidales en la vM1 ocurre, significativamente, cuando la lesión del nervio facial es más grave, es decir, cuando hay corte del nervio y no hay posibilidad de recuperación de la función motora.

Se ha establecido que una de las características fundamentales de las microglías es su rápida activación como reacción a cambios patológicos en el sistema nervioso central, tales como inflamación, isquemia, trauma, tumores o procesos neurodegenerativos (27). En este trabajo se corroboró este hecho tanto en los animales con lesiones corticales directas (grupo de control positivo), como en aquellos con lesiones irreversibles del nervio facial. En estos casos, las microglías actuarían como células fagocíticas, promoviendo la remoción de desechos, y como promotoras de la reparación neuronal (29). De hecho, se ha establecido claramente que una herida penetrante en el sistema nervioso central, que cause un daño directo en los vasos sanguíneos con ruptura de la barrera hematoencefálica y destrucción neuronal aguda, produce la diferenciación de las microglías en un fenotipo activado que expresa moléculas antigénicas de superficie, y que libera factores de crecimiento que facilitarían la supervivencia y la regeneración axonal (30).

Probablemente, esto fue lo que sucedió en los animales del grupo de control positivo en este estudio. Se ha demostrado, asimismo, que ante lesiones del nervio facial, las microglías sufren modificaciones morfológicas y, además, proliferan y migran al entorno de los cuerpos de las motoneuronas cuyos axones han sido sometidos a corte (29), lo cual se observó en este trabajo. Sin embargo, lo que cabe preguntarse es por qué las microglías también proliferan y se activan en la corteza motora ante un daño en el sistema nervioso periférico (nervio facial), en el que la barrera hematoencefálica queda intacta.

Las microglías en estado de reposo mantienen una vigilancia dinámica sobre las sinapsis de las neuronas circundantes, generando interacciones debidas al movimiento de sus prolongaciones

largas y finas. Se ha observado que estas interacciones estructurales dependen de la actividad sináptica de la neurona (31). De esta manera, los cambios en las microglías asociados a una lesión del nervio facial podrían corresponder a modificaciones sinápticas de la corteza motora tras la lesión, lo cual es coherente con los cambios en la actividad electrofisiológica de las células piramidales de la vM1 que se proyectan sobre las motoneuronas lesionadas, tal como se describió recientemente en otro trabajo de nuestro grupo de investigación (19). Estas modificaciones sinápticas se producirían porque la lesión del nervio facial provoca una parálisis de las vibrisas que altera la llegada de información sensorial al sistema nervioso central: al no poder mover activamente sus vibrisas, los animales reciben la información sensorial a través de sus bigotes solo de forma pasiva. Esto, a su vez, modificaría las sinapsis córtico-corticales entre los sistemas sensorial y motor. Es probable, entonces, que las microglías detecten esos cambios, y reaccionen proliferando y activándose transitoriamente ante la retirada de entradas sinápticas sensoriales a la corteza motora, especialmente cuando la lesión del nervio facial es irreversible.

Por otra parte, también se pudo establecer que las células piramidales de la vM1 sufren modificaciones morfológicas tras la lesión del nervio facial, incluidas la retracción de su árbol dendrítico y la poda espinal (20,21). Estas modificaciones también podrían relacionarse con la presencia de microglías activadas muy tempranamente en la corteza motora tras la lesión. De hecho, se sabe que es necesario el reclutamiento y la proliferación de las microglías para que se produzcan alteraciones dendríticas neuronales después de una lesión (24).

La versatilidad que presentan las microglías para detectar los cambios resultantes de lesiones periféricas o centrales, del compromiso inmunológico o de situaciones de estrés, se debe, en gran parte, a la expresión de una variada gama de receptores para distintas sustancias. Por ejemplo, en cultivos celulares de microglías se ha reportado la expresión de receptores adrenérgicos, receptores de glutamato (ionotrópicos y metabotrópicos), receptores GABA, receptores de dopamina, receptores de bradicinina y cierto tipos de receptores purinérgicos, así como receptores para una gran cantidad de citocinas (27). Hace falta establecer, entonces, si las células piramidales de vM1 realmente reclutan a las microglías mediante algún tipo de señal soluble que actúa

sobre receptores en este tipo de células y promueve su reclutamiento, proliferación y activación después de una lesión. Es interesante destacar que estas posibles señales parecen ejercer un efecto mayor cuanto más grave sea la lesión del nervio facial (lesión irreversible), en comparación con las lesiones transitorias reversibles, casos en los que solo se pudo apreciar un aumento transitorio de la proliferación de microglías, pero no su activación.

Es importante continuar explorando las posibles implicaciones funcionales de las diferencias en los patrones de activación de las microglías observados en este estudio. El propósito en trabajos futuros es explorar las funciones específicas de las microglías en el sistema nervioso central tras una lesión del nervio facial y la forma en que dichas funciones pueden variar dependiendo de si el daño en el nervio es o no es reversible.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no tienen conflictos de intereses con relación a la publicación de este artículo.

Financiación

Este trabajo contó con el apoyo financiero de la Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología, FPIT-450 (Código de Proyecto: 3380).

Referencias

1. **Brecht M, Preilowsky B, Merzenich M.** Functional architecture of the mystacial vibrissae. *Behav Brain Res.* 1997;84: 81-97. [http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328\(97\)83328-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-4328(97)83328-1)
2. **Carvell G, Simmons D.** Biometric analyses of vibrissae tactile discrimination in the rat. *J Neurosci.* 1990;10:2638-48.
3. **Mehta SB, Kleinfeld D.** Frisking the whiskers: Patterned sensory input in the rat vibrissa system. *Neuron.* 2004;41: 181-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273\(04\)00002-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0896-6273(04)00002-9)
4. **Carvell GE, Simons DJ, Lichtenstein SH, Bryant P.** Electromyographic activity of mystacial pad musculature during whisking behavior in the rat. *Somatosens Mot Res.* 1991;8:159-64.
5. **Berg RW, Kleinfeld D.** Vibrissa movement elicited by rhythmic electrical microstimulation to motor cortex in the aroused rat mimics exploratory whisking. *J Neurophysiol.* 2003;90:2950-63. <http://dx.doi.org/10.1152/jn.00511.2003>
6. **Hattox AM, Priest CA, Keller A.** Functional circuitry involved in the regulation of whisker movements. *J Comp Neurol.* 2002;442:266-76. <http://dx.doi.org/10.1002/cne.10089>
7. **Grinevich V, Brecht M, Osten P.** Monosynaptic pathway from rat vibrissa motor cortex to facial motor neurons revealed by lentivirus-based axonal tracing. *J. Neurosci.* 2005;25:8250-8. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2235-05.2005>

8. **Izraeli R, Porter LL.** Vibrissal motor cortex in the rat: Connections with the barrel field. *Exp Brain Res.* 1995;104: 41-54. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00229854>
9. **Moran LB, Graeber MB.** The facial nerve axotomy model. *Brain Res Brain Res Rev.* 2004;44:154-78. <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainresrev.2003.11.004>
10. **Brännström T, Kellerth JO.** Recovery of synapses in axotomized adult cat spinal motoneurons after reinnervation into muscle. *Exp Brain Res.* 1999;125:19-27. <http://dx.doi.org/10.1007/s002210050653>
11. **Peyghambari F, Valojerdi MR, Tiraihi T.** A morphometric study on the early stages of dendrite changes in the axotomized motoneuron of the spinal cord in newborn rats. *Neurol Res.* 2005;27:586-90. <http://dx.doi.org/10.1179/016164105X48743>
12. **Gustafsson B.** Changes in motoneurone electrical properties following axotomy. *J Physiol.* 1979;293:197-215. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp012885>
13. **Laiwand R, Werman R, Yarom Y.** Electrophysiology of degenerating neurones in the vagal motor nucleus of the guinea-pig following axotomy. *J Physiol.* 1988;404:749-66. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.1988.sp017317>
14. **Mentis GZ, Díaz E, Morán LB, Navarrete R.** Early alterations in the electrophysiological properties of rat spinal motoneurons following neonatal axotomy. *J Physiol.* 2007;582:1141-61. <http://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2007.133488>
15. **Yan Q, Matheson C, López OT, Miller JA.** The biological responses of axotomized adult motoneurons to brain-derived neurotrophic factor. *J Neurosci.* 1994;14:5281-91.
16. **Kobayashi NR, Bedard AM, Hincke MT, Tetzlaff W.** Increased expression of BDNF and trkB mRNA in rat facial motoneurons after axotomy. *Eur J Neurosci.* 1996;8:1018-29. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.1996.tb01588>
17. **Haas CA, Donath C, Kreutzberg GW.** Differential expression of immediate early genes after transection of the facial nerve. *Neurosci.* 1993;53:91-9. [http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522\(93\)90287-P](http://dx.doi.org/10.1016/0306-4522(93)90287-P)
18. **Schmitt AB, Breuer S, Liman J, Buss A, Schlangen C, Pech K, et al.** Identification of regeneration-associated genes after central and peripheral nerve injury in the adult rat. *BMC Neurosci.* 2003;4:8-20. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2202-4-8>
19. **Urrego D, Múnera A, Troncoso J.** Retracción a largo plazo del árbol dendrítico de neuronas piramidales córtico-faciales por lesiones periféricas del nervio facial. *Biomédica.* 2011;31:560-9. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v31i4.440>
20. **Urrego D, Troncoso J, Múnera A.** Layer 5 pyramidal neurons' dendritic remodeling and increased microglial density in primary motor cortex in a murine model of facial paralysis. *Biomed Res Int.* 2015;2015:482023. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/482023>
21. **Múnera A, Cuestas DM, Troncoso J.** Peripheral facial nerve lesions induce changes in the firing properties of primary motor cortex layer 5 pyramidal cells. *Neuroscience.* 2012;223:140-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.07.063>
22. **Laskawi R, Rohlmann A, Landgrebe M, Wolff JR.** Rapid astroglial reactions in the motor cortex of adult rats following peripheral facial nerve lesions. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1997;254:81-5. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01526185>
23. **Franchi G.** Time course of motor cortex reorganization following botulinum toxin injection into the vibrissal pad of the adult rat. *Eur J Neurosci.* 2002;16:1333-48. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02195.x>
24. **Rappert A, Bechmann I, Pivneva T, Mahlo J, Biber K, Nolte C, et al.** CXCR3-dependent microglial recruitment is essential for dendrite loss after brain lesion. *J Neurosci.* 2004;24:8500-9. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2451-04.2004>
25. **Shokouhi BN, Wong BZ, Siddiqui S, Lieberman AR, Campbell G, Tohyama K, et al.** Microglial responses around intrinsic CNS neurons are correlated with axonal regeneration. *BMC Neurosci.* 2010;11:13. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2202-11-13>
26. **Luo XG, Chen SD.** The changing phenotype of microglia from homeostasis to disease. *Transl Neurodegener.* 2012;1:9. <http://dx.doi.org/10.1186/2047-9158-1-9>
27. **Kettenmann H, Hanisch UK, Noda M, Verkhratsky A.** Physiology of microglia. *Physiol Rev.* 2011;91:461-553. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00011.2010>
28. **Paxinos G, Watson C.** The rat brain in stereotaxic coordinates. 6th edition. London, UK: Academic Press; 2007.
29. **Raposo C, Schwartz M.** Glial scar and immune cell involvement in tissue remodeling and repair following acute CNS injuries. *Glia.* 2014;62:1895-904. <http://dx.doi.org/10.1002/glia.22676>
30. **Streit WJ, Graeber MB, Kreutzberg GW.** Functional plasticity of microglia: A review. *Glia.* 1988;1:301-7. <http://dx.doi.org/10.1002/glia.440010502>
31. **Wake H, Moorhouse AJ, Jinno S, Kohsaka S, Nabekura J.** Resting microglia directly monitor the functional state of synapses *in vivo* and determine the fate of ischemic terminals. *J Neurosci.* 2009;29:3974-80. <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4363-08.2009>

REVISIÓN DE TEMA

Urticaria papular y sus agentes causales en Colombia

Ana Milena Lozano¹, Juan Felipe López¹, Josefina Zakzuk¹, Elizabeth García^{2,3}

¹ Instituto de Investigaciones Inmunológicas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

² Sección de Alergología, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

³ Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

La urticaria papular es una enfermedad alérgica causada por la picadura de insectos, la cual predomina en el trópico. El objetivo de esta revisión fue profundizar en sus aspectos epidemiológicos e inmunológicos, particularmente con base en datos publicados en Latinoamérica.

Se hizo una revisión no sistemática mediante la búsqueda electrónica de artículos sobre la epidemiología de la urticaria papular, las características entomológicas de los agentes causales y los mecanismos inmunológicos asociados.

Según los diversos reportes de centros médicos de Latinoamérica la urticaria papular es frecuente; el único estudio de prevalencia publicado indica que afecta a una cuarta parte de los niños escolares de Bogotá. Hay información sobre la relación causal entre la exposición domiciliar a la pulga, la pobreza y la urticaria papular en Bogotá, una ciudad representativa de las altitudes andinas. No hay estudios que indaguen directamente sobre los insectos causales en zonas cálidas, aunque se sospecha clínicamente de los mosquitos *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus*. En cuanto a su patogenia, se destaca la participación de mecanismos celulares que involucran las células colaboradoras Th2, lo cual explica que sea una condición de hipersensibilidad retardada. El papel de la inmunoglobulina E (IgE) en la urticaria papular no está tan claro. Se desconocen los antígenos derivados de los insectos que causan la enfermedad, aunque se plantea que existen moléculas comunes de reacción cruzada entre los insectos, tales como el alérgeno Cte f 2 en la pulga, y sus homólogos en los mosquitos.

La urticaria papular es una condición frecuente en Latinoamérica que debe investigarse en profundidad. La caracterización inmunológica de los componentes moleculares que causan esta condición puede resolver interrogantes sobre su etiología y su patogenia.

Palabras clave: urticaria; insectos; *Aedes*; *Culex*; *Ctenocephalides*; hipersensibilidad.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3258>

Papular urticaria: A review of causal agents in Colombia

Papular urticaria is a chronic allergic reaction induced by insect bites, which is common in the tropics. The objective of this review was to deepen on epidemiological and immunological aspects of this disease, focused on data published in Latin American countries.

We conducted a non-systematic review of the literature through electronic search on the epidemiology of papular urticaria, the entomological characteristics of the causative agents and associated immunological mechanisms.

Several reports from medical centers suggest that papular urticaria is common in Latin America. Only one epidemiological survey designed to estimate prevalence of papular urticaria has been published, reporting that about a quarter of children under six years of age is affected by this condition in Bogotá. There is evidence on the causal relationship among exposure to indoor fleas, poverty and papular urticaria in Bogotá, a representative city of the Andean altitudes. Information about causal insects in tropical warmer areas is scarce, although from clinical reports *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* appear to be the most common. Th2 cellular-mediated mechanisms are involved in its pathogenesis, which explains its delayed hypersensitivity. The role of immunoglobulin E is not clear in this disease. Insect-derived antigens directly involved in papular urticaria etiology are unknown. However, it is possible that common molecules among causal insects mediate cross-reactive reactions, such as Cte f 2 allergen, found in cat fleas, and its counterparts in mosquitoes.

Papular urticaria is a frequent disease in Latin America that should be further investigated. Immunological characterization of the molecular components that cause this condition may solve questions about its pathogenesis.

Key words: Urticaria; insects; *Aedes*; *Culex*; *Ctenocephalides*; hypersensitivity.

doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3258>

Contribución de los autores:

Elizabeth García: hipótesis central del trabajo

Josefina Zakzuk, Ana Milena Lozano y Juan Felipe López: análisis bioinformático y datos experimentales inéditos

Todos los autores contribuyeron en igual medida a la redacción del manuscrito.

El interés por los efectos de la picadura de insectos en la salud humana se centra en la transmisión de enfermedades infecciosas como el chikungunya y el dengue. No obstante, hay otras condiciones médicas de hipersensibilidad a sus antígenos que son frecuentes, sobre todo en los países tropicales. La urticaria papular, también llamada prurigo estrófulo, es una de las enfermedades dermatológicas más comunes en los niños. Aunque se describió ya hace dos siglos, su relación con la picadura de insectos no siempre fue evidente. En los años 50, Shaffer, *et al.*, fueron los primeros en describir en sus estudios científicos la relación causal entre la enfermedad y la exposición al agente (1,2).

La urticaria papular se relaciona claramente con factores geográficos y climáticos, pues depende de la exposición a ciertos agentes causales y, en algunas ocasiones, a condiciones socioeconómicas asociadas con la pobreza (3,4). En el caso de Colombia, en las regiones de clima frío predominan las especies de pulga causantes de la enfermedad (García E, Halpert E. Inmunopatogénesis del prurigo estrófulo causado por la picadura de pulga en humanos. Informe Técnico Final. 1998. Código 6221-04-030-93) (5), en tanto que en las zonas más cálidas, se asume que las especies de mosquito, tan comunes en el clima tropical y en ambientes tanto urbanos como rurales, son las transmisoras, aunque no hay publicaciones sobre las características de la enfermedad ni sobre su importancia epidemiológica. En estas regiones del país, el contacto de la población con los insectos vectores se evidencia en las epidemias de infecciones como el dengue, el chikungunya y el zika (6). Sin embargo, no se puede descartar que la urticaria papular sea causada por otros agentes, como los chinches.

El objetivo de la presente revisión fue profundizar en los aspectos epidemiológicos e inmunológicos de la urticaria papular, principalmente en los países de Latinoamérica. Se hizo una revisión no sistemática mediante la búsqueda electrónica en PubMed, OvidSP, Scielo y Google académico de estudios sobre la epidemiología de la enfermedad,

Correspondencia:

Elizabeth García, Sección de Alergología, Fundación Santa Fe de Bogotá, Avenida 9 N° 116-20, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (571) 215 2852
eligarcia.gomez@gmail.com

Recibido: 02/03/16; aceptado: 02/05/16

las características entomológicas de los agentes causales y los mecanismos inmunológicos asociados, sin fijar límites de fecha, idioma o tipo de artículo.

Espectro clínico de las reacciones causadas por picaduras de mosquitos y pulgas

Las manifestaciones de hipersensibilidad causadas por la picadura de insectos, principalmente mosquitos, incluyen un amplio espectro de condiciones que van desde reacciones inflamatorias locales de tipo inmediato hasta las sistémicas, como la anafilaxia. En la figura 1 se presenta una propuesta de clasificación de condiciones clínicas asociadas a la hipersensibilidad a la picadura de insectos que deben tenerse en cuenta para entender las particularidades de la urticaria papular, la cual, probablemente, constituye la de mayor importancia médica en el trópico.

En los países de la zona templada, la aparición estacional de los mosquitos marca una situación diferente para el reconocimiento inmunológico de sus antígenos, en comparación con el que determina el contacto permanente con ellos de

Urticaria papular, que se puede manifestar con:

- lesiones papulares de aparición tardía que pueden ser graves (ampollas), así como vesículas y ronchas;
- presencia de ronchas y pápulas (reacción inmediata o tardía), y
- cicatrices hipocromáticas e hiper cromáticas, que pueden permanecer por meses e inclusive años

Reacción alérgica inmediata cuya única manifestación es la presencia de ronchas

Pacientes con síndrome de Skeeter, es decir que presentan reacciones locales extensas inducidas por la picadura de mosquito y fiebre (reacción tardía)

Reacciones alérgicas sistémicas agudas, incluida urticaria, angioedema de membranas mucosas (incluso en laringe) o piel, sibilancias, disnea, hipotensión, y disminución o pérdida de la conciencia (anafilaxis)

Casos especiales: los pacientes con inmunodeficiencias primarias o adquiridas son especialmente propensos a desarrollar reacciones exageradas a la picadura de insectos. En el caso del HIV-sida esta condición tan común (hasta el 46 % de los infectados) se denomina erupción papular pruriginosa.

Figura 1. Manifestaciones clínicas después de la picadura de insectos

los habitantes de la zona tórrida. Ya sea porque este contexto de exposición antigénica tiene realmente un efecto inmunomodulador en las manifestaciones clínicas, o porque simplemente no se han reportado los casos respectivos, el hecho es que no se conoce la incidencia de las reacciones sistémicas a la picadura de estos insectos en nuestros países. Por ello, y dado que se hizo una buena caracterización clínica, la recopilación de las reacciones sistémicas de hipersensibilidad más importantes incluyó casos de varios países del mundo (Japón, Canadá, Suiza y Alemania), todos ellos países de clima templado, en los cuales hay evidencia de que la IgE específica de la saliva del mosquito tiene relación con la enfermedad (7).

Los problemas dermatológicos asociados a la picadura de pulga son de presentación menos cosmopolita. En algún momento sus infestaciones en algunas zonas de Norteamérica fueron un problema (8), de ahí el interés por entender la respuesta inmunológica frente a sus antígenos, pero ahora, dada la mejoría de las condiciones higiénicas en estos países, es más común que se presente en los países en desarrollo con climas fríos, como los localizados en las altitudes andinas. Conocemos poco sobre las manifestaciones clínicas asociadas a la picadura de la pulga en humanos aparte de la urticaria papular, y no se conocen casos de reacciones sistémicas secundarias a su picadura.

La urticaria papular es una enfermedad inflamatoria crónica causada por la exposición a la picadura de artrópodos, siendo los mosquitos y las pulgas los agentes causales más comunes, aunque se sabe de otros insectos capaces de producir una reacción cutánea similar (9). Esta reacción de hipersensibilidad se puede manifestar más comúnmente con pápulas, pero también, con ronchas, vesículas, ampollas y costras. Ocasionalmente, los pacientes pueden desarrollar cicatrices hipocrómicas o hipercrómicas en la piel; la enfermedad también produce prurito e infecciones graves (figura 2).

En el diagnóstico de la urticaria papular se tiene en cuenta principalmente la aparición de la reacción de hipersensibilidad tardía tras la picadura del insecto. El problema principal en regiones donde los agentes causales son permanentes es que las lesiones son recurrentes y se pueden presentar todas las ya mencionadas en un mismo cuadro clínico.

En la valoración clínica de un paciente con urticaria papular, normalmente no se observa la evolución completa desde sus inicios, razón por

la cual se destacan los estudios experimentales que han permitido conocer la evolución natural de la reacción inmunitaria a la picadura de insectos en la urticaria papular y su relación con las manifestaciones clínicas. Llama la atención que, en humanos y en modelos animales, se han apreciado manifestaciones y patrones inmunológicos similares.

Hudson, *et al.*, analizaron a un grupo de pacientes con urticaria papular y los expusieron a la picadura de tres especies de pulga diferentes (*Ctenocephalides felis*, *Pulex irritans* y *P. simulans*) en el antebrazo. En un periodo de seguimiento de 15 días observaron eritema en el sitio de la picadura. Luego de 20 minutos, aparecía un habón que catalogaron como reacción de hipersensibilidad inmediata. Al cabo de 24 horas, se desarrollaba una pápula o induración, o vesículas, en lo que se conoce como reacción tardía. La respuesta a las tres especies de pulga fue similar. Además, los autores observaron que la gran mayoría de los pacientes presentaba una reacción tardía, aunque no siempre habían tenido una reacción inmediata (10). Oka, *et al.*, observaron, por su parte, un patrón similar de reacción en un seguimiento clínico de



Figura 2. Lesiones típicas que se presentan en la urticaria papular. **A.** Roncha que aparece como reacción inmediata a la picadura de mosquito. **B.** Cicatrices hiperchromáticas crónicas en el abdomen debidas a la picadura de mosquito. **C.** Lesiones papulares en la extremidad inferior por picadura de pulga (reacción tardía).

la picadura del mosquito *Aedes albopictus* en un grupo de individuos japoneses entre uno y 68 años de edad (n=162). Observaron que una proporción sustancial de pacientes (65 %) presentaba reacción tardía, acompañada en algunos casos de una reacción inmediata, cuya intensidad disminuía significativamente con la edad (11).

Epidemiología de la urticaria papular

Es común que la urticaria papular se presente en niños de 2 a 10 años, aunque los adultos también pueden verse afectados (12,13). En el cuadro 1 se presenta la frecuencia de la enfermedad en distintos lugares del mundo, principalmente en las regiones intertropical y subtropical. Son pocos los estudios diseñados para determinar la prevalencia de la enfermedad, y la mayoría de la información se refiere a su frecuencia en series de casos atendidos en centros médicos. El único estudio de prevalencia de urticaria papular en Latinoamérica se hizo en Bogotá. Se trató de un estudio de diseño transversal con un muestreo aleatorio estratificado que incluyó a 2.437 niños de 1 a 6 años de edad que asistían a instituciones educativas de la ciudad. Se encontró que la prevalencia fue de 20,3 %, la cual es mayor que las registradas previamente en otros países (23). La disminución en las cifras de presentación en la adultez podría explicarse por los mecanismos de tolerancia asociados a la exposición continua en un ambiente constante. No obstante, se ha observado que si hay una alta exposición en la edad adulta, las cifras de presentación son tan altas como en los niños.

Los factores de riesgo para desarrollar la enfermedad dependen en gran medida de la población analizada. En Bogotá, por ejemplo, fueron la

presencia de pulgas en la vivienda (razón de probabilidad - *odds ratio*, OR=1,72; IC_{95%} 1,32-2,24) y otros de tipo ambiental que facilitarían el contacto con estos vectores, como el uso de transporte público y los relacionados con la pobreza (viviendas con piso de tierra y colchón de mota) (5). En una población rural de Venezuela, se encontró que las parasitosis intestinales eran más frecuentes en niños con urticaria papular que en los controles (25).

Desde el punto de vista genético, habría varios factores que determinan la predisposición a padecer la enfermedad, entre ellos, la predisposición atópica asociada a enfermedades de la piel y a ser picado por insectos. La urticaria papular no está asociada con los antecedentes personales o familiares de alergia respiratoria (asma y rinitis alérgica) (11,26), pero sí se ha encontrado una asociación con los antecedentes de dermatitis atópica en hermanos (Halpert E, enviado para publicación).

En algunos artículos se sugiere que existe una predisposición genética a ser picado por insectos que variaría según la especie. Este factor ha suscitado bastante interés en el caso de los mosquitos por su condición de vectores de varias enfermedades tropicales de gran morbimortalidad. Se ha demostrado la gran importancia de la herencia en el rasgo de la atracción de los mosquitos, la cual se relaciona con la liberación de compuestos volátiles que son detectados por los insectos mediante el olfato (27).

Hay algunas pruebas sobre el papel del antígeno leucocitario humano (*human leukocyte antigen*, HLA) en la determinación de los olores que atraen a los mosquitos (28), hipótesis que también se

Cuadro 1. Frecuencia de la urticaria papular en diferentes poblaciones

País	Frecuencia (%)	Año	Población	Referencia
Egipto*	4,4	2014	Niños en edad escolar	(14)
Port Harcourt, Nigeria *	14,6	2008	Niños entre 0 y 16 años	(15)
Kaduna, Nigeria	3,6	2007	Menores de 20 años	(16)
Ibadan, Nigeria*	3,3	2005	Menores de 8,8 ± 2,5 años	(17)
Sur de India	5,3	2004	Niños menores de 14 años	(18)
India	10,6	2013	Niños menores de 5 años	(9)
Ghana, Gabón y Ruanda*	1,0 a 2,0	2013	Niños en edad escolar	(19)
Turquía	2,3	2008	Niños entre 0 y 16 años	(20)
Venezuela	25,4	2002	Niños del área rural de 2 meses a 10 años de edad	(21)
México	16,3	(1971-1975)	Niños entre 0 y 18 años	(22)
	2,2	(1994-2003)		
Colombia*	20,3	2012	Niños entre 1 y 6 años	(23)

* Estudios de prevalencia

sustenta en la identificación de un receptor de olor en el mosquito asociado con su preferencia por picar humanos (29).

Agentes etiológicos

La ubicación en el trópico y los accidentes montañosos hacen que Colombia tenga varios pisos térmicos, lo cual influye en la distribución ecológica de los insectos. En cuanto a los insectos relacionados con la urticaria papular, se sabe que los mosquitos predominan en los pisos térmicos más cálidos y, las pulgas, en las regiones más frías del país. La ausencia de estaciones en el trópico permite un clima constante durante todo el año, lo cual determina que la exposición a determinado agente causal sea permanente (9).

En Colombia, solo hay información epidemiológica sobre la asociación estadística entre la presencia domiciliar de la pulga y la urticaria papular en la población bogotana (OR=1,72, IC_{95%} 1,32-2,24) (García E, Halpert E. Inmunopatogénesis del prurigo estrófulo causado por la picadura de pulga en humanos. Informe Técnico Final. 1998. Código 6221-04-030-93), (Torres M, García E, Halpert E, Borrero E, Chaparro P, Ibáñez MM, et al. Siphonaptera (Pulicidae) en viviendas de Bogotá, Colombia. Biomédica. 2011;31(Supl. 3): 76-7. Memorias, XX Congreso Latinoamericano de Parasitología y XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical). No obstante, cabe plantearse que en climas y condiciones ambientales similares haya presencia domiciliar de la pulga.

Pulga

Estos insectos pertenecen al orden Siphonaptera que comprende alrededor de unas 2.574 especies agrupadas en 16 familias (30). Son pocas las especies que se asocian con los humanos. La familia Pulicidae incluye las especies de pulgas más cercanas al hombre, entre las cuales las de mayor importancia médica (31) son *P. irritans*, *C. felis*, *C. canis* y *Tunga penetrans*. *Pulex irritans* tiene la especificidad más baja por el huésped y puede atacar diferentes especies, incluidos los seres humanos (32). La pulga del gato, *C. felis*, es la especie más común entre los animales domésticos de todo el mundo (33). *Ctenocephalides canis* se conoce generalmente como la pulga del perro, pero también, puede atacar a animales salvajes, domésticos y a los seres humanos (31). *Tunga penetrans* causa una ectoparasitosis bastante frecuente en algunos países de Latinoamérica y el

Caribe, que se propaga por la postura de huevos de la hembra en la piel de huéspedes infectados (34,35). Los patrones de distribución geográfica de las pulgas pueden ser diferentes en función de las condiciones ambientales específicas (36).

En Colombia, las especies *C. felis* y *P. irritans* son las más frecuentes y se encuentran principalmente en animales domésticos y en ratas (37,38). En un estudio exploratorio en Bogotá, en el 50 % de 30 casas de personas con urticaria papular se encontraron pulgas, principalmente en aquellas donde había perro, pero no se encontraron otros artrópodos (García E, Halpert E. Inmunopatogénesis del prurigo estrófulo causado por la picadura de pulga en humanos. Informe Técnico Final. 1998. Código 6221-04-030-93). Posteriormente, en un estudio aleatorio (casas de niños con urticaria papular y casas de niños sanos en zonas urbanas de Bogotá), se detectaron pulgas, principalmente de las dos especies mencionadas, en alrededor de 11 % de las viviendas (Torres M, García E, Halpert E, Borrero E, Chaparro P, Ibáñez MM, et al. Siphonaptera (Pulicidae) en viviendas de Bogotá, Colombia. Biomédica. 2011;31(Supl. 3): 76-7. Memorias, XX Congreso Latinoamericano de Parasitología y XV Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical).

Desde el punto de vista de la alergología, la pulga más estudiada ha sido *C. felis*. En estudios en perros se han identificado tres alérgenos de pulga (39). También, hay estudios en humanos en los cuales se ha demostrado que los pacientes con urticaria papular generan IgE con varios componentes del extracto de pulga (26,40).

Mosquitos

Los mosquitos pertenecen al orden Diptera y las especies más comunes son de la familia Culicidae; la mayoría son hematófagos. Aunque se han descrito alrededor de 3.000 especies de mosquitos, solo unas pocas tienen importancia inmunológica por su contacto con el humano y los efectos de su picadura en la salud. Entre estas, las más importantes por su amplia distribución en el mundo son *A. aegypti*, *A. vexans*, *A. albopictus*, *Culex pipiens* y *C. quinquefasciatus* (41,42). La clasificación más completa de las especies en Colombia data de 1955 y en ella se registraron 164 especies de mosquito, la mayoría de los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes* (43), de los cuales *Aedes* y *Culex* han sido los más estudiados desde el punto de vista alergológico como fuentes de antígenos asociadas a reacciones de hipersensibilidad

inmediata y tardía en el humano (44). Sin embargo, en pocos estudios se ha explorado su relación con la urticaria papular (45).

Aedes aegypti predomina en los climas tropicales y su distribución en el país está limitada por la altitud. *Aedes albopictus* es otra especie de mosquito registrada en Colombia, la cual se ha adaptado a pisos térmicos más templados, como el de Medellín (46). En cuanto al género *Culex*, *C. quinquefasciatus* es la especie más abundante en el trópico, a diferencia de *C. pipiens*, la cual se distribuye en otras latitudes del mundo (Viejo Mundo y Norteamérica). El cambio climático ha permitido la supervivencia de mosquitos en altitudes inesperadas de Colombia (47). Al aumentar la temperatura, los culícidos se tornan más activos, las larvas de los mosquitos tardan menos en madurar y se adaptan más fácilmente a otros ecosistemas (48), por lo cual en el país, *C. quinquefasciatus* se ha registrado en el rango de 0 hasta 2.600 metros sobre el nivel del mar (49).

En diferentes países de América, especialmente en México, se ha evidenciado la migración de diferentes especies de mosquito debido al cambio climático y se han desarrollado modelos que buscan reproducir las consecuencias del aumento de la temperatura en el ciclo biológico de este vector. En este contexto, el panel intergubernamental sobre cambio climático y la Organización Panamericana de la Salud concluyeron que el cambio climático, que deja fuertes lluvias, altas temperaturas y sequía, propicia el aumento de las enfermedades infecciosas transmitidas por mosquitos, como el dengue (50-54). Por ello, además de las enfermedades infecciosas transmitidas por estos vectores, la mayoría de la población latinoamericana puede desarrollar reacciones de hipersensibilidad a su picadura.

Reacción inmunológica asociada a la urticaria papular

Hallazgos histológicos

Los estudios histopatológicos de las lesiones por urticaria papular apuntan a la presencia de un componente alérgico en su patogenia, pues es común observar un infiltrado inflamatorio rico en eosinófilos y linfocitos (55). García, *et al.*, también encontraron un predominio de estas poblaciones celulares en biopsias de lesiones dérmicas causadas por picadura de pulga; no obstante, llama la atención el hecho de que el 80 % de los pacientes estudiados obtuvo resultados negativos en una prueba epicutánea con extracto de pulga (26), lo

cual puede deberse al tipo de extracto alérgico utilizado (somático), pues la mayoría de los alérgenos involucrados en la hipersensibilidad a la picadura de insectos se encuentran en la saliva del animal, a partir de la cual es dispendioso producir un extracto natural (56). En el estudio citado, también se observó una variación en la proporción de células CD8+/CD4+ según el tiempo de evolución de las lesiones. En las fases más tempranas, fueron más abundantes los linfocitos T CD8+, lo cual podría generar una mayor actividad de necrosis y citotoxicidad, y causar reacciones graves más características al inicio del cuadro clínico (26).

Respuesta humoral

Se ha observado que algunos componentes del extracto de pulga son reconocidos con mayor frecuencia en niños con urticaria papular que en niños sanos. En un estudio, la reacción de la IgE a bandas en el rango de 31 a 35 kDa fue alrededor de dos veces más frecuente en los casos de urticaria papular que en los controles. Por otra parte, las bandas de 16 a 20 kDa fueron reconocidas por 33,4 % de los pacientes, pero por ninguno de los sujetos de control (40). Cuando se hicieron pruebas de activación de basófilos con fracciones de distinto peso molecular del extracto de cuerpos de pulga, se encontró que, en las bandas de menos de 50 kDa y en las de 50 a 100 kDa, el promedio de expresión del marcador de activación CD63 era mayor en los niños con urticaria papular (57).

En algunos estudios se ha evaluado el papel de la IgE en la urticaria papular inducida por mosquito. Reunala, *et al.*, encontraron frecuencias similares de unión a la IgE entre pacientes con urticaria papular y controles provenientes de zonas tropicales (Kenia y México), a diferencia de lo que observaron en pacientes con hipersensibilidad a la picadura de mosquito de un país con un clima entre templado y frío (Finlandia), en donde sí fue clara la diferencia estadística entre sanos y enfermos (45). Al igual que en este estudio, en otros se ha demostrado que en latitudes no tropicales se registraba una clara diferencia en la reacción de la IgE entre sanos y pacientes con hipersensibilidad (58,59). En contraste, en Egipto, otro país ubicado principalmente en el trópico, no se encontraron diferencias significativas entre el reconocimiento de la IgE de las bandas del extracto de pulga o del de mosquito (60). Según estos hallazgos, pueden existir otros factores determinantes en la patogenia de la enfermedad. Es posible que en los países

tropicales en los que la exposición a la picadura de insectos es continua, la presencia de la IgE contra alérgenos de la saliva de insectos no sea determinante para la aparición de la enfermedad.

La reacción de la IgE varía según el tiempo de evolución de la enfermedad (40). Así, en los pacientes con dos a cinco años de evolución, la IgE reconoce un mayor número de bandas que en aquellos con una evolución menor de dos años o mayor de cinco. Este mismo periodo coincide con la etapa clínica, en la cual se presenta de manera más intensa la enfermedad. En el estudio de Peng, *et al.*, se encontró una correlación entre los niveles de IgE específica para el extracto de saliva del mosquito y el tamaño de la induración inmediata o tardía inducida por una prueba epicutánea con la misma preparación (61).

De todas las subclases de IgG, la IgG3 parece relacionarse con la protección frente a la enfermedad, pues la frecuencia general de reconocimiento de bandas por parte de este isotipo fue significativamente mayor en el grupo de control. No obstante, el perfil de la respuesta humoral al parecer cambia según el tiempo de evolución de la enfermedad. Los pacientes con más de cinco años desde la aparición de los síntomas tienen tasas de reacción con IgG3 similares a las del grupo de control, especialmente a las proteínas de 31 a 35 kDa, lo cual sugiere que en esta etapa de la enfermedad los pacientes están insensibilizándose frente a los antígenos de la pulga, como es de esperarse por la historia natural de esta condición (40).

Se ha descrito que el HIV-sida puede cursar con una potenciación de la reacción de Th2 e IgE. En este sentido, llama la atención que, en pacientes de países tropicales con esta inmunodeficiencia, aparezca frecuentemente una erupción papular pruriginosa que parece estar relacionada con la picadura de artrópodos. En la mayoría de las lesiones de piel examinadas, su estudio por histopatología evidenció señales características de una picadura de insecto (62). En otro estudio se encontró una asociación significativa entre el antecedente de picaduras diarias de mosquitos y el desarrollo de esta condición dermatológica (63). Se ha encontrado que los pacientes con urticaria papular y HIV tienen resultados positivos en la prueba cutánea con mayor frecuencia que los controles sanos, lo cual sugiere la presencia evidente de un componente atópico mediado por la IgE en esta condición (64).

Respuesta celular

En un estudio de pacientes con urticaria papular inducida por picadura de pulga, se observó una reacción afín con el perfil Th2, pues tras la estimulación policlonal de células mononucleares periféricas, se detectó un porcentaje de linfocitos T CD4+ IL-4+ mayor que en los controles sanos, mientras que la proporción de linfocitos T IFN γ + fue significativamente menor (65).

En otro estudio, la exposición de células dendríticas aisladas de pacientes con urticaria papular al extracto de pulga y al lipopolisacárido aumentó significativamente la expresión de moléculas de membranas, como las CD83, CD86 y el HLA-DR (*Human Leukocyte Antigen - antigen D Related*), e indujo una disminución en la producción de interleucinas reguladoras, como la IL-10 (66). Otro hallazgo importante relacionado con esta población celular fue su menor cantidad en pacientes que en controles sanos, lo cual sugiere que cumplen un papel en la patogenia de la enfermedad (67).

Domínguez-Amorocho, *et al.*, analizaron la producción de citocinas por parte de los linfocitos T CLA+ (antígeno leucocitario cutáneo, un receptor de "atracción" [*homing*] hacia la piel) y encontraron un alto porcentaje de linfocitos CD4+ CLA+ que producían IL-4, IL-10 e IL-17, además de un gran número de células CLA- que producían IFN γ . Por otro lado, en pacientes con más de cinco años de evolución, la población de linfocitos CD4+ con mayor producción de IL-10 e IFN γ - fueron los CLA-, mientras que los CLA+ mostraron mayores niveles de IL-17. Estos datos demuestran la importancia de los linfocitos CD4+ IL-4 en la reacción inflamatoria local en la piel, y sugieren, además, que los síntomas más graves al comienzo de la enfermedad pueden estar asociados con la reacción de la Th2 en el tejido cutáneo (67).

Modelos animales

En otros mamíferos, la pulga también produce reacciones de hipersensibilidad en la piel. En perros, se producen reacciones dérmicas de hipersensibilidad, en las cuales están presentes marcadores inmunológicos de respuesta de la Th2 (68). Esta condición se denomina dermatitis alérgica por picadura de pulga, y es una de las afecciones más comunes en los perros y gatos que viven en áreas endémicas. Los animales propensos presentan prurito intenso cuando son picados por las pulgas y, tratando de calmarlo, se lastiman la piel, con la consecuente aparición de excoiaciones, alopecia e infecciones secundarias por bacterias y hongos.

En un estudio, las pruebas histopatológicas de las lesiones mostraron que la respuesta inmediata concordaba con un patrón de hipersensibilidad de tipo I y se caracterizaba principalmente por la presencia de edema y eosinófilos. Por otro lado, en la respuesta tardía se apreció un mayor número de linfocitos T, característico de la reacción de hipersensibilidad de tipo IV, así como un infiltrado de basófilos, los cuales alcanzaron su pico máximo a las 24 horas. Además, se encontró que los eosinófilos persistían en el inicio de esta fase, lo cual sugiere que la IgE tiene un papel en la respuesta tardía (69).

Se ha encontrado que los niveles de IgE e IgG en los perros con dermatitis alérgica por picadura de pulga son mayores que en los que nunca han estado en contacto con las pulgas (70). Sin embargo, en un estudio de McKeon, *et al.*, se encontró que los anticuerpos presentes en el suero de ambos grupos de perros identificaron una gran variedad de antígenos, pero no se observó ningún patrón de reacción que distinguiera entre los perros alérgicos y los no alérgicos (71). Estos resultados sugieren que quizá existe poca asociación entre la respuesta particular de los anticuerpos y la reacción alérgica en los perros con pulgas.

Utilizando un modelo experimental de dermatitis alérgica por picadura de pulga en el que se estudiaron dos grupos de perros, los expuestos continuamente versus los expuestos episódicamente, se encontró que aquellos con exposición continua tenían niveles más altos de IgE que los expuestos episódicamente. Además, se halló una correlación entre las manifestaciones clínicas y los niveles de IgE específica en el grupo de los expuestos continuamente. Sin embargo, en el grupo de expuestos episódicamente no se encontró relación e incluso algunos perros presentaron manifestaciones clínicas con títulos de IgE negativos (68). Estos resultados sugieren que quizá los niveles de IgE no se correlacionan con la gravedad de las manifestaciones clínicas y es posible que otros mecanismos estén involucrados. En conclusión, la respuesta de tipo 2 parece ser esencial en la aparición de la enfermedad, no obstante, no en todos los casos la IgE es un mecanismo efector de la reacción inflamatoria.

Alérgenos

La IgE es necesaria pero no suficiente en el desarrollo de distintas manifestaciones alérgicas. En el caso de las enfermedades de hipersensibilidad asociadas a la reacción inmunológica de tipo 2 con

predominio de la respuesta tardía, como el caso de la urticaria papular, incluso se discute su necesidad. Entre los agentes causales asociados se han descrito varios alérgenos, algunos asociados con las manifestaciones clínicas en la piel de humanos y otros en perros. No existen datos sobre su participación en la urticaria papular, aunque constituyen buenos candidatos antigénicos para el estudio molecular de las causas de esta condición, frecuente en el trópico, pero tan poco estudiada. Dichas investigaciones deben incluir el estudio de los efectos en la respuesta de tipo celular, al ser una condición en la cual predomina la hipersensibilidad tardía. A continuación se describen características de los alérgenos conocidos derivados de la pulga y el mosquito.

Pulga

Cte f 1: es una proteína de 18 kDa de identidad bioquímica desconocida. Se ha descrito como alérgeno en perros con dermatitis alérgica, encontrándose que alrededor del 80 % de estos animales presentan IgE específica para esta molécula (39).

Cte f 2: la secuencia de esta proteína se informó en el GenBank (I3VPB0) y se le asignó la denominación de alérgeno en perros, aunque no hay información detallada sobre su importancia alérgica. Esta molécula de 30 kDa pertenece a la familia de proteínas con un dominio similar al de la proteína transportadora de esteroides (*SCP-like*), en la cual se encuentran otros alérgenos de insectos como la avispa (*Ves v 5*) y la hormiga (*Sol i 3*) (72,73). Los datos preliminares de nuestras investigaciones indican que esta molécula también es alérgica en humanos (Sabogal P, *et al.*, datos no publicados).

Mosquitos

Aedes aegypti

En la saliva de *A. aegypti*, la especie de mosquito más común en todo el mundo, se han encontrado ocho antígenos (74). En la actualidad solo se cuenta con tres recombinantes bien caracterizados (*Aed a 1*, *Aed a 2* y *Aed a 3*). Estas proteínas provocan una respuesta de predominio de la IgE en personas con alergia a la picadura de mosquito, pero no se tiene información sobre su relación propiamente dicha con la urticaria papular.

Aed a 1: es una apirasa de alto peso molecular (75) y uno de los principales alérgenos en la saliva del mosquito. En algunas poblaciones ha inducido una reacción positiva en 43 % de pacientes con

hipersensibilidad a la picadura de mosquito (76). En otro estudio se demostró que el 29 % de los pacientes con respuesta inmediata a la picadura de mosquito reaccionaban a la exposición al rAed a 1. De igual forma, 18 % de las personas con un respuesta tardía tuvieron un resultado positivo (75).

Aed a 2: es una proteína de 37-kDa que hace parte de la familia de la proteína D7 cuya función biológica es desconocida (77). En un estudio, el 10 % de los sujetos con hipersensibilidad a la picadura de mosquito tuvieron resultados positivos a la rAed a 2. Se ha demostrado que tiene reacción cruzada con otros extractos de saliva de diferentes especies de mosquito, entre los que figuran *A. vexans*, *A. communis*, *A. togi*, *Ochlerotatus triseriatus* y *C. quinquefasciatus* (78).

Aed a 3: es una proteína de 30 kDa cuya identidad bioquímica se desconoce; 32 % de los pacientes con resultado positivo a la picadura de mosquito también tuvieron resultados positivos frente a la exposición a este alérgeno (76).

Culex

En un estudio se detectaron dos proteínas en la saliva de *C. quinquefasciatus* con homología con Aed a 2 reconocidas en 73,1 % de los sueros de pacientes con reacción de la IgE para *C. quinquefasciatus*. Tienen homología estructural con la proteína THP12 de la hemolinfa del *Tenebrio molitor*, la cual pertenece a la familia de las proteínas de unión a feromonas y sustancias odorantes que transportan moléculas hidrofóbicas (79).

Se han observado alérgenos en la saliva de *C. quinquefasciatus* con pesos moleculares de 35,5, 32,5 y 22,5 kDa, con una frecuencia de reacción a la IgE de 41, 28 y 24 %, respectivamente, en el momento de evaluar el suero de individuos alérgicos (80).

Reacción cruzada

La hematofagia ha evolucionado de manera independiente varias veces en los insectos, lo cual implica que también ha habido variaciones importantes en el secretoma de la saliva como adaptación al proceso de coespeciación con su huésped (7). Sin embargo, a pesar de estas particularidades, también hay moléculas comunes en los insectos con un importante grado de conservación, las cuales causan reacción cruzada. Ya se ha demostrado que esta se da entre mosquitos de los géneros *Aedes* y *Culex* de importancia alergológica (78).

Por otra parte, a pesar de que los mosquitos y las pulgas tienen diferencias importantes en cuanto a su ecobiología y distribución geográfica, su picadura induce manifestaciones clínicas similares; por lo tanto, resulta interesante saber si existen moléculas comunes asociadas a la patogenia de la enfermedad. En el cuadro 2 se presenta un análisis bioinformático para la búsqueda de proteínas homólogas con alérgenos descritos en especies de pulga y mosquito de interés en el trópico. Aunque las pulgas y los mosquitos son filogenéticamente distantes (figura 3), según estos análisis, el alérgeno Cte f 2 de la pulga tiene potencial de reacción cruzada con una proteína de *A. aegypti* denominada antígeno 5 que está presente en su saliva (81). Por otra parte, ningún alérgeno conocido de mosquito tiene homología con secuencias publicadas de proteínas derivadas de la pulga.

Tratamiento

La urticaria papular rara vez implica complicaciones serias y en muchos casos se produce la desensibilización después de una exposición prolongada a la picadura de insectos. Por ello, el tratamiento se centra en los síntomas mediante la administración de antihistamínicos (82). Los esteroides tópicos también se usan con frecuencia en la práctica clínica, aunque no hay certeza sobre su eficacia dada la falta de estudios con casos y controles. Se ha tratado de inducir la desensibilización oral en niños con urticaria papular, pero no ha habido diferencias significativas en las variables clínicas ni en las inmunológicas de los niños tratados con las vacunas orales de saliva de insectos y los del grupo tratado con placebo (83).

La inmunoterapia con extractos de mosquitos o alérgenos recombinantes se ha sugerido como un tratamiento definitivo para enfermedades alérgicas inducidas por la picadura de insectos, pues se ha encontrado que el incremento de la subclase IgG4 puede tener un papel protector ante posteriores exposiciones a los insectos. En un estudio realizado en un grupo de 20 individuos alérgicos a la picadura de mosquito con prueba cutánea positiva e IgE específica para *A. communis*, se evidenció que con la aplicación subcutánea del extracto de mosquito durante 18 meses se obtenía una mejoría de las lesiones cutáneas, así como de los síntomas respiratorios después de la picadura del mosquito, efectos que no se observaron en el grupo de control (84).

Cuadro 2. Alineamientos de secuencia entre alérgenos de la pulga y proteínas del mosquito

Alérgeno	Proteína homóloga			Resultados del BLAST*	
	Identidad bioquímica	Especie	Número de acceso	Identidad	Similitud
Cte f 1	Cinasa serina/treonina	<i>A. aegypti</i>	gij157125736	33/125 (26 %)	49/125 (39 %)
	Triptasa	<i>A. aegypti</i>	gij157106430	20/86 (23 %)	33/86 (38 %)
Cte f 2	Desconocida (Alérgeno)	<i>C. quinquefasciatus</i>	gij170057945	67/191 (35 %)	100/191 (52 %)
	Desconocida (Alérgeno)	<i>A. aegypti</i>	gij157133940	63/190 (33 %)	102/190 (53 %)

BLAST: *Basic Local Alignment Search Tool*

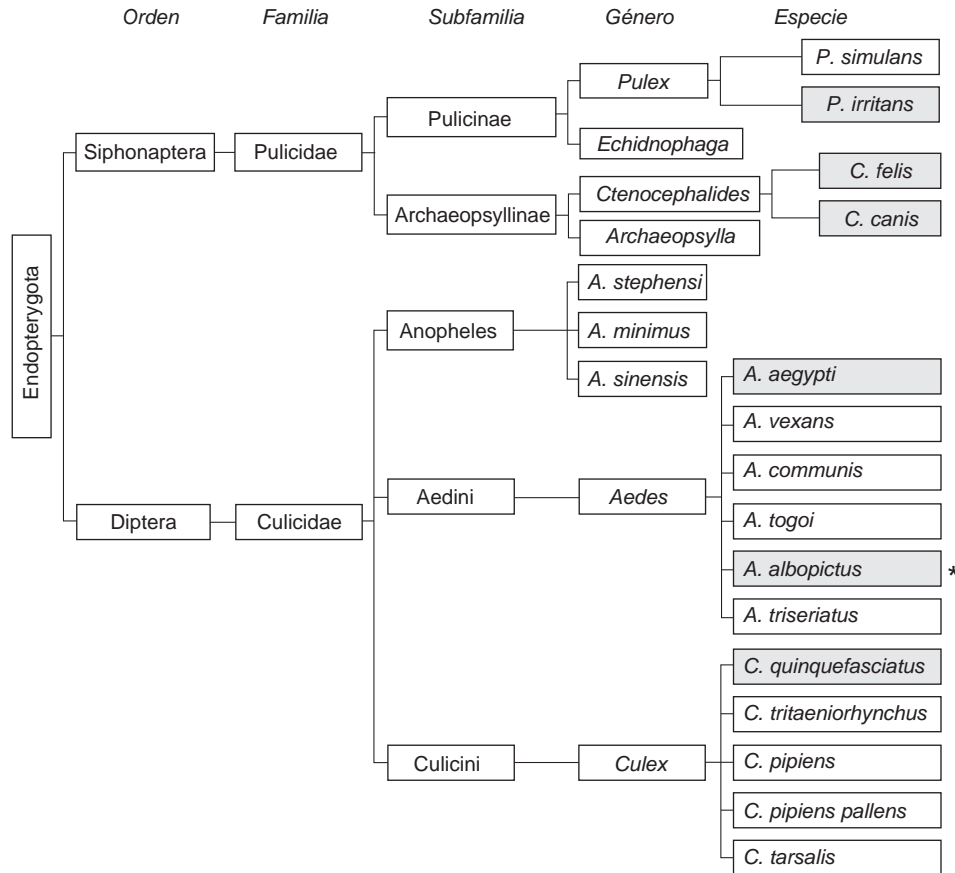


Figura 3. Filogenia de las especies de insectos (superorden: Endopterygota) relacionadas con la urticaria papular. Se resaltan las especies predominantes en Colombia.

*: Especie con capacidad de adaptación climática a diferentes temperaturas

Conclusiones

La urticaria papular se presenta con gran frecuencia en los países del trópico y es una de las enfermedades de la piel más importantes en la infancia. No hay una información precisa sobre la historia natural de la enfermedad y los factores asociados a su persistencia hasta la adultez. Los agentes causales cambian de acuerdo con los pisos térmicos de los países y continentes, siendo la pulga el principal agente en regiones de clima frío, en donde la exposición domiciliar se asocia

a condiciones de pobreza. Hay varios estudios sobre la respuesta inmunológica a este insecto, en los cuales se resalta el predominio de la reacción local de la Th2. Sin embargo, es necesario estudiar los estímulos antigénicos más idóneos (antígenos purificados) para resolver algunos interrogantes como el papel de la IgE en la reacción.

En cuanto a los mosquitos, tan comunes en los pisos térmicos cálidos del país, se conoce menos sobre su asociación epidemiológica con la enfermedad y sobre la respuesta inmunológica específica en

pacientes con urticaria papular. Hasta el momento no se han publicado estudios sobre la reacción inmunológica de pacientes con urticaria papular a los antígenos purificados de estos insectos. La producción de moléculas recombinantes es una forma sencilla de obtenerlos y permitiría conocer con más detalle los mecanismos inmunológicos de la enfermedad.

Agradecimientos

A Colciencias, por la financiación de proyectos de investigación sobre urticaria papular inducida por la picadura de insectos (Contrato 571-2008 y 484-2012).

Conflicto de intereses

No existe ninguno.

Financiación

Este trabajo fue financiado por Colciencias (contratos 571-2008 y 484-2012).

Referencias

1. **Shaffer B, Jacobson C, Beerman H.** Histopathologic correlation of lesions of papular urticaria and positive skin test reactions to insect antigens. *AMA Arch Derm Syphilol.* 1954;70:437-42.
2. **Shaffer B, Jacobson C, Pori PP.** Papular urticaria; its relationship to insect allergy. *Ann Allergy.* 1952;10:411-21.
3. **Raza N, Lodhi MS, Ahmed S, Dar NR, Ali L.** Clinical study of papular urticaria. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2008;18:147-50. 18460241. <http://dx.doi.org/03.2008/JCPSP.147150>
4. **Kar S, Dongre A, Krishnan A, Godse S, Singh N.** Epidemiological study of insect bite reactions from central India. *Indian J Dermatol.* 2013;58:337-41. <http://dx.doi.org/10.4103/0019-5154.117292>
5. **Chaparro P, García E, Halpert E, Borrero E, Ibáñez M, Molina J, et al.** Prevalencia de la urticaria papular por picadura de pulga y factores asociados en niños de 1 a 6 años en Bogotá, D.C. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Salud; 2012.
6. **Rodriguez-Morales AJ, Villamil-Gómez WE, Franco-Paredes C.** The arboviral burden of disease caused by co-circulation and co-infection of dengue, chikungunya and Zika in the Americas. *Travel Med Infect Dis.* 2016 May-Jun;14(3):177-9. doi: 10.1016/j.tmaid.2016.05.004. PubMed PMID: 27224471.
7. **Peng Z, Beckett AN, Engler RJ, Hoffman DR, Ott NL, Simons FE, et al.** Immune responses to mosquito saliva in 14 individuals with acute systemic allergic reactions to mosquito bites. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:1189-94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2004.08.014>
8. **Howard R, Frieden IJ.** Papular urticaria in children. *Pediatr Dermatol.* 1996;13:246-9.
9. **Singh S, Mann BK.** Insect bite reactions. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2013;79:151-64. <http://dx.doi.org/10.4103/0378-6323.107629>
10. **Hudson BW, Feingold BF, Kartman L.** Allergy to flea bites. 2. Investigations of flea bite sensitivity in humans. *Exp Parasitol.* 1960;9:264-70.
11. **Oka K, Ohtaki N.** Clinical observations of mosquito bite reactions in man: A survey of the relationship between age and bite reaction. *J Dermatol.* 1989;16:212-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1346-8138.1989.tb01251.x>
12. **Steen CJ, Carbonaro PA, Schwartz RA.** Arthropods in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* 2004;50:819-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2003.12.019>
13. **Stibich AS, Schwartz RA.** Papular urticaria. *Cutis.* 2001;68:89-91.
14. **El-Khateeb EA, Lotfi RA, Abd Elaziz KM, El-Shiekh SE.** Prevalences of skin diseases among primary schoolchildren in Damietta, Egypt. *Int J Dermatol.* 2014;53:609-16. <http://dx.doi.org/10.1111/ijd.12335>
15. **Altraide DD, George IO, Frank-Briggs AI.** Prevalence of skin diseases in Nigerian children--(the University of Port Harcourt Teaching Hospital) experience. *Niger J Med.* 2008;17:417-9.
16. **Yahya H.** Change in pattern of skin disease in Kaduna, north-central Nigeria. *Int J Dermatol.* 2007;46:936-43. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2007.03218.x>
17. **Ogunbiyi AO, Owoaje E, Ndahi A.** Prevalence of skin disorders in school children in Ibadan, Nigeria. *Pediatr Dermatol.* 2005;22:6-10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1470.2005.22101.x>
18. **Karthikeyan K, Thappa DM, Jeevankumar B.** Pattern of pediatric dermatoses in a referral center in South India. *Indian Pediatr.* 2004;41:373-7.
19. **Hogewoning A, Amoah A, Bavinck JNB, Boakye D, Yazdanbakhsh M, Adegnik A, et al.** Skin diseases among schoolchildren in Ghana, Gabon, and Rwanda. *Int J Dermatol.* 2013;52:589-600. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4632.2012.05822.x>
20. **Gul U, Cakmak SK, Gonul M, Kilic A, Bilgili S.** Pediatric skin disorders encountered in a dermatology outpatient clinic in Turkey. *Pediatr Dermatol.* 2008;25:277-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1525-1470.2008.00656.x>
21. **Piquero J, Méndez F, Misticone S, Rodríguez M, Piquero-Casals J, Macedo MD, et al.** Factores etiológicos del prurigo estrófulo en niños de una población rural. *Medicina Cutánea.* 2002;30:154-7.
22. **Del Pozzo-Magana BR, Lazo-Langner A, Gutiérrez-Castrellón P, Ruiz-Maldonado R.** Common dermatoses in children referred to a specialized pediatric dermatology service in Mexico: A comparative study between two decades. *ISRN Dermatol.* 2012;2012:351603. <http://dx.doi.org/10.5402/2012/351603>
23. **Chaparro PE.** Prevalence of papular urticaria by flea bite and associated factors in children of 1-6 years old in Bogotá D.C. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129:AB224. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.121>
24. **Noe R, Cohen AL, Lederman E, Gould LH, Alsdurf H, Vranken P, et al.** Skin disorders among construction workers following Hurricane Katrina and Hurricane Rita: An outbreak investigation in New Orleans, Louisiana. *Arch Dermatol.* 2007;143:1393-8. <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.143.11.1393>

25. **Piquero J, Méndez F, Misticone S, Rodríguez M, Piquero-Casais J, Macedo MD, et al.** Factores etiológicos del prurigo estrófulo en niños de una población rural de Venezuela. *Medicina Cutánea*. 2002;30:154-7.
26. **García E, Halpert E, Rodríguez A, Andrade R, Fiorentino S, García C.** Immune and histopathologic examination of flea bite-induced papular urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2004;92:446-52. [http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61781-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61781-4)
27. **Fernández-Grandón GM, Gezan SA, Armour JA, Pickett JA, Logan JG.** Heritability of attractiveness to mosquitoes. *PLoS One*. 2015;10:e0122716. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0122716>
28. **Verhulst NO, Beijleveld H, Qiu YT, Maliepaard C, Verduyn W, Haasnoot GW, et al.** Relation between HLA genes, human skin volatiles and attractiveness of humans to malaria mosquitoes. *Infect Genet Evol*. 2013;18:87-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2013.05.009>
29. **McBride CS, Baier F, Omondi AB, Spitzer SA, Lutomiah J, Sang R, et al.** Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor. *Nature*. 2014;515:222-7. <http://dx.doi.org/10.1038/nature13964>
30. **Whiting MF, Whiting AS, Hastriter MW, Dittmar K.** A molecular phylogeny of fleas (Insecta: Siphonaptera): Origins and host associations. *Cladistics*. 2008;24:677-707.
31. **Bitam I, Dittmar K, Parola P, Whiting MF, Raoult D.** Fleas and flea-borne diseases. *Int J Infect Dis*. 2010;14:e667-76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2009.11.011>
32. **Lehane MJ.** The biology of blood-sucking in insects. New York: Cambridge University Press; 2005.
33. **Mendes-de-Almeida F, Crissiuma AL, Gershony LC, Willi LMV, Paiva JP, Guerrero J, et al.** Characterization of ectoparasites in an urban cat (*Felis catus* Linnaeus, 1758) population of Rio de Janeiro, Brazil. *Parasitol Res*. 2011;108:1431-5. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-010-2189-z>
34. **Pilger D, Schwalfenberg S, Heukelbach J, Witt L, Mehlhorn H, Mencke N, et al.** Investigations on the biology, epidemiology, pathology, and control of *Tunga penetrans* in Brazil: VII. The importance of animal reservoirs for human infestation. *Parasitol Res*. 2008;102:875-80. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-007-0840-0>
35. **Miller H, Rodríguez G.** Tungiasis en población indígena del departamento de Vaupés: epidemiología, clínica, tratamiento y prevención. *Biomédica*. 2010;30:215-37. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v30i2.185>
36. **Beck W, Boch K, Mackensen H, Wiegand B, Pfister K.** Qualitative and quantitative observations on the flea population dynamics of dogs and cats in several areas of Germany. *Vet Parasitol*. 2006;137:130-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.12.021>
37. **Canon-Franco WA, Pérez-Bedoya JL.** Siphonaptera (Pulicidae) in dogs and cats of Colombia: Clinical and epidemiological aspects. *Vet Parasitol*. 2010;173:353-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.07.014>
38. **Ramírez-Hernández A, Montoya V, Martínez A, Pérez JE, Mercado M, de la Ossa A, et al.** Molecular detection of *Rickettsia felis* in different flea species from Caldas, Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2013;89:453-9. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.12-0698>
39. **McDermott MJ, Weber E, Hunter S, Stedman KE, Best E, Frank GR, et al.** Identification, cloning, and characterization of a major cat flea salivary allergen (Cte f 1). *Mol Immunol*. 2000;37:361-75. [http://dx.doi.org/10.1016/S0161-5890\(00\)00061-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0161-5890(00)00061-4)
40. **Cuéllar A, Rodríguez A, Halpert E, Rojas F, Gómez A, Rojas A, et al.** Specific pattern of flea antigen recognition by IgG subclass and IgE during the progression of papular urticaria caused by flea bite. *Allergol Immunopathol (Madr)*. 2010;38:197-202. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aller.2009.09.012>
41. **Wood DM, Dang P, Ellis R.** The insects and arachnids of Canada. Part 6. The mosquitoes of Canada. Diptera: Culicidae. Ottawa: Canadian Government Publishing Centre; 1979.
42. **Christophers S.** *Aedes aegypti* (L.) the yellow fever mosquito: Its life history, bionomics and structure. New York: Cambridge University Press; 1960. p. 739
43. **Barreto P.** Lista de mosquitos de Colombia, S.A (Diptera, Culicidae). *Anales de Sociedad de Biología de Bogotá*. 1995;7:1-55.
44. **Cantillo JF, Fernández-Caldas E, Puerta L.** Immunological aspects of the immune response induced by mosquito allergens. *Int Arch Allergy Immunol*. 2014;165:271-82. <http://dx.doi.org/10.1159/000371349>
45. **Reunala T, Brummer-Korvenkontio H, Palosuo K, Miyanij M, Ruiz-Maldonado R, Love A, et al.** Frequent occurrence of IgE and IgG4 antibodies against saliva of *Aedes communis* and *Aedes aegypti* mosquitoes in children. *Int Arch Allergy Immunol*. 1994;104:366-71.
46. **Rúa G SC, Londoño V, Sánchez J, Rojo R, Bello B.** Primera evidencia de *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) en la ciudad de Medellín, Antioquia - Colombia. *Revista Salud Pública de Medellín*. 2011;5:89-98.
47. **Githeko AK, Lindsay SW, Confalonieri UE, Patz JA.** Climate change and vector-borne diseases: A regional analysis. *Bull World Health Organ*. 2000;78:1136-47.
48. **Clements A.** The biology of mosquitoes. Development, nutrition and reproduction. London: Chapman and Hall; 1992. p. 10-55.
49. **Salazar M, Moncada L.** Ciclo de vida de *Culex quinquefasciatus* Say, 1826 (Diptera: Culicidae) bajo condiciones no controladas en Bogotá. *Biomédica*. 2004;24:385-92. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v24i4.1288>
50. **Tapia-Conyer R, Betancourt-Cravioto M, Méndez-Galván J.** Dengue: An escalating public health problem in Latin America. *Paediatr Int Child Health*. 2012;32(Suppl.1):14-7. <http://dx.doi.org/10.1179/2046904712Z.00000000046>
51. **Barclay E.** Is climate change affecting dengue in the Americas? *Lancet*. 2008;371:973-4. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)60435-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(08)60435-3)
52. **Ewing DA, Cobbold CA, Purse BV, Nunn MA, White SM.** Modelling the effect of temperature on the seasonal population dynamics of temperate mosquitoes. *J Theor Biol*. 2016;400:65-79. <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.04.008>
53. **Brown HE, Young A, Lega J, Andreadis TG, Schurich J, Comrie A.** Projection of climate change influences on U.S. West Nile Virus vectors. *Earth Interact*. 2015;19:18. <http://dx.doi.org/10.1175/EI-D-15-0008.1>

54. **Pech-May A, Moo-Llanes DA, Puerto-Avila MB, Casas M, Danis-Lozano R, Ponce G, et al.** Population genetics and ecological niche of invasive *Aedes albopictus* in México. *Acta Trop.* 2016;157:30-41. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.01.021>
55. **Jordaan HF, Schneider JW.** Papular urticaria: A histopathologic study of 30 patients. *Am J Dermatopathol.* 1997;19:119-26.
56. **Wongkamchai S, Khongtak P, Leemingsawat S, Komalamisra N, Junsong N, Kulthanan K, et al.** Comparative identification of protein profiles and major allergens of saliva, salivary gland and whole body extracts of mosquito species in Thailand. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 2010;28:162-9.
57. **Domínguez-Amorocho O, Duarte S, García E, Halpert E, Cuéllar A, Rodríguez A.** Differences in IgE mediated basophil degranulation induced by proteic fractions from whole flea body extract in patients with papular urticaria by flea bite and healthy controls. *World Allergy Organ J.* 2013;6:10. <http://dx.doi.org/10.1186/1939-4551-6-10>
58. **Wongkamchai S, Vaiyavatjamai P, Wanachiwanawin D, Wisuthsarewong W, Kulthanan K, Eakpo P.** A dot-blot and immuno-blot assay for the detection of mosquito saliva specific IgE in mosquito bite allergic subjects. *J Dermatol Sci.* 2009;53:155-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2008.08.013>
59. **Beckett A, Sun W, Simons F, Ma Y, Peng Z.** Role of recombinant mosquito salivary allergens in the diagnosis of individuals with allergic reactions to mosquito bites. *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:S74. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaci.2003.12.239>
60. **Abdel-Naser MB, Lotfy RA, Al-Sherbiny MM, Sayed Ali NM.** Patients with papular urticaria have IgG antibodies to bedbug (*Cimex lectularius*) antigens. *Parasitol Res.* 2006;98:550-6. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-005-0076-9>.
61. **Peng Z, Yang M, Simons FE.** Immunologic mechanisms in mosquito allergy: Correlation of skin reactions with specific IgE and IgG antibodies and lymphocyte proliferation response to mosquito antigens. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1996;77:238-44. [http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)63262-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)63262-0)
62. **Resneck JS Jr, van Beek M, Furmanski L, Oyugi J, LeBoit PE, Katabira E, et al.** Etiology of pruritic papular eruption with HIV infection in Uganda. *JAMA.* 2004;292:2614-21. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.292.21.2614>
63. **Chua SL, Amerson EH, Leslie KS, McCalmont TH, LeBoit PE, Martin JN, et al.** Factors associated with pruritic papular eruption of human immunodeficiency virus infection in the antiretroviral therapy era. *Br J Dermatol.* 2014;170:832-9. <http://dx.doi.org/10.1111/bjd.12721>
64. **Rosatelli JB, Roselino AM.** Hyper-IgE, eosinophilia, and immediate cutaneous hypersensitivity to insect antigens in the pruritic papular eruption of human immunodeficiency virus. *Arch Dermatol.* 2001;137:672-3.
65. **Cuéllar A, Rodríguez A, Rojas F, Halpert E, Gómez A, García E.** Differential Th1/Th2 balance in peripheral blood lymphocytes from patients suffering from flea bite-induced papular urticaria. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2009;37:7-10. [http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0546\(09\)70244-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0301-0546(09)70244-7)
66. **Cuéllar A, García E, Rodríguez A, Halpert E, Gómez A.** Functional dysregulation of dendritic cells in patients with papular urticaria caused by flea bite. *Arch Dermatol.* 2007;143:1415-9. <http://dx.doi.org/10.1001/archderm.143.11.1415>
67. **Domínguez-Amorocho O, Duarte S, González JM, Halpert E, Ortega MC, Rodríguez A, et al.** Differences in systemic and skin migrating-specific CD4 T cells in papular urticaria by flea bite. *Int Arch Allergy Immunol.* 2013;160:165-72. <http://dx.doi.org/10.1159/000339743>
68. **Wilkinson MJ, Bagladi-Swanson M, Wheeler DW, Floyd-Hawkins K, Craig C, Lee KW, et al.** The immunopathogenesis of flea allergy dermatitis in dogs, an experimental study. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004;99:179-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2004.02.006>
69. **Gross TL, Halliwell RE.** Lesions of experimental flea bite hypersensitivity in the dog. *Vet Pathol.* 1985;22:78-81. <http://dx.doi.org/10.1177/030098588502200112>
70. **Halliwell RE, Longino SJ.** IgE and IgG antibodies to flea antigen in differing dog populations. *Vet Immunol Immunopathol.* 1985;8:215-23.
71. **McKeon SE, Opdebeeck JP.** IgG and IgE antibodies against antigens of the cat flea, *Ctenocephalides felis felis*, in sera of allergic and non-allergic dogs. *Int J Parasitol.* 1994;24:259-63. [http://dx.doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)90035-3](http://dx.doi.org/10.1016/0020-7519(94)90035-3)
72. **Schmidt M, McConnell TJ, Hoffman DR.** Immunologic characterization of the recombinant fire ant venom allergen Sol i 3. *Allergy.* 2003;58:342-9. <http://dx.doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00085.x>
73. **Suck R, Weber B, Kahlert H, Hagen S, Cromwell O, Fiebig H.** Purification and immunobiochemical characterization of folding variants of the recombinant major wasp allergen Ves v 5 (antigen 5). *Int Arch Allergy Immunol.* 2000;121:284-91. <http://dx.doi.org/10.1159/000024341>
74. **Peng Z, Li H, Simons FE.** Immunoblot analysis of salivary allergens in 10 mosquito species with worldwide distribution and the human IgE responses to these allergens. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;101:498-505. [http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749\(98\)70357-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0091-6749(98)70357-4)
75. **Peng Z, Xu W, James AA, Lam H, Sun D, Cheng L, et al.** Expression, purification, characterization and clinical relevance of rAed a 1--a 68-kDa recombinant mosquito *Aedes aegypti* salivary allergen. *Int Immunol.* 2001;13:1445-52. <http://dx.doi.org/10.1093/intimm/13.12.1445>
76. **Simons FE, Peng Z.** Mosquito allergy: Recombinant mosquito salivary antigens for new diagnostic tests. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001;124:403-5. <http://dx.doi.org/10.1159/000053771>
77. **James AA, Blackmer K, Marinotti O, Ghosh CR, Racioppi JV.** Isolation and characterization of the gene expressing the major salivary gland protein of the female mosquito, *Aedes aegypti*. *Mol Biochem Parasitol.* 1991;44:245-53.
78. **Peng Z, Xu W, Lam H, Cheng L, James AA, Simons FE.** A new recombinant mosquito salivary allergen, rAed a 2: Allergenicity, clinical relevance, and cross-reactivity. *Allergy.* 2006;61:485-90. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1398-9995.2006.00985.x>
79. **Malafrente Rdos S, Calvo E, James AA, Marinotti O.** The major salivary gland antigens of *Culex quinquefasciatus* are D7-related proteins. *Insect Biochem Mol Biol.* 2003;33:63-71. [http://dx.doi.org/10.1016/S0965-1748\(02\)00168-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0965-1748(02)00168-6)

80. **Wongkamchai S, Techasintana P, Wisuthsarewong W, Kulthanan K, Suthipinittharm P, Eakpo P.** Analysis of IgE-binding allergens in *Culex quinquefasciatus* saliva protein in mosquito bite allergic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2007;98:200-1. [http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)60698-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1081-1206(10)60698-9)
81. **Ribeiro JM, Arca B, Lombardo F, Calvo E, Phan VM, Chandra PK, et al.** An annotated catalogue of salivary gland transcripts in the adult female mosquito, *Aedes aegypti*. *BMC Genomics.* 2007;8:6. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-8-6>
82. **Reunala T, Brummer-Korvenkontio H, Karppinen A, Coulie P, Palosuo T.** Treatment of mosquito bites with cetirizine. *Clin Exp Allergy.* 1993;23:72-5. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2222.1993.tb02487.x>
83. **Giraldi S, Ruiz-Maldonado R, Tamayo L, Sosa-de-Martinez C.** Oral desensitization in papular urticaria in children. *Trop Doct.* 2002;32:142-5.
84. **Ariano R, Panzani R.** Efficacy and safety of specific immunotherapy to mosquito bites. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2004;36:131-8.

CARTA AL EDITOR

Bogotá, 24 de octubre de 2016

Señores
Comité Editorial, Revista *Biomédica*
Instituto Nacional de Salud

Estimados señores:

Por medio de la presente nos permitimos exponer algunas observaciones en torno al artículo publicado en el volumen 36, número 3 de *Biomédica* bajo el título "Tendencia de la mortalidad y la morbilidad por tos ferina en Colombia, 2002-2012" firmado por Cardona, *et al.* (1).

La tos ferina es una enfermedad de interés en salud pública sujeta a vigilancia en el país desde 1979. Desde ese año se cuenta con información procedente de la notificación colectiva de los casos en el formato del Sistema de Información Sanitaria (SIS-12), primero, y, posteriormente, del Sistema Alerta Acción (SAA). A partir del 2006 se comenzó a utilizar el aplicativo del Sivigila para la notificación individual de los casos, por lo cual no es correcto afirmar que "la búsqueda activa se inició en el 2010 y, que aunque se clasificaba como 'evento de interés en salud pública' desde tiempo atrás, el control epidemiológico y la notificación obligatoria solo se exigieron a partir de este año", puesto que en la Circular 038 de 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social, se daban orientaciones para intensificar las acciones en vigilancia, control y manejo de los casos de tos ferina a nivel nacional como seguimiento a la Circular Externa 009 de 2012 del Instituto Nacional de Salud y las alertas emitidas por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) motivadas por el aumento de casos de tos ferina en la Región de Las Américas.

Con base en los datos utilizados por los autores del artículo para el análisis, provenientes de los certificados de defunción del Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE, se afirma que el 78,9% de las muertes se clasificaron como tos ferina no especificada, el 7,8% como tos ferina debida a *Bordetella parapertussis*, el 7,1% como tos ferina debida a otras especies de *Bordetella* y el 5,4% a tos ferina debida a *Bordetella pertussis*. En este sentido, es importante dejar claro que el único agente causal de la tos

ferina es *B. pertussis* y que su diagnóstico se hace exclusivamente en el laboratorio con métodos moleculares o de microbiología convencional o serología, dependiendo de la presentación clínica de cada caso (2). Aunque se sabe que la sensibilidad del diagnóstico clínico de la tos ferina ante la presencia simultánea de al menos tres síntomas alcanza el 95 %, la especificidad puede oscilar entre el 15 y el 60 % debido a los múltiples agentes etiológicos causantes de enfermedades similares (2).

Dado que el único agente causal de la tos ferina es *B. pertussis*, y que la vacuna de DPT se elabora a partir de células enteras o antígenos de esta especie, la vigilancia de la enfermedad para establecer la morbilidad y la mortalidad se centra en la detección de este agente causal y, por ello, los datos objeto del análisis deben ser los de los casos en los cuales se ha confirmado la presencia de esta especie mediante técnicas de laboratorio.

Llama la atención que el artículo informe sobre "10.470 casos de tos ferina reportados entre 2005 y 2012", cuando la cifra oficial del Sivigila para el período 2008-2012 fue de 23.032 casos notificados, de los cuales 6.156 se confirmaron.

El incremento en la notificación de la tos ferina se debe a múltiples factores según lo reportan Drusilia, *et al.*, y Carbonetti, *et al.*, (3),(Carbonetti NH, Wirsing von König CH, Lan R, Jacob-Dubuisson F, Cotter PA, Deora R, *et al.* Highlights of the 11th International *Bordetella* Symposium: From basic biology to vaccine development. Clinical and Vaccine Immunology, 2016). En nuestro contexto, deben analizarse las circunstancias que explican este incremento en la notificación, entre ellas las que señalamos a continuación.

A finales del 2010, se comenzó a hacer en el Instituto Nacional de Salud la detección molecular de *B. pertussis* como confirmación de la tos ferina en el laboratorio mediante PCR convencional, y en el 2014 se empezó a emplear la técnica de PCR en tiempo real, prueba más sensible y específica que la de inmunofluorescencia directa (la cual se dejó de utilizar a finales de 2014), y también más sensible que el cultivo (4). Esto aumentó la posibilidad de detectar nuevos casos durante este periodo.

Otra posible explicación es la divulgación de las circulares del Instituto Nacional de Salud y el Ministerio de Salud y Protección Social y las alertas emitidas por la Organización Panamericana de Salud en el 2012 (5,6), motivadas por el incremento

en el número de casos a finales del 2011, lo cual influyó en el aumento de la sospecha clínica de tos ferina en Colombia y, por consiguiente, de su notificación al sistema de vigilancia.

Por último, en el artículo se plantea que hubo un aumento de casos entre el 2005 y el 2012, pero en nuestra revisión de los registros del SIVIGILA se evidenció que este aumento de casos se produjo entre el 2011 y el 2012, y no solamente en Colombia, sino también en la región de las Américas.

Atentamente,

Adriana Paola Ulloa-Virgüez
Equipo de Enfermedades Inmunoprevenibles,
Grupo de Vigilancia y Control de Enfermedades
Transmisibles, Subdirección de Prevención,
Vigilancia y Control en Salud Pública, Dirección
de Vigilancia en Salud Pública, Instituto Nacional
de Salud

Efraín Andrés Montilla-Escudero
Grupo de Microbiología, Subdirección Laboratorio
Nacional de Referencia, Dirección de Redes en
Salud Pública, Instituto Nacional de Salud

Referencias

1. **Cardona D, Garzón MO, Calle M, Agudelo MC, Segura Á.** Tendencia de la mortalidad y la morbilidad por tos ferina en Colombia, 2002-2012. *Biomédica*. 2016;36:9.
2. **Lozano J.** Guía de Práctica Clínica (GPC) para la identificación y el manejo clínico de la tos ferina en menores de 18 años de edad 2014. Fecha de consulta: 29 de septiembre de 2016. Disponible en: http://gpc.minsalud.gov.co/gpc_sites/Repositorio/Otros_conv/GPC_tos_ferina/GPC_tos_ferina_completa.aspx.
3. **Burns DL, Meade BD, Messionnier NE.** *Pertussis* resurgence: Perspectives from the Working Group Meeting on pertussis on the causes, possible paths forward, and gaps in our knowledge. *J Infect Dis*. 2014;209(Suppl.1):S32-5.
4. **Montilla-Escudero EA, Rojas-Baquero F, Ulloa-Virgüez AP.** Concordancia entre las técnicas de IFD, PCR y ELISA para determinar la frecuencia de *Bordetella parapertussis* y *Bordetella pertussis* en un brote de tos ferina en el departamento de Antioquia (Colombia) en 2013. *Infectio*. 2016;20:138-50.
5. **Organización Panamericana de la Salud.** Alerta epidemiológica tos ferina (coqueluche). 16 de noviembre 2012. Fecha de consulta: 29 de septiembre, 2016. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=19325&lang=es.
6. **Organización Panamericana de la Salud.** Alerta epidemiológica tos ferina (coqueluche). 2 de marzo 2012. Fecha de consulta: 29 de septiembre, 2016. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=17052&lang=es.

Medellín, 1° de noviembre de 2016

Señores
Comité Editorial, Revista *Biomédica*
Instituto Nacional de Salud

Respetado señores:

De manera muy atenta y respetuosa hacemos referencia a los comentarios de la carta al editor fechada el 24 de octubre de 2016 con relación al artículo publicado en el volumen 36, número 3 de *Biomédica* bajo el título "Tendencia de la mortalidad y la morbilidad por tos ferina en Colombia, 2002-2012" firmado por nosotros (1).

En sentido estricto, los comentarios que a continuación hacemos no constituyen una respuesta a la carta, pues la argumentación presentada en ella es válida para el Instituto Nacional de Salud. Sin embargo, ello no necesariamente implica que los autores del artículo hayamos incurrido en errores en el estudio, ya que explícitamente aclaramos que se trató de un estudio con datos provenientes de fuentes oficiales de información, las cuales no fueron alteradas para el cálculo de las mediciones ni la obtención de resultados. Los firmantes de la carta al editor resaltan la incorporación de nuevas técnicas de diagnóstico, así como el mejoramiento de la vigilancia de la tos ferina a raíz de las alertas emitidas por las autoridades sanitarias internacionales, lo cual ha incidido en el registro de un mayor número de casos notificados y confirmados.

El objetivo de nuestro artículo fue analizar la tendencia de la mortalidad y la morbilidad por tos ferina en Colombia entre 2002 y 2012. Se trató de un análisis de tendencias derivado de fuentes secundarias de información y basado en los datos disponibles en las fuentes oficiales. Tal como se refiere en la sección de materiales y métodos, el estudio fue descriptivo y se remitió específicamente a los certificados de defunción registrados por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística, DANE, y a los casos reportados al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública, SIVIGILA, entre 2005 y 2012.

Los hallazgos no son ajenos a lo registrado por la Organización Mundial de la Salud (OMS), tal como se consigna en la introducción del artículo: "Según la OMS, en la región de las Américas la tos ferina

ha mostrado un comportamiento reemergente en los últimos años” (2,3). En el boletín de alerta epidemiológica por tos ferina del 2012 se informaba que “durante el 2011 e inicios del 2012 se registró un aumento en el número de casos de tos ferina en Argentina, Colombia, Chile, Canadá y Estados Unidos” (4). Además, en el protocolo de tos ferina actualizado en el 2015 se señala que “según el Instituto Nacional de Salud, la cobertura de vacunación en la población permanece en 80 %, y los últimos tres picos de la enfermedad se registraron en 2006, 2009 y 2012” (5), lo cual indica el aumento de los casos de la enfermedad a nivel nacional, pero no implica en absoluto que no se lleve a cabo la vigilancia, o que no haya habido avances y ajustes técnicos y tecnológicos para dar respuesta a esta situación de interés en salud pública.

La claridad con respecto a los datos utilizados para el análisis constituye un punto sensible, y consideramos que sería más efectivo solicitarla a la fuente misma, ya que la información sobre los casos se registró respetando la forma de reporte adoptada por el DANE. Aunque se sabe que el único agente causal de la tos ferina es *Bordetella pertussis*, también debe respetarse la fuente de los datos y la forma en que allí se presentan, así como reconocer que en un estudio basado en una fuente secundaria, el sesgo de información siempre estará presente, precisamente porque se debe utilizar el dato tal como se encuentra en los registros y las bases de datos. De otro lado, es importante tener en cuenta que el estudio no se centró en la consideración y discusión de las fuentes de las cuales el DANE tomó los datos para el registro de cada defunción, pues se trataba de una fuente oficial a la que consideramos confiable.

Opinamos que es respetable pero poco pertinente sugerirle a los investigadores el tipo de notificación que debieron haber tenido en cuenta en el análisis de los casos para dar cuenta de la mortalidad por tos ferina, ya que el interés del estudio era el análisis de su tendencia en Colombia. Además, en la sección de discusión del artículo, se reconoce claramente la dificultad que se presentaba con los datos y se señala lo siguiente: “aún se observan falencias en los registros de las fuentes utilizadas, ya que se notó la ausencia de muertes en otros grupos de población y que en 80 % de los certificados de defunción se registró como causa básica de la muerte la tos ferina no identificada...” (6), situación que fácilmente puede presentarse en un país en el que existen simultáneamente la facilidad total para hacer análisis confirmatorios

por el laboratorio de los casos de la enfermedad y, asimismo, dificultades innegables para hacer dichos análisis debido a múltiples razones.

Por otro lado, es claro que nuestro estudio no se centraba en las tendencias de mortalidad por tos ferina en Colombia a partir de casos confirmados mediante técnicas de laboratorio. Ese sería otro análisis, que el Instituto Nacional de Salud podría realizar precisamente para constatar cómo varían los resultados de un estudio en función del cambio en la pregunta de investigación y evidenciar indicadores de gestión y mejoramiento de las pruebas diagnósticas y de la vigilancia activa implementadas por el Instituto, entre otros aspectos.

Es respetable que se considere como incorrecto afirmar que “la búsqueda activa de tos ferina en Colombia se inició en el 2010 y que, aunque se clasificaba como “evento de interés en salud pública” desde tiempo atrás, el control epidemiológico y la notificación obligatoria solo se exigieron a partir de ese año, lo cual explicaría el aumento de casos observado en el 2011 y el 2012, así como el incremento de los registros de mortalidad por tos ferina en el 2012”. Sin embargo, los mismos argumentos que se dan para considerar la afirmación como incorrecta sirven para sustentar el contenido de dicho párrafo, máxime cuando en la discusión del IQEN, vol.19, No.12, del 30 de junio de 2014, publicado por el mismo Instituto Nacional de Salud, se afirma que: “De acuerdo a los datos anteriores, podemos señalar que aunque se menciona que existe un resurgimiento de la enfermedad a nivel mundial, en el caso de Colombia se ha evidenciado que el mejoramiento en la vigilancia de tos ferina a través de los años ha permitido una mejor identificación y captación de casos de los profesionales de la salud por medio las capacitaciones y la inclusión en los últimos años de nuevas técnicas”. Ello indica, evidentemente, que los factores allí mencionados produjeron un aumento de la notificación y el mejoramiento del proceso de vigilancia y control, lo cual no es negativo, sino por el contrario, una condición que ha permitido al país avanzar en la vigilancia de una enfermedad de interés en salud pública cuyos casos han aumentado, tal como se menciona en la introducción y en la discusión del artículo, y como lo han reconocido las alertas emitidas por la Organización Mundial de la Salud y la Organización Panamericana de la Salud.

En lo concerniente a lo señalado en la carta al editor sobre la mención en nuestro artículo de “10.470 casos de tos ferina [...] entre 2005 y 2012”,

y la afirmación de que “la cifra oficial del Sivigila para el período 2008-2012 fue de 23.032 casos notificados, de los cuales 6.156 se confirmaron”, debemos aclarar que esta cifra se obtuvo de los archivos de vigilancia disponibles en el sitio oficial del Instituto Nacional de Salud en Internet, los cuales corresponden a los casos notificados entre 2005 y 2012 por las entidades territoriales y registrados por semana epidemiológica. Los datos del DANE sobre el número de muertes y los casos notificados según los datos disponibles en la página del Instituto Nacional de Salud se verificaron (7) y coinciden con lo que se reporta en el artículo.

Esperamos haber dado respuesta satisfactoria a la carta enviada al editor de la revista *Biomédica*, con lo cual se evidencia la transparencia en el proceso de publicación de la revista tanto en lo concerniente a la evaluación por pares como en la validación interna de los manuscritos sometidos a publicación.

Doris Cardona Arango
Angela María Segura Cardona
María Osley Garzón Duque
Mateo Calle
Maite Catalina Agudelo

Referencias

1. **Cardona D, Garzón MO, Calle M, Agudelo MC, Segura Á.** Tendencia de la mortalidad y la morbilidad por tos ferina en Colombia, 2002-2012. *Biomédica*. 2016;36(3):9
2. **Muñoz M, Garzón C, Díaz I, Crespo P, Fernández M, Espino R.** Estrategia Nido para la prevención de tos ferina: una herramienta para el pediatra. *Vox Paediatrica*. 2013;20:22-4.
3. **World Health Organization.** Immunization surveillance, assessment and monitoring. Fecha de consulta: 4 de septiembre de 2014. Disponible en: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/en/.
4. **Organización Mundial de la Salud.** Alerta epidemiológica tos ferina (coqueluche). Fecha de consulta: 26 de noviembre de 2014. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=17052&Itemid.
5. **Instituto Nacional de Salud. Ministerio de la Protección Social de Colombia.** Protocolo de Vigilancia en Salud Pública. Tosferina. Fecha de consulta: 6 de marzo de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Tos%20ferina.pdf>.
6. **Spector TB.** Pertussis. *Med Clin North Am*. 2013;97:537-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcna.2013.02.004>
7. **Instituto Nacional de Salud.** Vigilancia Rutinaria. Fecha de consulta: 26 de noviembre de 2014. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/vigilancia-rutinaria.aspx>

IN MEMÓRIAM

Hernando Groot Liévano (1917-2016)

Jorge Boshell Samper

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

Los últimos cuatro meses, sus hijos y sus nietos se turnaron a la cabecera de su lecho para cuidarlo cariñosamente y en forma permanente, con el propósito de disminuir, en lo posible, ese sufrimiento que terminó por fin con su partida. Siento una gran tristeza al escribir estas palabras de despedida para mi amigo, relación que comenzó siendo él profesor en la Universidad de los Andes, y el padre de los Groot –mis amigos de infancia y juventud– y que más tarde, ya en el Instituto Nacional de Salud, se convertiría en mi profesor permanente en asuntos de la vida, mi consejero, mi tutor, mi confidente.

Por eso, quiero iniciar transcribiendo un aparte de las lindas palabras de despedida expresadas por Ana María, en nombre de todos sus nietos, porque son el mejor ejemplo de su instinto como abuelo sabio y divertido:

“[...] Siempre nos enseñó a oír música en los cantos de los pájaros, a hacer poesía a partir de la grandeza de la oscuridad que sentíamos en la sabana de Nemocón, de la luz de las velas que iluminaban la noche en los llanos del Meta, de las incontables estrellas que nos hacía contar cuando el cielo estaba estrellado[...]”,

y, también, el párrafo final de su despedida:



“[...] siempre vivirás en nuestros corazones y en el corazón de nuestros retoños, porque nos encargaremos de que cada miembro de esta tribu que sigue creciendo, no olvide tus enseñanzas, tus historias mágicas y llenas de ingenio, tus valores, tus principios y, sobre todo, esa capacidad tuya de amar, única y particular, siempre expresada con los gestos más increíbles como un simple coscorrón en la cabeza[...]”.

El doctor Groot, uno de los científicos más ilustrados, serenos y profundos que tuvo el país desde 1935, y un profesor que seguirá brillando como modelo, se graduó como médico de la Universidad Nacional en 1939; entre sus profesores, recordaba siempre con especial devoción al doctor César Uribe Piedrahita, de cuya cátedra de Parasitología fue preparador por concurso. Igual ocurría con el doctor Roberto Franco, quien con su ejemplo le dio forma al interés del doctor Groot por las ciencias biológicas aplicadas a la medicina del trópico. A los 20 años, siendo estudiante, escribió su primera publicación científica y, ya graduado de médico, obtuvo su título *cum laude* de máster en Salud Pública de la Universidad de Harvard en 1942.

Desde entonces, sus estudios fueron una conquista científica para resolver problemas de salud pública importantes en su momento, siempre con una disciplina intelectual llena de imaginación e inteligencia, en el inicio de su carrera, sobre enfermedades bacterianas como la bartonelosis, las diarreas bacterianas o el tifo exantemático, luego, sobre enfermedades parasitarias como la tripanosomiasis y, finalmente, con sus originales trabajos sobre los virus transmitidos por artrópodos de importancia en Colombia y en América, publicaciones que son clásicos en la literatura científica. Todo esto se refleja en más de 150 publicaciones en revistas científicas del mundo, en libros de texto de Medicina Tropical, y en documentos técnicos de referencia universal.

Su dedicación a la vida científica se inició en el Laboratorio Samper Martínez y en el Instituto Finlay, instituciones que más tarde dieron origen al Instituto Nacional de Salud, en donde dirigió la producción industrial de la vacuna contra la fiebre amarilla que tuvo distribución universal por muchos años, el Laboratorio de Arbovirus, que dirigió hasta su consolidación como referencia regional, y el Instituto mismo, del cual fue en hora buena su Director General.

Contribuciones de alcance universal

Entre sus trabajos, se destaca el descubrimiento del ciclo de *Trypanosoma rangeli* en el insecto transmisor, su forma de transmisión por picadura y su inocuidad para el hombre. Estos estudios los llevó a cabo en el río Ariari, por lo cual propuso nombrarlo *Trypanosoma ariarii*, aunque él mismo encontró, posteriormente, que se trataba del mismo parásito descrito como *T. rangeli* por De León, Pifano y Hernández de Paredes.

En 1947, describió la enterobacteria responsable de la diarrea infantil en Bogotá, hoy conocida como *Salmonella enterica* serovar *arizonae*, que había sido descrita hasta entonces solo entre pavos, pollos y serpientes de cascabel.

En la década de los cincuenta, tal vez en 1953, hizo con mi tío, el doctor Jorge Boshell Manrique, un estudio muy interesante sobre las epidemias de fiebre amarilla de Centroamérica. Demostraron cómo la enfermedad había viajado por las selvas americanas a partir de una epizootia de monos que se inició en Colombia, y pasando el canal de Panamá pudieron seguirla hasta Guatemala. Creo que fue allí donde mi tío Jorge le enseñó algo que, en alguna ocasión, él me transmitió: “cuando entramos al monte, debemos tener clara la pregunta que queremos hacer, porque, de lo contrario, el monte no nos contesta”.

En cuanto a otros arbovirus, en 1955, el doctor Groot describió, en el Magdalena medio colombiano, el primer caso humano conocido de infección silvestre por el virus de la encefalitis equina venezolana, una modalidad epidemiológica nueva para la salud pública y la medicina.

Por otra parte, estudió con detalle las tres primeras grandes epidemias de dengue que tuvo el país a partir de la desafortunada reinfestación del mosquito transmisor, *Aedes aegypti*, en 1971, las cuales afectaron a más de tres millones de personas en todo el territorio nacional en menos de tres años. En relación con el virus de la fiebre

amarilla, además, pudo demostrarle al país que la vacuna contra esta enfermedad protegía por 17 años, lo cual permitió que hoy la Organización Mundial de la Salud haya extendido la vigencia internacional de la vacunación a toda la vida.

Por último, debo mencionar su estudio clásico con sueros humanos recolectados en todo el país, desde la Guajira hasta el Amazonas, mostrando la circulación de otros arbovirus americanos, como Ilheus, Bussuquara y Mayaro, además de la circulación endémica de los virus del dengue antes de 1952, lo cual complementó con el descubrimiento del virus Guaroa, que causaba infecciones inaparentes en la población de San Carlos de Guaroa, en los llanos del Meta, en medio de una epidemia de dengue.

El valor de estas contribuciones lo convirtieron en asesor de los programas científicos de la Organización Panamericana de la Salud, donde fue presidente del Comité Científico Asesor durante varios años, así como miembro de excepción de su Comité de Expertos sobre Dengue y Fiebre Amarilla, asesor para la Biblioteca Regional de Medicina de São Paulo, del Centro Epidemiológico del Caribe, del Laboratorio Gorgas de Panamá y del Centro de Investigaciones Médicas de Cali. En este mismo sentido, representó a Colombia en el Comité Científico Asesor de la Organización Mundial de la Salud en Ginebra y en el Comité de Ciencias de la Comunidad Económica Europea en Bruselas. Los resultados de estas asesorías se encuentran en documentos impresos, particularmente valiosos por los análisis y las recomendaciones que contienen.

El temperamento educador de Hernando Groot comenzó en 1944, cuando se le encargó la cátedra de Parasitología de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Javeriana. Posteriormente, en la recientemente fundada Universidad de los Andes, organizó el curso premédico y la Facultad de Ciencias.

El doctor Groot fue Secretario Perpetuo de la Academia Colombiana de Medicina y también su Presidente, Vicepresidente de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, miembro de la Academia Colombiana de la Lengua, presidente del Tribunal de Ética Médica y miembro de varias sociedades científicas y culturales del país.

Hace unos años, uno de sus grandes amigos en el extranjero, el científico Karl Johnson, descubridor de la fiebre hemorrágica de Argentina, se refirió a él con estas palabras:

“[...]uno de los genuinos caballeros de este planeta: el doctor Hernando Groot es uno de los amigos más entrañables jamás conocido en el curso de mi vida como científico y trabajador de campo. Ha sido un médico connotado, pero sobretodo un científico ecológico y de la ciencia médica, quien, además, ha liderado todos los temas imaginables para servir con todo su aliento a su querida Colombia a lo largo y ancho de su territorio. He tenido la feliz oportunidad de viajar con él a pie, en jeep, en burro o canoa, en experiencias siempre enriquecedoras, y en algunas ocasiones simplemente desconcertantes. Recuerdo muy especialmente aquel viaje por la Costa Caribe, desde Santa Marta y por la exuberante selva húmeda tropical, por las trochas que posteriormente se convertirían en la gran autopista a la Guajira. Su permanente diálogo inquisitivo, era siempre lleno de humor y extraordinariamente efectivo para obtener con

precisión la información requerida sobre los mosquitos, la vida silvestre y las enfermedades febriles que estudiábamos.

Un hombre como este es irreplicable. Si alguna vez ha habido alguien que haya utilizado todo su talento y toda su educación para mejorar la calidad de vida de sus semejantes, ese ha sido Hernando Groot. Espero tener la oportunidad de agregar aún más sobre él cuando cumpla sus 100 años”.

Termino la despedida de esta persona excepcional con las palabras que pronunciara el maestro Valencia en memoria de Juan Evangelista Manrique, otro médico ilustre:

“[...] Mis palabras son al fin palabras, tributo efímero que se pierde al nacer. De muchísimos ojos están brotando lágrimas, idioma divino que lo expresa todo bajo la gracia del silencio... Cuando queda quien llora, no se debe hablar[...]”.

Biomédica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
Volumen 36, números 1, 2, 3, 4, suplementos 1 y 2

Lista de evaluadores 2016

El Comité Editorial de Biomédica agradece a los evaluadores nacionales y extranjeros por su contribución al continuo avance de la revista.

Acevedo Oscar Alberto	Castaño John Carlos	Gallego Juan Carlos
Acosta Amparo	Castillo Fátima Martha	Gálvez Paulina
Acosta Ángela	Castro José Luis	Gamboa Edna Magaly
Acosta Orlando	Chaparro Pablo	García Andrea Milena
Agudelo-Flórez Piedad	Chavarriga Marcia	García Jenny
Álvarez Martha Isabel	Cid-Arregui Ángel	García Julieta
Amaya Irma Yvonne	Contreras Adolfo	García Luis Fernando
Ángel Luis Alberto	Contreras Carmen	García Manuel
Aponte Angélica	Cortés Armando Daniel	García Natalie
Arango Myrtha	Cortés Edgar	García Paola Karina
Arboleda Humberto	Cortés Jorge Alberto	García-Rejón Julián E.
Arboleda Margarita	Crespillo Manuel	Garza Manuel
Arduino Roberto	Cruz Adriana	Giambini Hugo
Arias Ianellen	Cruz David	Gilbert Michele Julia
Aristizábal Fabio A.	Cucunubá Zulma	Giraldo Julio Cesar
Arteaga Clara Eugenia	Cuervo Claudia Liliana	Gómez Beatriz
Avalos-Rodríguez Ana Cecilia	Cuervo Luis Gabriel	Gómez Carlos Hernando
Baldión Margarita	Cuervo Patricia	Gómez José Fernando
Ballesteros Magnolia Pilar	Cuervo Sonia Isabel	Gómez Julio César
Barbosa Arnoldo	Cueto Sergio	Gómez Virgen
Barrera María del Pilar	Curcio Carmen Lucía	Gómez-Dantés Héctor
Barreto Bruno	Damasceno Débora	Gómez-Román Javier
Bejarano Eduar Elías	De Góes Cavalcanti Luciano Pamplona	Gonçalves Rossi Livia Maria
Beltrán Mauricio	De Las Salas Roxana	González Andrés
Benítez Beatriz	Del Castillo Sara Eloisa	González Jhon Mario
Bermúdez Antonio	Delfraro Adriana	González-Granado Luis Ignacio
Bermúdez Sergio	Delgado Yanny	González-Santamaría José
Bernal Oscar Alberto	Di Filippo Diana	Gortázar Christian
Borges Edgar	Díaz Francisco Javier	Granados Claudia Marcela
Borracci Raul Alfredo	Domínguez Víctor Manuel	Grillet María Eugenia
Brant Jonas	Donado Jorge Hernando	Groisman Boris
Briceño Leonardo	Dos Santos Sigrid de Souza	Gualtero Sandra
Brieva Claudia Isabel	Duarte Ricardo	Guerrero Carlos Arturo
Cabrera Olga Lucía	Duque Sofía	Gutiérrez Cristian
Cadena Horacio	Ebmeier Klaus	Gutiérrez Johanna
Cadena Miguel Oswaldo	Escobar Carlos Hugo	Gutiérrez Sonia Jackeline
Calati Raffaella	Escobar Luis Emilio	Hernández Eric
Calvo Cristina	Eslava Javier Hernando	Hernández Geni
Calvo Eliana Patricia	Espinosa Francisco Javier	Hernández Patricia
Camelo Gloria Zoraya	Esteban Lyda	Hernández-Cuervo Helena
Cano Carlos	Estrada Laura Olivia	Herrán Óscar Fernando
Cardona Dora	Falcón-Lezama Jorge Abelardo	Hidalgo Marylin
Carpio Ricardo	Fernández-Niño Julián Alfredo	Hidalgo Patricia
Carranza Julio César	Ferrer Elizabeth	Holguín Jaime
Carrasquilla María Cristina	Figueras Albert	Honório Nildimar Alves
Carvajal José Nelson	Forero Ana Yiby	Hoyos Richard
Casas Isabel Cristina	Franco Carlos	Idrovo Álvaro Javier
Castañeda Carlos	Franco Roberto	Isaza Carlos
Castañeda Oneida	Frías José Antonio	Jaramillo Ernesto
Castaño Giovanni		Jaramillo Sergio
		Jiménez Antonio

Kristensen-Cabrera Alexandria
Laguna-Torres Alberto
Landázuri Patricia
León Héctor Guillermo
Lima Júnior Raimundo S.
Linares Teresa Adriana
Llerena Claudia
López Luis E.
López Myriam Consuelo
Loroño-Pino María Alba
Luarte Soledad
Machado Jorge Enrique
Maestre Ronald
Manrique-Saide Pablo
Martínez José Alejandro
Martínez José Guadalupe
Martínez José William
Matta Lorena
Mena Marisa
Méndez Jairo
Mendoza Azael
Mendoza Nohora Marcela
Mesa Catalina
Mesones Óscar Martín
Milke María del Pilar
Mirazo Santiago
Molina Jorge
Montero Regina D.
Morales Olga Lucía
Morelli Adrián E.
Moya José
Muñoz Juan Manuel
Murcia Martha
Mussali Patricia
Navas María Cristina
Niño-Mantilla María Eugenia
Niño-Solinis Roberto
Ochoa María Teresa
Ojeda Diego Armando
Olano Víctor
Oliveros Margarita
Orantes María Eva
Ospina Olga Lucía
Pachajoa Harry
Padilla Julio César
Páez Marco Antonio
Pamplona Mosimann Ana Luiza

Parra Beatriz
Parra Diana
Parra Gabriel Jaime
Patrón Alfredo
Peniche Alex Giovanni
Peña Carlos Arturo
Pérez de León Adalberto
Pérez María Teresa
Pérez Mauricio
Perilla Jairo Ernesto
Pinzón Carlos Eduardo
Pizarro Rolando
Polo Luis Joaquín
Ponce Martha
Porras Gloria
Portela Câmara Fernando
Prieto Franklyn
Pujol Flor Helene
Quintero Mario Andrés
Raba Margaret
Rabagliati Ricardo
Ramírez José Luis
Ramírez Paula Camila
Ramos Clelia Rosa
Ré Viviana
Restrepo Bertha Nelly
Restrepo Rodrigo
Rey Gloria
Reyes Jheremy Enrique
Reyes Matías
Ribeiro Diana
Ricaurte Orlando
Rivero Zulfey
Rodas Juan David
Rodríguez Gerzaín
Rodríguez Javier
Rodríguez Rosalba
Rodríguez Yenni
Rodríguez-Abreu Julia J.
Rodríguez-Morales Alfonso Javier
Rodríguez-Noriega Eduardo
Rodríguez-Villamizar Laura A.
Rojano Benjamín
Rojas Armando
Rojas de Arias Antonieta
Rojas Diana
Rua Guillermo L.
Ruiz Elizabeth

Saavedra Nathalia Alexandra
Salamanca Omar
Saldarriaga Wilmar
Salgado Doris
Samudio Ismael
Sánchez Claudia
Sánchez Francisco Javier
Sánchez Jorge Mario
Sánchez Julián
Sánchez Miguel Ángel
Santamaría Erika
Santos Óscar
Segovia Javier
Segura Ángela
Siller Fernando
Silva Edwin
Silva Martha Milena
Silveira Guilherme F.
Solana Hugo
Suárez Amaranto
Suárez Gloria
Suárez Marco Fidel
Taja-Chayeb Lucía
Torner Luz
Torres Carlos Arturo
Torres Diana
Trejos Deccy Yaneth
Trejos Elizabeth
Troncoso Julieta
Ucrós Santiago
Ulloa Juan Carlos
Uribarren Berrueta Teresa
Usme José A.
Vallejo Gustavo
Vallejos Álvaro
Varona Marcela Eugenia
Velasco-Villa Andrés
Velásquez Juan R.
Velásquez Margarita
Venegas Mauricio
Vesga Juan Fernando
Vidal Roberto
Villamil Luis Carlos
Villamil Wilmer
Villaseñor Carlos
Villegas Andrés
Ximénez Cecilia
Zambrano Lysien

Biomédica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
Volumen 36, números 1, 2, 3, 4, suplementos 1 y 2

Índice de autores

- Abaúnza Claudia, 176
Acero Felipe, s2-169
Acosta Johanna, 390
Achkar Marcel, 583
Agudelo Maite Catalina, 397
Albores Arnulfo, 309
Aldana Elis José, 354
Álvarez Carlos Arturo, 265
Álvarez Carlos Arturo, a nombre del Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá (GREBO), 612
Álvarez Carlos, s1-69
Alzate Juan F., 39
Amaya Daniel, 10
Aquino-Teixeira Márcia Cristina, 519
Aranda Diego, 378
Arboleda Diana, s2-98
Arce Stephania, s2-98
Ardila Natalia, s1-69
Ardila Susanne, 438, s2-25
Arévalo-Arévalo Juan Manuel, 258
Arias Isis, 52
Arias-Murillo Yazmín Rocío, s2-187
Arias-Ortiz Paola Mariana, 612
Arisemendi Lina, s2-135
Aristizábal-Alzate Arbey, 213, 498
Aristizábal-Pachón Andrés Felipe, 593
Ariza Beatriz, s1-69
Artiles Daniel, 230
Asprilla Jimmy, 438
Astaiza Juan Manuel, 525
Astete-Robilliard Laura, 220
Atencia María Claudia, 432
Avella-Vargas Esperanza, 91
Avenidaño-Rangel Francys, 354
Ávila Juan Carlos, 121
Báez Paula Andrea, s2-135
Barbosa Mario M., 133
Barrera Ana Madeleine, 504
Barrera Roberto, 454
Barreto Jackeline, s1-23
Bedoya Ana María, 213
Bejarano Eduar Elías, 295, 432
Beltrán Mauricio, s2-187, s2-194
Benavides Allan, s2-98
Benavides Carmenza Janneth, 525
Benavides Jhonattan, s1-23
Benavides-Arias Diana, s2-56
Bequer Leticia, 230
Bermúdez Martha, 390
Bermúdez Rosa, 230
Bermúdez-Forero María Isabel, s2-194
Berrío-Pérez Maritza, s2-194
Betancourt Patricia, 525
Bohórquez Sonia P., s2-201
Bolaños Kelly, 509
Botero Jorge H., 39
Buendía Jefferson Antonio, 406
Burgos Ana Esperanza, 603
Bustamante Delia, 285
Bustamante Julián, s1-78
Bustos-Vázquez Eduardo, 188
Cáceres Sergio, 176
Caez Clara, 564
Caldas María Leonor, 174
Caldera Sandy Milena, 432
Calderón Libia del Pilar†, 612
Calvo Eliana Patricia, s1-97, s2-35
Calle Mateo, 397
Camacho Sigrid J., s2-156
Cantor Astrid, 603
Caraballo Luis, 463
Cárdenas-Cárdenas Luz Mery, s2-44
Cardona Dora, 423
Cardona Doris, 397
Cardona Ricardo, 463
Carillo Hilana Paula, 156
Caro María Alejandra, s1-69
Carreño Numinán, s1-118
Carvajal José Joaquín, 438
Castañeda-Orjuela Carlos Andrés, 572, s2-44, s2-125
Castaño Tatiana, s1-78
Castellanos Jaime E., 5, s2-5, s2-35s2-156, s2-201
Castellanos María Fernanda, s2-10
Castillo José Orlando, 368
Castillo Juan Sebastián, 612
Castro Derly, 390
Castro-Guerra Dinorah, 78
Cepeda Alfonso, 463
Cerón Jeimmy, 619
Cifuentes Ricardo A., 91
Cifuentes Yolanda, 22, 101
Clapés Sonia, 230
Clemente Gerardo, 121
Cock-Rada Alicia María, 182
Cochoero Suljei, 432
Colmenares Melisa Carolina, 603
Coll Yadir, 204
Contreras-Gómez Lady, s2-69
Córdoba Rodrigo Nel, 341
Coronel-Ruiz Carolina, s2-35
Corral-Prado Raúl Helí, s1-29
Correa Stefanya, s1-64
Cortés Jorge Alberto, 612, s2-187
Cortés-Mancera Fabián, s2-79, s2-135
Cotes-Cantillo Karol, 572
Cubides Ángela, s2-98
Cuenca Ángela, s1-23
Chablé-Santos Juan, s1-45
Cháin Miguel, s2-10
Chala Andrés, s2-14
Chaparro Mauricio, s2-201
Chaparro-Narváez Pablo, 572, s2-125
Chaparro-Olaya Jacqueline, s1-97
da Costa-Ribeiro Jr Hugo, 519
Dávila Claudio Alberto, 415
de Almeida-Mendes Patrícia Silva, 519
de Donato Marcos, s1-118
de Vries Esther, 547
de Vuono Giovanni, 564
Del Castillo Sara E., 109
Dennis Rodolfo, 276
Díaz Juliana, s2-201
Díaz Silvia Patricia, 438
Díez Susana, 463
Dueñas Zulma, 67
Dueñas Magally, 423
Duque-Jaramillo Alejandra, s2-79
Dzul Karla, s1-45
Echeverri-Cataño Luis Felipe, 59
Eriira Alveiro, s2-14
Escalante-Mora Martha, s2-69
Escandón-Vargas Kevin, s1-29
Esteve-Gassent María Dolores, s1-109
Estupiñán Marcela, s2-201
Faveri Marcelo, 156
Feres Magda, 156
Fernández-Niño Julián Alfredo, 188, s2-44
Figueiredo Luciene Cristina, 156
Figueiredo-Pacheco Flavia Thamiris, 519
Figueroa Claudia Lucía, s2-148
Flórez Adriana Alejandra, 498
Fraga Jorge, s1-37
Franco José Luis, 204
Gálvez Kenny Mauricio, 498
Gamboa Frey, s2-14
Garavito Pilar, 52
García Dabeiba Adriana, s2-14
García Elizabeth, 463, 632
García Esperanza, s1-23
García Gisela M., 39
García-Blanco Sandra, s2-194
García-Pinillos Felipe, 258
Garzón María Osley, 397
Gélvez Margarita, s2-148
Gélvez Nancy, 390
Gil Fabián, s1-69
Giraldo Nelson Darío, 213
Gómez Carlos Ignacio, s1-15
Gómez Giovan F., 303
Gómez Sandra Milena, s1-9
Gómez Tahiry, 230
Gómez Vanessa, s1-128
Gómez-Camponovo Mariana, 583
González Marco, 220
González María Mercedes, s2-135
González Pedro Felipe, s1-69
González-Jurado José Antonio, 343

González-Mazo Ana, 303
 González-Parra Gilberto, 378
 Gracia Beatriz, 509
 Groot Helena, 475
 Guerra Ángela Patricia, s1-97
 Guzmán Blanca Lisseth, s2-169
 Guzmán Miguel, s1-5
 Hernández Enio, 52
 Hernández Mauricio, s2-98
 Hernández-Ávila Juan Eugenio, s2-44
 Herrán Óscar F., 109
 Herrera Adela Isabel, 509
 Herrera Víctor Mauricio, s2-89
 Herrera-Hernández Andrea Magally, s2-194
 Hidrón Alicia Inés, s1-9
 Honorio Nildimar Alves, 438
 Ibáñez-Pinilla Milcíades, 285
 Idrovo Álvaro J., 583
 Inés Elizabete de Jesus, 519
 Jaimes Nancy, 603
 Jaramillo Carlos Mario, s2-135
 Jaramillo María Cristina, 432
 Karduss Amado, 204
 Klímová Katerina, 121
 Koyoc-Cardaña Edgar, s1-45
 Laiton-Donato Katherine, s2-25
 Langebaek Carl Henrik, 475
 Larcher Priscila, 156
 Latorre-Román Pedro Á., 258
 Leal Aura Lucía, 612
 León-Castañeda Olga Mercedes, 556
 León-Quevedo Willian, 572, s2-125
 Lince Beatriz, 564
 Lizarazo Jairo, s2-10
 Londoño-Builes Manuel José, 59
 Lopera Sandra Lucía, 213
 López Greizy, 390
 López Jessika Lisseth, s1-64
 López Juan Álvaro, 204
 López Juan Felipe, 632
 López Karen, s1-51
 López Karina, s1-45
 López Óscar, s1-23
 Low-Calle Ana María, s2-201
 Loyola-Romaní Jessica, 220
 Lozano Ana Milena, 632
 Luengas Laura Lizeth, s2-89
 Luiggi Jesús, s1-118
 Macía Carmenza, s2-108
 Machado-Alba Jorge Enrique, 59, 251
 Manrique-Saide Pablo, s1-45
 Manterola Carlos, 29
 Marín Marcel, s1-37
 Martínez Camilo, s2-25
 Martínez Julio César, 535
 Martínez Yudy Liceth, s1-64
 Martínez-Ortiz Daly, s1-45
 Martínez-Vargas Daniel, s2-69
 Matta Lorena, 133
 Medina-Barreiro Anuar, s1-45
 Mendoza Rosa Virginia, 603
 Meneses María Ximena, 547
 Mesa Jairo A., 39
 Michelli Elvia, s1-118
 Michelli Mirian, s1-118
 Millán Adriana, s1-118
 Minotas María, 463
 Misnaza Sandra Patricia, 359
 Molano-Hurtado Jaime, 556
 Molina Francisco, s2-135
 Molina Gustavo, 182
 Molina José Luis, 230
 Molina Verónica, s1-15
 Moncada Diana Carolina, s1-9, s1-15
 Moncada Juan Carlos, 251
 Monroy Ángela Liliana, s1-90
 Monsalve Stefany, 447
 Montalvo Ana M., s1-37
 Montano Ivón, s1-37
 Montes Melisa, s1-15
 Montoya Juan José, 556
 Monzote Lianet, s1-37
 Mora Ana María, s2-108
 Morales-Plaza Crithian D., 133
 Moreno Andrey, s2-14
 Moreno Freddy, 140
 Moreno José, 583, 612
 Moreno Sandra Milena, 140
 Moreno-Gutiérrez Paula Andrea, 251
 Motta Leidy Angélica, s2-14
 Muñoz Claudia Marcela, 368
 Muñoz Sindy M., 239
 Murcia Martha I., 22
 Murillo-Rojas Juan, 91
 Muskus Carlos, s1-37
 Nava Gerardo, s2-169
 Navas María Cristina, s2-79, s2-135
 Nazaré-Pembele García, 149
 Neira Marcela, 174
 Neissa José I., s2-156
 Nicholls Santiago, 495
 Niederbacher Jürg, s2-148
 Nieto-Ríos John Fredy, 213, 498, s1-9
 Núñez Fidel Ángel, 149
 Ocampo-Kohn Catalina, 213, 498
 Ochoa Alejandra, 121
 Ochoa-Orozco Sergio Andrés, 59
 Olano Víctor Alberto, 169
 Olave Ana M., 39
 Omaña Claudia Rosa, s2-10
 Orjuela-Falla Guillermo, s2-194
 Orrego Julio César, 204
 Osorio Johanna, s1-23
 Osorio-Arango Karime, s2-187
 Ospina Marta C., s2-79
 Ospina Sigifredo, s1-78
 Ossa Carlos Andrés, 182
 Otero-Saborido Fernando Manuel, 343
 Pachajoa Harry, 556
 Pacheco Robinson, s2-108, s2-179
 Padilla Camilo, 121
 Páez Andrés, s2-25
 Páez Malvina, 583
 Palacio-Mejía Lina Sofía, s2-44
 Palacios-Vivero Mariel, s2-69
 Palomino-Devia Constanza, 343
 Panti-May Alonso, s1-45
 Paradisi Irene, 78
 Pardo Ana Melisa, 415
 Pardo Lisseth, s2-25
 Pardo Patricia, 22
 Parra Édgar, 174
 Parra-Henao Gabriel, 438
 Paternina Luis Enrique, 295
 Patiño Edwin B., 39
 Patiño Gonzalo A., 109
 Pedraza Adriana María, s1-90
 Peláez Dioselina, s2-69, s2-135, s2-169
 Peña Isabel Cristina, 359
 Peñata Adrián, s1-78
 Pérez Luz Adriana, 475
 Pérez María de Jesús, 432
 Pérez-Chaparro Paula Juliana, 156
 Pérez-Olmos Isabel, 285
 Piar Jorge, 22
 Piedrahita-Cortés Juan, s2-116
 Pinto Milena Carneiro, 519
 Piñeros Marion, 547
 Poblete-Naredo Irais, 309
 Polo Gina, 447
 Polo Giovanni Andrés, 525
 Polo Luis, 447
 Porras-Hurtado Gloria Liliana, 556
 Prada Carlos Fernando, s1-90
 Prieto Franklin Edwin, 359
 Prieto Juan Carlos, 390
 Puc Adriano, s1-45
 Querales José F., 378
 Quiceno Sandra Lorena, 556
 Ramírez Ruth, 463
 Ramírez Sindy Vanessa, s2-98
 Rangel Claudia Teresa, 368
 Ratto-Tespestini Anna Carolina, 156
 Rendón Julio César, s2-79, s2-135
 Rico Angélica, s2-25
 Rincón Claudia M., s2-201
 Rivera Jorge, 174
 Riveros-Barrera Irene, 67
 Rocha Yermis Carolina, 204
 Rodríguez Freddy, 475
 Rodríguez Gerzain, 176
 Rodríguez Jesús, 265
 Rodríguez Johanna, s2-169
 Rodríguez Luz Stella, 239
 Rodríguez Sarita, s2-179
 Rodríguez Yuleika, 220
 Rodríguez-Arroyo Greta, 78
 Rodríguez-Laralde Álvaro, 78
 Rodríguez-Núñez Iván, 29
 Rodríguez-Rodríguez Magda Juliana, s2-194
 Rodríguez-Vivas Roger Iván, s1-45, s1-109
 Rodulfo Hectorina, s1-118
 Rojano-Held Nury, 213
 Rojas Lázara, 149
 Rolón Gloria, 52
 Romito Guiseppe Alexandre, 156
 Roncancio Claudia Patricia, 359
 Rondón Martín, 276
 Rosas-Aguirre Ángel Martín, 220
 Rosenzweig Sergio, 204
 Rosso Fernando, s2-108, s2-179
 Rucínque Daniel Santiago, 447

Ruiz Edinso Rafael, 438
 Ruiz Martha, 52
 Ruiz-López Freddy, 303
 Salas Daniela, 368
 Salazar Richard, s1-78, s2-25
 Salmen Siham, 603
 Salomón Oscar Daniel, s1-51
 Sánchez Andrés, 10
 Sánchez Jorge, 10, 463
 Sánchez-Villamil Juana Patricia, 406
 Sandoval Claudia Magaly, 354
 Santini María Soledad, s1-51
 Sarmiento Ashly Melissa, s2-108
 Sarmiento Ladys, 174
 Satie-Takahashi Catarina, 593
 Segura Ana María, 463
 Segura Ángela, 397
 Serna-Higueta Lina María, s1-9, 213, 498
 Serrano Carlos, 463
 Silva Diana Carolina, 368
 Silvera-Redondo Carlos, 52
 Soares Neci Matos, 519
 Soler-Tovar Diego, s2-56, s2-116
 Solís-Henández Analilia, s1-109
 Steinhorst Ingrid Iris, s1-51
 Támara-Ramírez José Roberto, 265
 Tamayo Lenka, 603
 Tamayo Marta L., 390
 Tartaglino Lilian Catalina, s1-51
 Tejada Paola Andrea, s2-98
 Tiga Diana Carolina, s2-89
 Torres Javier, 509
 Torres-Castro Marco, s1-45
 Troncoso Julieta, 619
 Uribe Sandra, 303
 Urman Gabriela, 406
 Usme-Ciro José A., s2-25
 Valderrama Milena Alexandra, 368
 Valderrama Sandra Liliana, s1-69
 Vallejo Cristian, 101
 Vallejo Darío Antonio, 525
 Van der Auwera Gert, s1-37
 Vanegas Sara, s2-179
 Vanegas-Ruiz Juan José, 213
 Vargas Elga, 176
 Vargas Heiddy Patricia, 368
 Vargas Henry A., 276
 Vargas Leslie, 504
 Vargas Sandra, s2-108
 Velandia-Romero Myriam, s2-35
 Velásquez Jorge Byron, s1-15
 Velásquez Luz Elena, s1-64
 Velásquez-Hurtado José Enrique, 220
 Velazco Syrley, s2-35
 Vélez-Bernal Iván Darío, 303
 Vélez-Echeverry Catalina, 213
 Vélez-Mira Andrés, 303
 Verbel-Vergara Daniel, 295
 Vigo Walter Eduardo, 220
 Villamizar Pedro José, 140
 Villamizar Sergio, s2-10
 Villar-Centeno Luis Ángel, s2-89
 Villegas-Pérez Sandra Luz, s1-109
 Vivenes-Lugo Merlyn, 78
 Wasserman Moisés, s1-97, s1-128
 Yepes Ismael de Jesús, 564
 Zakzuk Josefina, 632
 Zavala-Castro Jorge, s1-45
 Zorrilla-Vaca Andrés, s1-29
 Zuleta Luisa, 303
 Zuluaga Gustavo, 498
 Zuluaga Mónica, 498
 Zuluaga-Valencia Gustavo Adolfo, 213

Biomédica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 Volumen 36, números 1, 2, 3, 4, suplementos 1 y 2

Índice de artículos

Editorial

Zika, evidencia de la derrota en la batalla contra <i>Aedes aegypti</i>	5
<i>Aedes aegypti</i> en el área rural: implicaciones en salud pública	169
Suicidio en niños y adolescentes	341
Parasitismo intestinal y su relación con el saneamiento ambiental y las condiciones sociales en Latinoamérica y el Caribe	495
La microbiología médica, columna vertebral de la infectología	s1-5
La virología, más necesaria que nunca	s2-5

Imágenes en biomedicina

Virus de la influenza	174
-----------------------------	-----

Presentación de caso

Urticaria inducible: serie de casos y revisión de la literatura	10
Microcalcificaciones cerebrales en un recién nacido con tuberculosis congénita	22
Eritema necrolítico migratorio y glucagonoma pancreático	176
Síndrome de Li-Fraumeni	182
Tres casos de mieloma múltiple <i>de novo</i> después de trasplante renal	498
Hemosiderosis pulmonar idiopática con osificación pulmonar	504
Tratamiento exitoso de linfocitosis hemofagocítica y coagulación intravascular diseminada secundarias a histoplasmosis en un paciente con HIV/sida	s1-9
Infección orofacial por <i>Conidiobolus coronatus</i>	s1-15
Piomiositis tuberculosa en un paciente inmunosuprimido	s1-23
Proteínas 14-3-3 y tau positivas en un caso de enfermedad esporádica de Creutzfeldt-Jakob y una breve reseña de las enfermedades priónicas en Colombia	s1-29
Hemorragia cerebral secundaria a trombocitopenia por varicela	s2-10

Ensayo

Multimorbilidad: bases conceptuales, modelos epidemiológicos y retos de su medición	188
---	-----

Artículo original

Validación inicial de la escala de medición de esfuerzo percibido infantil (EPInfant) en niños chilenos	29
Producción y evaluación del antígeno recombinante TES-30 de <i>Toxocara canis</i> para el inmunodiagnóstico de toxocarías	39
Análisis del polimorfismo del gen <i>APOE</i> en la población de Barranquilla, Colombia	52
Reacciones adversas a medicamentos en una población colombiana, 2007-2013: análisis de bases de datos	59
La separación materna durante la lactancia altera los niveles basales del sistema neuroendocrino en ratas adolescentes y adultas	67
Polimorfismos de los genes <i>LEP</i> , <i>LDLR</i> , <i>APOA4</i> y sus relaciones con el sobrepeso, la obesidad y el riesgo de enfermedades crónicas en adultos del estado Sucre, Venezuela	78
Predicción de la sensibilidad a la warfarina con base en polimorfismos de los genes <i>VKORC1</i> y <i>CYP2C9</i> en pacientes colombianos	91
Caracterización y seguimiento durante seis meses de una cohorte de recién nacidos con sífilis congénita	101
La transición alimentaria y el exceso de peso en adultos evaluados con base en la Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010	109
Epidemiología de las infecciones bacterianas en pacientes con cirrosis hepática, experiencia de un centro español de atención terciaria	121

Caracterización clínica de pacientes que consultaron por dengue en un hospital de tercer nivel en Cali, Colombia, 2013	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	140
La insuficiencia de conocimientos para el diagnóstico microscópico de la malaria en técnicos de la red de laboratorios de Luanda, Angola	149
Reconstitución inmune exitosa mediante trasplante de células madre hematopoyéticas en un paciente colombiano con enfermedad granulomatosa crónica	204
La lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos como factor temprano de predicción de la función retardada del injerto renal	213
Factores asociados con la anemia en niños menores de tres años en Perú: análisis de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar, 2007-2013	220
Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes	230
Las células dendríticas generadas en presencia de vitamina D3 y activadas con lipopolisacáridos incrementan la producción de IL-1 β , IL-8 e IL-10 y disminuyen su capacidad de inducir LT CD4 ⁺ CD25 ^{hi} Foxp3 ⁺	239
Errores de medicación en pacientes atendidos en servicios ambulatorios de Colombia, 2005-2013	251
Asociación entre la fuerza de las piernas y el área de sección muscular transversal del músculo cuádriceps femoral y el grado de actividad física en octogenarios	258
Pérdida de seguimiento y factores asociados en pacientes inscritos en el programa de HIV/sida del Hospital Universitario San Ignacio, Colombia, 2012-2013	265
Tratamiento farmacológico y deterioro de la función pulmonar en pacientes con diabetes de tipo 2: un estudio de corte transversal	276
Polimorfismo del gen del transportador de serotonina (<i>5-HTT</i>) y trastorno de depresión mayor en pacientes en Bogotá, Colombia	285
Análisis de la adiposidad y la condición física en escolares colombianos	343
Descripción de setas cuticulares externas de cabeza, tórax, patas, abdomen y genitales en cuatro especies de Triatominae	354
Áreas de alta mortalidad perinatal debida a anomalías congénitas: análisis de estadísticas vitales, Colombia, 1999-2008	359
Manifestaciones mucocutáneas atípicas por fiebre por el virus del chikungunya en neonatos y lactantes de Cúcuta, Los Patios y Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia, 2014	368
Predicción de la epidemia del virus sincitial respiratorio en Bogotá, D.C., utilizando variables climatológicas	378
Caracterización fenotípica y molecular de una familia colombiana con fenilcetonuria	390
Tendencia de la mortalidad y la morbilidad por tos ferina en Colombia, 2002-2012	397
Estrategia más costo-efectiva para el diagnóstico de la infección bacteriana grave en lactantes con síndrome febril sin foco	406
Mortalidad por suicidios en Colombia y México: tendencias e impacto entre 2000 y 2013	415
Factores relacionados con el cumplimiento del tratamiento en pacientes con tuberculosis, Pereira, Colombia, 2012-2013	423
Medición de la ingestión de sodio en la dieta de un grupo de niños entre uno y 18 meses de edad en una consulta pediátrica en Cali, Colombia	509
Concordancia entre los métodos de flotación con sulfato de zinc y sedimentación centrífuga para el diagnóstico de parásitos intestinales	519
Determinación de enteroparásitos en <i>Lactuca sativa</i> en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Colombia	525
Factores asociados a la mortalidad por enfermedades no transmisibles en Colombia, 2008-2012	535
Años de vida perdidos como medida de la carga de cáncer en Colombia, 1997-2012	547
Prevalencia de defectos congénitos en Risaralda, 2010-2013	556
Factores de riesgo para la infección por el virus de la hepatitis C en la Costa Caribe colombiana: un estudio de casos y controles	564
Mortalidad por homicidios en Colombia, 1998-2012	572
Evaluación del sistema de vigilancia epidemiológica del dengue en Paraguay entre 2009 y 2011 mediante la ley de Benford	583

Efecto de las alteraciones genéticas y epigenéticas de la cadherina E y su expresión en la transcripción en la propensión al cáncer de mama	593
Efecto citotóxico de los compuestos de inclusión de paladio (II) en la beta-ciclodextrina	603
Factores de riesgo de la resistencia a meticilina de <i>Staphylococcus aureus</i> causante de bacteriemia: estudio multicéntrico de casos y controles emparejados	612
Alteraciones de las células de la microglía del sistema nervioso central provocadas por lesiones del nervio facial	619
Identificación molecular con base en el gen <i>hsp70</i> de aislamientos clínicos de <i>Leishmania</i> spp. en Colombia	s1-37
Detección molecular de <i>Rickettsia typhi</i> en perros de una comunidad rural de Yucatán, México	s1-45
Factores de riesgo, representaciones y prácticas asociadas con la leishmaniasis visceral humana en un foco urbano emergente en Posadas, Argentina	s-51
Evaluación de la técnica modificada de Dennis para el diagnóstico de fasciolosis bovina	s-64
Factores de riesgo para bacteriemia por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> resistente a carbapenémicos adquirida en un hospital colombiano	s-69
Diagnóstico molecular de tuberculosis extrapulmonar y sensibilidad a rifampicina con un método automatizado en tiempo real	s-78
Prevalencia de anticuerpos anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> en mujeres en edad fértil en Socotá, Boyacá, 2014	s-90
Producción de proteínas recombinantes de <i>Plasmodium falciparum</i> en <i>Escherichia coli</i>	s1-97
Prevalencia de <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato en roedores sinantrópicos de dos comunidades rurales de Yucatán, México	s-109
Identificación de <i>Escherichia coli</i> enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezuela	s-118
Inhibición parcial de dos genes que codifican para proteínas del empalmosoma en <i>Giardia intestinalis</i>	s-128
Genotipificación, niveles de expresión y estado físico del virus del papiloma humano en pacientes colombianos con cáncer de células escamosas en la cavidad oral	s2-14
Análisis filogenético del virus del chikungunya en Colombia: evidencia de selección purificadora en el gen <i>E1</i>	s2-25
Diagnóstico diferencial de dengue y chikungunya en pacientes pediátricos	s2-35
Análisis exploratorio de ondulaciones de los patrones de estacionalidad del dengue en Colombia	s2-44
Priorización de enfermedades virales zoonóticas en la interfaz de cerdos silvestres, cerdos domésticos y seres humanos	s2-56
Infección simultánea por el virus de la hepatitis E y de otras hepatitis virales en Colombia y su caracterización genotípica	s2-69
Análisis de genotipos del virus de la hepatitis B mediante el análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción	s2-79
Caracterización del estado de salud de las personas en su periodo de convalecencia de un episodio de dengue	s2-89
Metodología para la elaboración de canales endémicos y tendencia de la notificación del dengue, Valle del Cauca, Colombia, 2009-2013	s2-98
Seroprevalencia del virus linfotrópico humano de tipos I y II en donantes del Banco de Sangre de la Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia, 2008-2014	s2-108
Distribución geográfica del mono aullador rojo (<i>Alouatta seniculus</i>) y la fiebre amarilla en Colombia	s2-116
Comportamiento de la mortalidad por dengue en Colombia entre 1985 y 2012	s2-125
Evidencia de circulación del virus de la hepatitis A, subgenotipo IA, en muestras ambientales en Antioquia, Colombia	s2-135
Reguladores de integridad endotelial como posibles predictores de la gravedad en casos de dengue	s2-148
La infección con el virus del dengue induce apoptosis en células del neuroblastoma humano SH-SY5Y	s2-156
Presencia de virus entéricos en muestras de agua para el consumo humano en Colombia: desafíos de los sistemas de abastecimiento	s2-169
Prevalencia y curso clínico de la infección por dengue en adultos mayores con cuadro febril agudo en un hospital de alta complejidad en Cali, Colombia	s2-179
Seroprevalencia de citomegalovirus en donantes de órganos y receptores de trasplante renal, Colombia, 2010-2014	s2-187

Prevalencia de la infección con el virus linfotrópico de células T humanas de tipo 1 y 2 en donantes de sangre en Colombia, 2001-2014: implicaciones sobre la seguridad de la transfusión	s2-194
Descarga de HSV-1, HSV-2, CMV y EBV en la saliva de receptores de trasplante de precursores hematopoyéticos de la Fundación HOMI - Hospital de la Misericordia, Bogotá, D. C.	s2-201
Comunicación breve	
Comparación entre métodos de cultivo independientes y dependientes para la detección de bacteriemia transitoria en individuos diabéticos con periodontitis crónica	156
Comparación y utilidad de las regiones mitocondriales de los genes <i>16S</i> y <i>COX1</i> para los análisis genéticos en garrapatas (Acari: Ixodidae)	295
Presencia de <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus, 1762) y su infección natural con el virus del dengue en alturas no registradas para Colombia	303
Primer reporte de la mutación F1534C asociada con resistencia cruzada a DDT y piretroides en <i>Aedes aegypti</i> en Colombia	432
Detección de <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) (Diptera: Culicidae) en el municipio de Istmina, Chocó, Colombia	438
Evaluación de la accesibilidad espacial a los puestos de la campaña de vacunación antirrábica en Bogotá, Colombia	447
Revisión de tema	
Biomarcadores moleculares para evaluar el riesgo para la salud debido a la exposición a contaminantes ambientales	309
Recomendaciones para la vigilancia de <i>Aedes aegypti</i>	454
Inmunoterapia con alérgenos: mecanismos de acción, impacto terapéutico y socioeconómico	
Consenso de la Asociación Colombiana de Alergias, Asma e Inmunología	463
Urticaria papular y sus agentes causales en Colombia	632
Nota técnica	
Cuantificación en tiempo real de un conjunto de muestras colombianas de relevancia histórica mediante la detección de un fragmento corto de la región hipervariable II del ADN mitocondrial	475
Cartas al editor	483, 646, s2-211
In memoriam	162, 489, 650

Biomédica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
 Volume 36, numbers 1, 2, 3, 4, supplements 1 and 2

Articles' index

Editorial

Zika: a defeat in the struggle against <i>Aedes aegypti</i>	5
<i>Aedes aegypti</i> in rural areas: Public health implications	169
Suicide in children and adolescents	341
Intestinal parasitism and its association with environmental sanitation and social conditions in Latin America and the Caribbean	495
Medical microbiology: The backbone of infectology	S1-5
Virology, more necessary than ever	S2-5

Images in biomedicine

Influenza virus	174
-----------------------	-----

Case presentation

Inducible urticaria: Case series and literature review	10
Cerebral microcalcifications in a newborn with congenital tuberculosis	22
Necrolytic migratory erythema and pancreatic glucagonoma	176
Li-Fraumeni syndrome	182
Three cases of <i>de novo</i> multiple myeloma after kidney transplantation	498
Idiopathic pulmonary hemosiderosis with dendriform pulmonary ossification	504
Successful treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis and disseminated intravascular coagulation secondary to histoplasmosis in a patient with HIV/AIDS	S1-9
Orofacial infection by <i>Conidiobolus coronatus</i>	S1-15
Tuberculous pyomyositis in an immunosuppressed patient	S1-23
Positive 14-3-3 and tau proteins in a sporadic Creutzfeldt-Jakob disease case and a brief perspective of prion diseases in Colombia	S1-29
Intracerebral hemorrhage caused by varicella-induced thrombocytopenia	S2-10

Essay

Multimorbidity: Conceptual basis, epidemiological models and measurement challenges	188
---	-----

Original articles

Initial validation of the scale of perceived exertion (EPInfant) in Chilean children	29
Production and evaluation of the recombinant antigen TES-30 of <i>Toxocara canis</i> for the immunodiagnosis of toxocaríasis	39
<i>APOE</i> gene polymorphism analysis in Barranquilla, Colombia	52
Adverse drug reactions in Colombian patients, 2007-2013: Analysis of population databases	59
Maternal separation during nursing alters basal neuroendocrine levels in juvenile and adult rats	67
<i>LEP</i> , <i>LDLR</i> and <i>APOA4</i> gene polymorphisms and their relationship with the risk of overweight, obesity and chronic diseases in adults of the State of Sucre, Venezuela	78
Prediction of sensitivity to warfarin based on <i>VKORC1</i> and <i>CYP2C9</i> polymorphisms in patients from different places in Colombia	91
Characterization and six-month follow-up on a cohort of newborns with congenital syphilis	101
Dietary transition and excess weight in adults according to the <i>Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010</i>	109
Epidemiology of bacterial infections in patients with liver cirrhosis. Experience in a Spanish tertiary health center	121

Clinical profile of dengue in patients consulting a tertiary hospital in the city of Cali, Colombia, 2013	133
Management of electronic social networks by students of medicine: The case of publication of photographs with patients and professional medical conduct	140
Lack of knowledge regarding the microscopic diagnosis of malaria by technicians of the laboratory network in Luanda, Angola	149
Successful immune reconstitution by means of hematopoietic stem cell transplantation in a Colombian patient with chronic ranulomatous disease	204
Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as an early predictor of delayed graft function	213
Factors associated with anemia in children under three years of age in Perú: Analysis of the <i>Encuesta Demográfica y de Salud Familiar</i> , ENDES, 2007-2013	220
Streptozotocin diabetogenic action in an experimental neonatal induction model	230
Dendritic cells generated in the presence of vitamin D3 and stimulated with lipopolysaccharide secrete IL-8, IL-1 β , IL-10 and induce relatively low levels of CD4+CD25hiFoxp3+ T cells.	239
Medication errors in outpatient care in Colombia, 2005-2013	251
Association between leg strength and muscle cross-sectional area of the quadriceps femoris with the physical activity level in octogenarians	258
Loss of follow-up and associated factors in patients enrolled in the HIV/AIDS program of the <i>Hospital Universitario San Ignacio</i> , Colombia, 2012-2013	265
Pharmacological treatment and impairment of pulmonary function in patients with type 2 diabetes: a cross-sectional study	276
Serotonin transporter gene (<i>5-HTT</i>) polymorphism and major depressive disorder in patients in Bogotá, Colombia	285
Analysis of adiposity and physical fitness in young Colombian students	343
Description of external cuticular setae of head, thorax, legs, abdomen and genitalia of four Triatominae species	354
Geographic distribution of perinatal mortality due to congenital malformations in Colombia, 1999-2008: An analysis of vital statistics data	359
Atypical mucocutaneous manifestations in neonates and infants with chikungunya fever in the municipalities of Cúcuta, Los Patios and Villa del Rosario, Norte de Santander, Colombia, 2014	368
Prediction of the respiratory syncytial virus epidemic using climate variables in Bogotá, D.C.	378
Phenotypic and molecular characterization of a Colombian family with phenylketonuria	390
Trends in pertussis mortality and morbidity in Colombia, 2002-2012	397
Cost-effectiveness of diagnostic strategies of severe bacterial infection in infants with fever without a source	406
Suicide mortality in Colombia and México: Trends and impact between 2000 and 2013	415
Factors related to treatment adherence in patients with tuberculosis in Pereira, Colombia, 2012-2013	423
Measurement of dietary sodium intake in a group of children from one to 18 months of age in a pediatric service in Cali, Colombia	509
Concordance between the zinc sulphate flotation and centrifugal sedimentation methods for the diagnosis of intestinal parasites	519
Enteroparasite determination in <i>Lactuca sativa</i> from farms dedicated to its production in Pasto, Colombia	525
Factors associated to mortality by non-communicable diseases in Colombia, 2008-2012	535
Years of life lost as a measure of cancer burden in Colombia, 1997-2012	547
Prevalence of birth defects in Risaralda, 2010-2013	556
Risk factors for hepatitis C virus infection in the Colombian Caribbean coast: A case-control study	564
Mortality by homicides in Colombia, 1998-2012	572
Monitoring the Paraguayan epidemiological dengue surveillance system (2009-2011) using Benford's law	583
Effect of genetics, epigenetics and variations in the transcriptional expression of cadherin-E in breast cancer susceptibility	593
Cytotoxic effect of palladium (II) inclusion compounds in beta-cyclodextrin	603

Risk factors for methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> bacteremia: A multicenter matched case-control study	612
Facial nerve injuries cause changes in central nervous system microglial cells.	619
Molecular identification of <i>Leishmania</i> spp. in clinical isolates from Colombia based on <i>hsp70</i> gene	S1-37
Molecular evidence of <i>Rickettsia typhi</i> infection in dogs from a rural community in Yucatán, México	S1-45
Risk factors, representations and practices associated with emerging urban human visceral leishmaniasis in Posadas, Argentina	S1-51
Evaluation of modified Dennis parasitological technique for diagnosis of bovine fascioliasis	S1- 64
Risk factors for hospital-acquired bacteremia due to carbapenem-resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> in a Colombian hospital	S1- 69
Molecular diagnosis of extrapulmonary tuberculosis and sensitivity to rifampicin with an automated real-time method	S1-78
Prevalence of anti- <i>Trypanosoma cruzi</i> antibodies in women of childbearing age in Socotá, Boyacá, 2014	S1-90
Production of recombinant proteins from <i>Plasmodium falciparum</i> in <i>Escherichia coli</i>	S1-97
Prevalence of <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato in synanthropic rodents in two rural communities of Yucatán, México	S1-109
Identification of enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> in children with acute diarrheic syndrome from Sucre State, Venezuela	S1-118
Partial inhibition of two genes that encode spliceosomal proteins in <i>Giardia intestinalis</i>	S1-128
Genotyping, levels of expression and physical status of human papilloma virus in oropharyngeal squamous cell carcinoma among Colombian patients	S2-14
Phylogenetic analysis of Chikungunya virus in Colombia: Evidence of purifying selection in the <i>E1</i> gene	S2-25
Dengue and Chikungunya differential diagnosis in pediatric patients	S2-35
Exploratory wavelet analysis of dengue seasonal patterns in Colombia	S2-44
Prioritization of zoonotic viral diseases in feral pigs, domestic pigs and humans interface	S2-56
Coinfection of hepatitis E virus and other hepatitis virus in Colombia and its genotypic characterization	S2-69
Analysis of hepatitis B virus genotypes by restriction fragment length polymorphism	S2-79
Characterization of the health condition of people convalescing from a dengue episode	S2-89
Methodology to develop endemic channels and notification trends for dengue in Valle del Cauca, Colombia, 2009-2013	S2-98
Seroprevalence of human T-lymphotropic virus in blood bank donors at Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia, 2008-2014	S2-108
Geographical distribution of the red howler monkey (<i>Alouatta seniculus</i>) and yellow fever in Colombia	S2-116
Dengue mortality in Colombia, 1985-2012	S2-125
Evidence of the circulation of hepatitis A virus, subgenotype IA, in environmental samples from Antioquia, Colombia	S2-135
Regulators of endothelial integrity as severity predictors in dengue	S2-148
Dengue virus induces apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells	S2-156
Presence of enteric viruses in water samples for consumption in Colombia: Challenges for supply systems	S2-169
Prevalence and clinical course of dengue infection in elderly patients with acute febrile illness in a tertiary care hospital in Cali, Colombia	S2-179
Cytomegalovirus seroprevalence in organ donors and kidney transplant recipients, Colombia, 2010-2014	S2-187
Prevalence of human T-cell lymphotropic virus I and II in Colombian blood donors, 2001-2014: Implications for transfusion safety	S2-194
Shedding of HSV-1, HSV-2, CMV, and EBV in the saliva of hematopoietic stem cell transplant recipients at <i>Fundación HOMI - Hospital de la Misericordia</i> , Bogotá, D.C.	S2-201
Brief communication	
Comparison of independent and dependent culture methods for the detection of transient bacteremia in diabetic subjects with chronic periodontitis	156

Comparison of <i>16S</i> and <i>COX1</i> genes mitochondrial regions and their usefulness for genetic analysis of ticks (Acari: Ixodidae)	295
Presence of <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus, 1762) and its natural infection with dengue virus at unrecorded heights in Colombia	303
First report of the F1534C mutation associated with cross-resistance to DDT and pyrethroids in <i>Aedes aegypti</i> from Colombia	432
Detection of <i>Aedes albopictus</i> (Skuse) (Diptera: Culicidae) in the municipality of Istmina, Chocó, Colombia	438
Assessment of the spatial accessibility to the rabies vaccination campaign in Bogotá, Colombia	447
Topic review	
Molecular biomarkers to assess health risks due to environmental contaminants exposure	309
Recommendations for the surveillance of <i>Aedes aegypti</i>	454
Allergen immunotherapy: Mechanisms of action, and therapeutic and socioeconomic impact	
Consensus of the <i>Asociación Colombiana de Alergia, Asma e Inmunología</i>	463
Popular urticaria: A review of causal agents in Colombia	632
Technical note	
Real-time quantification to analyze historical Colombian samples detecting a short fragment of hypervariable region II of mitochondrial DNA	475
Letters to the editor	
In memoriam	483, 646, S2-211
	162, 489, 650

Información e instrucciones para los autores

Biomédica es la revista científica del Instituto Nacional de Salud de Colombia. Su fin primordial es la difusión de trabajos originales que contribuyan a ampliar los conocimientos en biomedicina.

Política editorial de la revista

Biomédica acepta y se acoge a los lineamientos establecidos por el *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE) (www.icmje.org), por *Equator Network* (<http://www.equator-network.org/>) y por el *Committee on Publication Ethics* (COPE) (<http://publicationethics.org/>) para garantizar la calidad de las publicaciones científicas, su transparencia, integridad y debida salvaguarda de los principios éticos que rigen la investigación biomédica.

La política de reconocimiento de autoría de la revista *Biomédica* se ciñe a la orientación del ICMJE. Este Comité señala que

“El crédito de autoría debe basarse solamente en:

- (1) contribuciones sustanciales a la concepción y el diseño del manuscrito, o a la adquisición, análisis e interpretación de los datos;
- (2) la redacción del manuscrito o la revisión crítica de contenido intelectual importante;
- (3) la aprobación final de la versión que se publicará, y
- (4) la asunción de la responsabilidad frente a todos los aspectos del manuscrito, para garantizar que los asuntos relativos a la exactitud o integridad de cualquier parte del mismo sean apropiadamente investigados y resueltos.

Para que a alguien se le reconozca como autor, debe satisfacer las cuatro condiciones mencionadas. La adquisición de fondos, la recolección de datos o la supervisión general del grupo de investigación por sí mismos, no justifican la autoría”.

La revista *Biomédica* no acepta la inclusión o el retiro de autores después de haberse iniciado el proceso editorial de los manuscritos. En casos excepcionales en que ello se permita, es obligatorio obtener el consentimiento por escrito de los autores cuyos nombres vayan a ser eliminados del manuscrito o agregados a él. Además, se debe enviar una declaración firmada haciendo constar que todos los autores reúnen los criterios de autoría y que no existen otros autores que, reuniendo los criterios,

hayan sido omitidos, y volver a mencionar en detalle la contribución de cada persona a la investigación y al manuscrito.

Registro de ensayos clínicos

Biomédica apoya las políticas de registro de ensayos clínicos de la Organización Mundial de la Salud y del *International Committee of Medical Journal Editors*. Por consiguiente, solamente aceptará para publicación los manuscritos de investigaciones clínicas que hayan recibido un número de identificación en uno de los registros de ensayos clínicos validados por los criterios establecidos por las instituciones antes mencionadas. El número de identificación y el sitio de registro se deben incluir al final del resumen del manuscrito.

Derechos de autor

Ninguna publicación, nacional o extranjera, puede reproducir ni traducir los artículos ni sus resúmenes, sin previa autorización escrita del Comité Editorial de la revista *Biomédica*.

Declaración de privacidad

Los nombres y las direcciones de correo electrónico suministradas a la revista se utilizarán exclusivamente para los propósitos declarados y no se pondrán a disposición de ninguna otra persona o institución.

Proceso editorial

Todo material propuesto para publicación en la revista será revisado inicialmente por el Comité Editorial y enviado luego para evaluación externa a evaluadores o pares científicos. Para facilitar este paso, junto con el manuscrito, los autores deben enviar a través del sistema en línea, un archivo complementario que contenga el nombre, la afiliación y el correo electrónico de cuatro posibles evaluadores nacionales y cuatro internacionales. Los nombres de los evaluadores sugeridos no deben incluirse dentro del manuscrito.

Una vez que el autor reciba los comentarios de los evaluadores, debe proceder a contestarlos punto por punto y a incorporar las modificaciones correspondientes en el texto, en un plazo de dos semanas. Si en el transcurso de las cuatro semanas siguientes, *Biomédica* no ha recibido la respuesta de los autores, el Comité Editorial retirará el manuscrito.

Una vez aceptado el manuscrito para publicación, el Comité Editorial no aceptará modificaciones sobre su contenido y se solicitará enviar una declaración de cesión a la revista de los derechos de reproducción, la cual debe ser firmada por todos los autores. Además, los autores deben hacer revisar la calidad del inglés del manuscrito o del resumen, por parte de un experto en el idioma, y enviar la certificación a la revista en un plazo menor a dos semanas.

La revista *Biomédica* se reserva el derecho de aceptar o rechazar los manuscritos sometidos para publicación, y hará sugerencias que tiendan a mejorar su presentación y a garantizar la integridad de la publicación.

Los manuscritos originales aceptados para publicación, se mantendrán en los archivos de la revista durante mínimo un año a partir de la fecha de publicación.

Después de la edición y la corrección de estilo, los autores recibirán las galeras del artículo, las cuales deben ser cuidadosamente revisadas y devueltas al editor en un término máximo de 48 horas.

Una vez realizada la publicación de la revista, el autor principal recibirá, libre de costo, cinco ejemplares de la revista.

La revista *Biomédica* es de acceso libre e incluye metadatos de citación para todas las referencias de los artículos publicados y las deposita en *CrossRef* (<http://www.crossref.org/>).

Información general sobre los manuscritos

Biomédica publica trabajos científicos, escritos en español o en inglés, en las siguientes categorías.

Artículo original: trabajo inédito derivado de una investigación biomédica que aporta información nueva sobre aspectos específicos y contribuye de manera relevante al conocimiento científico.

Comunicación breve: es el informe de resultados parciales o finales de una investigación, cuya divulgación rápida sea de gran importancia.

Nota técnica: describe en detalle una técnica de laboratorio novedosa o modificaciones de una técnica ya establecida, enfatizando las ventajas que tiene el procedimiento o la innovación desarrollados.

Ensayo: es un manuscrito filosófico, literario o científico que presenta la opinión sustentada del autor sobre un tema específico o de actualidad.

Comentario: manuscrito sobre un artículo publicado en la revista.

Reseña histórica: es un manuscrito que destaca personajes o sucesos y su contribución al desarrollo de las ciencias biomédicas o de las políticas en salud.

Revisión de tema: presenta el estado actual del conocimiento sobre un tema; puede ser de dos tipos:

- 1) solicitada directamente por el Comité Editorial a personas expertas en el tema,
- 2) presentada por profesionales interesados en un tema en particular. En este caso, se debe enviar inicialmente al Comité Editorial la propuesta en la que se indique por qué el tema escogido es pertinente para los lectores de *Biomédica*, así como una breve descripción del contenido, las referencias clave, las publicaciones de los autores sobre el tema que serán incluidas (requisito obligatorio), los datos inéditos de los autores que se incluirán en la revisión (requisito obligatorio), la probable extensión del documento y el número aproximado de ilustraciones.

En ambos casos, los autores deben estructurar la revisión de la siguiente manera:

- incluir un resumen con énfasis en el significado de los hallazgos recientes;
- una introducción al tema, señalando hitos pasados y desarrollos presentes;
- encabezamientos en el texto, con el objeto de hacer más provechosa su lectura;
- la revisión debe incluir un análisis crítico de la bibliografía y los datos propios de los autores;
- el desarrollo del tema queda a discreción del autor, pero se aconseja que incluya tablas, esquemas y figuras, que hagan ágil el texto y ofrezcan una comprensión más rápida de su contenido. En caso de usar figuras tomadas total o parcialmente de otras publicaciones, los autores deben adjuntar el permiso de la casa editorial que ostente los derechos de autor para su reproducción en *Biomédica*.

Imágenes en biomedicina: es un trabajo ilustrado con fotografías que muestran y explican de manera didáctica un concepto, una estructura, una enfermedad o un diagnóstico biomédico. Debe incluir un comentario corto que resalte la importancia del tema ilustrado.

Haga usted el diagnóstico: pretende retar la capacidad diagnóstica de los lectores, utilizando ilustraciones o fotografías de casos clínicos o de hallazgos microscópicos. Consta de dos partes, la presentación clínica y los hallazgos correspondientes, y el diagnóstico correcto; este último aparece en una página aparte y debe acompañarse de un comentario actualizado sobre la entidad que se pretende ilustrar.

Presentación de casos: son ejemplos de casos clínicos que destacan alguna particularidad o señalan un hallazgo especial de la enfermedad, con una revisión breve de las publicaciones pertinentes.

Cartas al editor: los lectores pueden solicitar aclaraciones o presentar comentarios sobre el material publicado en la revista. La decisión sobre la publicación de las cartas recibidas queda a discreción del Comité Editorial.

Comentarios bibliográficos: son escritos críticos breves sobre libros de salud o de biomedicina.

Preparación del manuscrito

Los autores deben ceñirse a las indicaciones del *International Committee of Medical Journal Editors*, que se encuentran publicadas como *Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals (Updated December 2013)* (<http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

El manuscrito debe incluir las siguientes secciones.

Hoja de presentación: esta sección debe incluir

- título (máximo 165 caracteres),
- título corto para los encabezamientos de las páginas (máximo 50 caracteres),
- título en inglés (máximo 165 caracteres),
- un párrafo con los nombres completos de los autores únicamente con el primer apellido,
- la afiliación institucional integrada por grupo, institución, ciudad y país. La afiliación institucional se relaciona con los autores con números en superíndice y en ella se deben omitir cargos y títulos académicos,
- datos de correspondencia: nombre del autor responsable, dirección completa, número telefónico y de fax, y dirección electrónica, y
- párrafo donde los autores declaren cuál fue el aporte al documento de cada uno de ellos.

Resúmenes: el trabajo debe incluir un resumen estructurado en español e inglés, con los subtítulos introducción, objetivo, materiales y métodos, resultados y conclusión. Los resúmenes no deben exceder las 250 palabras. No se permite el uso de referencias ni se recomienda la inclusión de siglas o acrónimos.

Palabras clave: se requieren de 6 a 10 palabras clave en cada idioma; consulte los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) del índice de la Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS) en <http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>; para verificar las de inglés, consulte los *Medical Subject Headings* (MeSH) del *Index Medicus* en <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>.

Texto: todo el manuscrito, incluso la página del título, los resúmenes, las referencias, las leyendas de figuras y cuadros, debe estar escrito en letra Arial de 12 puntos de tamaño a doble espacio y alineado a la izquierda, sin dejar espacios extras entre párrafos; se debe dejar un solo espacio después del punto y seguido o del punto y aparte.

Los cuadros se deben configurar en letra Arial de 10 puntos de tamaño a espacio sencillo.

Se debe usar letra bastardilla o cursiva para los términos científicos, sin subrayarlos.

Los números decimales en español deben separarse de los números enteros por comas, no por puntos.

Formato electrónico: el manuscrito se debe enviar en Word, preferiblemente en la versión 97-2003. Además de ser adjuntas al documento de Word, las figuras se deben enviar preferentemente como fichero complementario en formato tiff (*Tagged Image File Format*) de 300 dpi (*dots per inch*). Las gráficas elaboradas en *PowerPoint* o *Word* son de baja resolución, por lo tanto, no se deben incluir este tipo de imágenes en formato electrónico. Las ilustraciones se imprimen en una columna (75 mm) o en dos columnas (153 mm); por consiguiente, se deben enviar las ilustraciones del tamaño en que van a quedar impresas. Si las ilustraciones son en color y se remiten en formato electrónico, se deben enviar en archivos CMYK en formato tiff (*Tagged Image File Format*) de alta resolución. Si la imagen no tiene texto incluido, la resolución óptima para los archivos CMYK es de 300 dpi; si incluye texto, la resolución recomendada es de 600 dpi y, si son de blanco y negro, de 1.200 dpi. La fuente preferida para las gráficas es Helvética. Si sus archivos son de Macintosh, debe convertirlos a uno de

los formatos mencionados. Se requiere una lista completa de los archivos enviados, que incluya los programas cuyo formato se utilizó.

Agradecimientos: cuando en esta sección se nombren personas, los autores deben certificar que ellos tienen conocimiento y están de acuerdo con aparecer en los agradecimientos. Esto no es necesario cuando se nombran entidades.

Conflicto de intereses y financiación: los autores deben incluir, antes de las referencias del manuscrito, un párrafo en el que expresen si existen conflictos de intereses o si no los hay. Además, debe presentarse otro párrafo que incluya la fuente de financiación de la investigación adelantada.

Biomédica acoge las recomendaciones del ICMJE y adopta el formato de declaración de potenciales conflictos de intereses, el cual debe ser diligenciado individualmente por cada uno de los autores del manuscrito y enviado junto con la carta de remisión. El formulario electrónico está disponible en <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/>.

Referencias bibliográficas: es indispensable observar estrictamente las indicaciones de los requisitos uniformes para manuscritos del área biomédica. Se le asigna un número a cada referencia citada del texto, así como a los cuadros y a las figuras, en orden ascendente. Los números de las referencias se anotan entre paréntesis y no como superíndice.

Las comunicaciones personales, los datos sin publicar, los manuscritos en preparación o sometidos para publicación y los resúmenes de trabajos presentados en congresos, se deben citar entre paréntesis en el cuerpo del manuscrito y no en la sección de referencias.

La abreviatura exacta de la revista citada se debe consultar en la lista de publicaciones periódicas del *Index Medicus* (<http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>); si la revista no aparece, se escribe el título completo de la revista. Solo se deben transcribir los seis primeros autores del artículo, seguidos de *et al.* Se recomienda la inclusión de referencias nacionales y latinoamericanas, para lo cual se puede consultar Lilacs, Pubindex, Latindex, Redalyc, Sibra y otras fuentes bibliográficas pertinentes.

En caso de dudas sobre la forma correcta de citar una referencia (artículo científico, libro, tesis, página de internet, etc.), se sugiere consultar la página http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html, en la cual se encuentran ejemplos de todos y cada uno de los posibles casos.

A continuación se dan algunos ejemplos para el estilo de las referencias, siguiendo las normas de Vancouver.

Revista científica: la forma adecuada de citar revistas científicas es la siguiente (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla. Título. Abreviatura de la revista. Año; volumen: página inicial-página final. <http://dx.doi.org/>

Ejemplo:

Sánchez J, Villada OA, Rojas ML, Montoya L, Díaz A, Vargas C, et al. Efecto del zinc aminoquelado y el sulfato de zinc en la incidencia de la infección respiratoria y la diarrea en niños preescolares de centros infantiles. *Biomédica*. 2014;34:79-91. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1581>

Alter G, Malenfant JM, Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods*. 2004;294:15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>

Libro o documento: la forma adecuada de citar libros o documentos es (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla. Título. Edición (en los casos que corresponda). Ciudad de publicación: editorial; año. página inicial-página final o número total de páginas.

Ejemplo:

Bernard HR. Research methods in anthropology: Qualitative and quantitative approaches. Second edition. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1994. 585 p.

Capítulo de libro o documento: la forma adecuada de citar capítulos de libros o documentos es la siguiente (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla. Título del capítulo. En: autor del libro, editores. Título del libro. Edición (en los casos que corresponda). Ciudad de publicación: editorial; año. página inicial-página final.

Ejemplo:

Franco JL, Orrego JC, Montoya CJ, Patiño PJ. Síndrome de infección recurrente. En: Correa JA, Gómez JF, Posada R, editores. Fundamentos

de Pediatría. Tercera edición. Medellín: Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas; 2007. p. 15-50.

Documentos en páginas web: la forma adecuada de citar documentos publicados en páginas web, es la siguiente (observar el orden de los datos, los espacios y la puntuación):

Autores (primer apellido seguido de las iniciales del nombre) en negrilla. Título. Fecha de consulta: día, mes, año. Disponible en: página exacta en donde abre el documento.

Ejemplo:

Ministerio de la Protección Social. Actualización integral del POS 2013. Fecha de consulta: 26 de febrero del 2014. Disponible en: <http://www.pos.gov.co/Documents/LISTADO%20MEDICAMENTOS%20ACUERDO%20008%20CRES.pdf>.

Cuadros y figuras: los cuadros se elaboran usando el formato de Word; abstenerse de preparar archivos en columnas o tabulados en el texto mismo del manuscrito.

En las preparaciones de microscopio, se deben mencionar la coloración y el aumento según el objetivo utilizado, sin incluir el valor del ocular.

Cuando se utilicen cuadros o figuras que ya hayan sido publicados, se requiere enviar la autorización de la casa editorial que ostenta los derechos de reproducción.

Remisión del manuscrito

El manuscrito debe ser remitido a través del sistema en línea disponible en el enlace de información para autores en <http://www.revistabiomedica.org/>.

Sin embargo, se debe enviar la carta impresa de remisión firmada en original por todos los autores, en la que conste que todos conocen y están de

acuerdo con su contenido, y que el manuscrito no ha sido publicado anteriormente ni se ha sometido a publicación simultánea en otra revista, a la oficina de la revista ubicada en la siguiente dirección:

Revista Biomédica
Instituto Nacional de Salud
Avenida Calle 26 N° 51-20, bloque B, oficina B-245
Bogotá, D.C., Zona 6, Colombia, S.A.

Los autores radicados en otros países pueden enviar la carta de remisión firmada y escaneada desde sus correos electrónicos personales, al correo de la revista (biomedica@ins.gov.co), informando que se entrega por este medio por encontrarse en el exterior.

Solo cuando se reciba la carta de remisión en la oficina de la revista (autores nacionales), o todos los correos (autores internacionales), se iniciará el proceso de revisión editorial del manuscrito.

Al someter un manuscrito para publicación en *Biomédica*, los autores aceptan con su firma, explícita o implícitamente, que:

- 1) Conocen las instrucciones para los autores y las han seguido detalladamente.
- 2) Todos los autores cumplen todos los criterios internacionalmente aceptados para ser considerados como tal.
- 3) No se ha excluido de la lista de autores el nombre de ningún autor que reúna los requisitos para serlo.
- 4) Todos los autores conocen la versión final del manuscrito sometido para publicación y están de acuerdo con ella.
- 5) No se ha incurrido en conducta alguna que pueda considerarse como transgresión de la integridad científica o de los principios éticos que rigen las publicaciones científicas.

BIOMÉDICA

Lista de verificación

Con el fin de comprobar que se hayan cumplido todas las instrucciones correspondientes a las normas de publicación de la revista *Biomédica*, le solicitamos que diligencie en línea la siguiente lista de verificación y la presente junto con su manuscrito.

Categoría

- | | | |
|---|--|---------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Artículo original | <input type="checkbox"/> Comunicación breve | <input type="checkbox"/> Nota técnica |
| <input type="checkbox"/> Revisión de tema | <input type="checkbox"/> Reseña histórica | <input type="checkbox"/> Ensayo |
| <input type="checkbox"/> Comentario | <input type="checkbox"/> Imágenes en biomedicina | |
| <input type="checkbox"/> Presentación de caso | <input type="checkbox"/> Haga usted el diagnóstico | |
| <input type="checkbox"/> Carta al editor | <input type="checkbox"/> Reseña bibliográfica | |

1- Presentación

- Texto escrito a doble espacio en fuente Arial de 12 puntos de tamaño y alineado a la izquierda
- Páginas numeradas consecutivamente en la esquina inferior derecha

2- Título

- Se incluyen los títulos en español e inglés (máximo 165 caracteres).
- Se incluye el título abreviado en español, o inglés en los casos pertinentes (máximo 50 caracteres).
- Los autores aparecen sólo con su afiliación institucional, sin mencionar cargos ni títulos académicos.
- El autor de la correspondencia suministró los datos completos: nombre, apellidos, dirección, teléfono, fax y dirección electrónica.

3- Resumen

- Se incluye el resumen estructurado en español e inglés, con una extensión máxima de 250 palabras y con los siguientes subtítulos: introducción, objetivos, materiales y métodos, resultados y conclusiones.
El resumen estructurado solo se requiere para artículos originales y comunicaciones breves.

4- Palabras clave

- Se incluyen 6 a 10 por artículo en cada idioma.
- Se usan las palabras clave en español e inglés indexadas en los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) (<http://decs.bvs.br/E/homepagee.html>) y *Medical Subject Headings* (MeSH) (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>).

5- Estructura del artículo original, nota técnica y comunicación breve

Se incluyen los siguientes apartados:

- Introducción
- Materiales y métodos
- Resultados
- Discusión
- Agradecimientos
- Declaración de conflicto de intereses

- ___ Financiación
- ___ Referencias
- ___ Cuadros y figuras con sus respectivas leyendas

6- Figuras

- ___ Se incluye cada una en página aparte, con su respectiva leyenda.

7- Cuadros

- ___ Se adjuntan en hoja aparte, elaborados en el modelo de tablas de Word, configurados en Arial 10 a espacio sencillo.
- ___ Se ordenan secuencialmente.
- ___ Se incluye la leyenda correspondiente.

8- Referencias

- ___ Las referencias se numeran según el orden de su aparición en el texto.
- ___ Se ordenan secuencialmente y en el formato adecuado, tal y como lo indican las normas de *Biomédica* en las instrucciones para los autores.
- ___ Cuando se citan referencias en los cuadros, éstas deben seguir el orden que se venía usando en el texto.

9- Abreviaturas y siglas

- ___ Se anotan entre paréntesis después de la primera vez que aparezcan, en forma completa y en el idioma original, los términos que se abrevian. Debe evitarse el uso y la creación de siglas que no sean universalmente reconocidas.

10- Nomenclatura

- ___ Los nombres taxonómicos de género y especie están escritos en letra cursiva.
- ___ Los nombres de microorganismos se escriben completos la primera vez que se citan, incluso en el título y en el resumen; después, se usa solamente la inicial del género y el nombre completo de la especie.

11- Consideraciones generales

- ___ Se envió carta impresa firmada por todos los autores o, en caso de autores radicados en el extranjero, una carta de remisión firmada y escaneada desde sus correos electrónicos personales.
- ___ Se incluyó el formato de declaración de conflicto de interés diligenciado por cada uno de los autores.
- ___ Se obtuvo autorización del Comité de Ética para la experimentación en humanos o animales, la cual debe incluirse al final de la sección de Materiales y métodos.
- ___ Se incluyeron el sitio y el número de registro del ensayo clínico, para la intervención y experimentación en humanos.
- ___ Los autores certifican al Comité Editorial que las personas mencionadas en los agradecimientos tienen conocimiento de dicha mención y están de acuerdo con aparecer en ellos.
- ___ Todos los manuscritos incluyen una declaración sobre la fuente de financiación.
- ___ Se envían los nombres de los cuatro evaluadores nacionales y los cuatro internacionales, con sus respectivos datos (nombre, afiliación institucional y correo electrónico).

Instructions to authors

Scope and policy

Biomédica is the quarterly journal of the *Instituto Nacional de Salud of Colombia* [Colombia's National Institute of Health]. Its main purpose is to publish the results of original research that may contribute to expand knowledge in biomedicine.

Editorial policy

Biomédica accepts and subscribes the guidelines established by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) (www.icmje.org), by the Equator Network (<http://www.equator-network.org/>) and by the Committee on Publication Ethics (COPE) (<http://publicationethics.org/>) in order to guarantee the quality of scientific publications, their transparency, integrity and full compliance with the ethical principles applicable to biomedical research.

Biomédica's policy on authorship adheres to the ICMJE guidelines, which state in this regard that:

"Authorship should be based solely on the following:

- 1) Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
- 2) drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
- 3) final approval of the version to be published, and
- 4) responsibility for all aspects of the manuscript to ensure that matters concerning accuracy and completeness of any of its sections have been appropriately investigated and solved.

All authors should meet these four conditions. Fund raising, data collection or general supervision of the research group do not justify authorship."

Biomédica will not accept the inclusion or withdrawal of any author from the original list once the manuscript has started the editorial process. In exceptional, applicable cases, it will be mandatory to obtain written consent of the author(s) whose name(s) are to be removed from or added to the manuscript. Besides, written consent should be sent stating that all authors meet authorship criteria, and that there are no other authors who meet these criteria and are not mentioned. The document should also describe in detail the contribution of each participant to the research work and to the article.

Clinical trials registration

Biomédica subscribes the policies of the World Health Organization (WHO) and the International Committee of Medical Journals Editors (ICMJE) regarding clinical trials registration. Therefore, it will accept for publication only those manuscripts on clinical research exhibiting the identification number from one of the clinical trial registries validated according to the criteria established by WHO and the ICMJE. The identification number and place of registry should be mentioned after the Abstract.

Copyright notice

No national or foreign publication may reproduce or translate articles or abstracts from *Biomédica* without previous written authorization by the Editorial Board.

Privacy statement

The names and e-mail addresses provided to *Biomédica* will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.

Editorial process

All manuscripts submitted for publication to *Biomédica* will be reviewed by the Editorial Board and sent for peer review to at least two experts. To facilitate this process, authors must suggest and send via the journal on-line platform the names, institutional affiliation and e-mail addresses of four national and four international reviewers whose names should not be included in the manuscript.

Once the authors receive the reviewers' comments, they must address each comment, in addition to incorporating the corresponding modifications in the text. The authors must reply to the reviewer comments within two weeks after receiving them; if *Biomédica* has not received the authors' reply during the following four weeks, the paper will be withdrawn.

Once the paper has been accepted for publication, the Editorial Board will not accept modifications in its content, and it will request a copyright transfer statement signed by all authors. Additionally, authors should certify the quality of the English language in the manuscript or in the abstract on a document signed by an expert and sent to the journal before two weeks.

The original manuscripts of articles accepted to be published will remain in the journal files for a minimum of one year after publication. Once the paper has been accepted for publication, and after editing and style correction, authors will receive the galley proofs, which must be carefully reviewed and returned to the editors within 48 hours after receipt by the authors.

Once the paper has been published, the corresponding author will receive five free copies of the journal issue.

Biomédica is an open access journal and it includes citation metadata for all references in published articles, all of which are deposited in CrossRef (<http://www.crossref.org/>).

General information on manuscripts

Biomédica will publish scientific papers written in Spanish or English, in the following categories:

Original articles: Unpublished manuscripts resulting from biomedical research which present new information about specific aspects and provides a relevant contribution to scientific knowledge.

Short communication: Report of partial or final results of research whose rapid disclosure is of great importance.

Technical note: Detailed description of a new laboratory technique or of modifications done to an established technique, emphasizing the advantages that the process has, or the importance of the innovation developed.

Essay: A philosophical, literary, or scientific manuscript that presents an author's documented opinion about a specific topic or a topic of current interest.

Commentary: A manuscript about an article published in the journal.

History: A manuscript that places emphasis on historical personalities or facts, and their contributions to the development of biomedical sciences or health policies.

Topic review: the current state of the art on a specific topic; it includes two categories:

- 1) Requested by the Editorial Board to experts on a topic.
- 2) Presented by professionals interested in a particular topic. For this option, authors must send a proposal indicating why the topic selected is relevant to the readers of *Biomédica* including a brief description, some key references,

publications by the authors on the topic that are to be cited (mandatory), unpublished data by the authors that are to be included (mandatory), the probable size of the manuscript and the approximate number of illustrations.

In both categories, authors should include the following elements:

- An abstract with emphasis on the significance of recent findings;
- a pointed introduction to the topic showing past landmarks and present developments;
- appropriate subtitles to facilitate a better understanding of the manuscript;
- the development of the topic is left to the discretion of the authors, but they are advised to include tables, graphics and figures to provide a clearer understanding of the text. In case figures are taken partially or totally from other publications, authors must attach the permission from the copyright holder for their reproduction in *Biomédica*.

Images in biomedicine: An illustrated paper with photographs demonstrating and explaining a concept, a structure, a disease or a biomedical diagnosis. It must include a short commentary emphasizing the importance of the illustrated topic.

Make your own diagnosis: The purpose of papers presented in this category is to challenge the diagnostic ability of readers, using illustrations or photographs of clinical data, or microscopic findings. It has two parts, the clinical presentation and the corresponding findings in the first part, and the correct diagnosis in the second part. The latter should appear on a separate page and with an updated comment on the disease it highlights.

Case presentation: Clinical cases with peculiar presentations or special features of diagnostic value and a brief review of the relevant literature.

Letters to the editor: Readers can request explanations or comment on articles published in the journal. The decision to publish these letters lies on the Editorial Board.

Book review: Brief critical writings on books about health and biomedicine.

Preparation of the manuscript

Please follow the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors that are published as "Recommendations for the Conduct,

Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals” (updated December 2013) (<http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

The manuscript must include the following sections:

Presentation page: This section must include the following items:

- Manuscript title (maximum 165 characters)
- Running title for page headlines (maximum 50 characters)
- Spanish title (maximum 165 characters)
- A paragraph with the authors’ full names (include only first family name)
- The institutional affiliation of each author including the name of their group, institution, city and country. The link of authors’ names and institutional affiliation should be done using numbers in superscript. Omit positions held and academic qualifications.
- Name of corresponding author, along with postal address, telephone and fax numbers and e-mail address
- A paragraph stating authors’ specific contribution to the article.

Abstracts: The manuscript must include a structured abstract (introduction, objective, materials and methods, results and conclusions) in both Spanish and English, not longer than 250 words. The use of references is not allowed in the abstract, and the inclusion of abbreviations and acronyms is not recommended.

Key words: No more than ten key words in each language are permitted. Authors are advised to verify the English keywords in the Medical Subject Headings (MeSH) of the Index Medicus available from <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>, and the Spanish keywords in *Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS)* of the Latin American and Caribbean Health Sciences index available from <http://decs.bvs.br>

Text: All manuscripts, including the presentation page, abstracts, references, tables and titles of figures and tables, should be in double space. Leave only a single space after the end of each paragraph. Use Arial font size 12 for the text and for table and figure titles, and do not justify the text (left justified). Use italic letters for species names or scientific terms; do not underline for italicization.

Electronic format: The manuscript must be received as an MS Word™ file, preferably in the 97-2003 version. Figures should come attached to the Word document and they should be sent preferably in a 300 dpi tiff format. Graphics made with Power Point™ or MS Word programs are not acceptable because of low resolution. Illustrations are printed in a single column (75 mm) or in two columns (153 mm), therefore, illustrations must be sent in one of these two print sizes. In the case of color illustrations, please use CMYK files in a high resolution tiff format. The best resolution for CMYK files is 300 dpi if the image does not include text. If the image includes text, the recommended resolution is 600 dpi; if it is black and white, the recommended resolution is 1200 dpi. The recommended font for graphics is Helvetic. If your files are Macintosh, please convert them to one of the above formats. A complete list of the files must be sent including the names of the programs in which they were formatted.

Acknowledgements: Authors should certify that persons mentioned in the Acknowledgements have been informed and they have agreed to it. This is not required in the case of institutions.

Conflicts of interest and financial support statements: Authors must place these statements before the References section in separate paragraphs.

Biomédica subscribes the ICMJE recommendations in this respect and adopts their format for the statement of potential conflicts of interest, which should be filled out individually by each author and sent along with the letter of submission. The electronic format is available from <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/>.

References: Strict adherence to the guidelines of the uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals is required. A number is assigned to each reference as it appears in the manuscript, the tables and figures in ascending order. The reference numbers are placed within parenthesis (not as indices or superscripts).

Personal communications, unpublished data, manuscripts in preparation or submitted for publication, and abstracts presented at congresses or other scientific meetings must not be numbered but rather referenced in the text within parenthesis.

Consult the periodical publications list of Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/tsd7serials7lij.html>) for exact abbreviations of journal names. If the

journal is not listed, write its full title. Include only the first six authors of the article, followed by *et al.* The inclusion of national and Latin-American references is recommended. For this purpose, please consult Lilacs, Latindex, Sibra, or Colciencia's indices, and other pertinent bibliographic sources.

The following are some examples of references from different types of publications according to the Vancouver style.

Scientific journal: The adequate way of citing scientific journals is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

Authors (only first family name followed by first name initials) in bold. Title. Journal's abbreviated name. Year;volume:initial page-last page. <http://dx.doi.org/>

Examples:

Alter G, Malenfant JM, Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods*. 2004;294:15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>

Sánchez J, Villada OA, Rojas ML, Montoya L, Díaz A, Vargas C, et al. Efecto del zinc aminoquelado y el sulfato de zinc en la incidencia de la infección respiratoria y la diarrea en niños preescolares de centros infantiles. *Biomédica*. 2014;34:79-91. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1581>

Book or document: The adequate way of citing books or documents is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

Authors (only first family name followed by first name initials) in bold. Title. Edition (when applicable). Place of publication: Publisher; year. Initial page-last page or total number of pages.

Example:

Bernard HR. Research methods in anthropology: Qualitative and quantitative approaches. Second edition. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1994. 585 p.

Book chapter or document: The adequate way of citing book chapters or documents is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

Authors (only first family name followed by first name initials) in bold. Title of chapter. In: name of book author(s), editor(s). Title of book. Edition (when

applicable). Place of publication: Publisher; year. Initial page - last page or total number of pages.

Example:

Restrepo A, Tobón AM, Agudelo CA. Paracoccidiodomycosis. In: Hospenthal DR, Rinaldi MG, editors. *Diagnosis and treatment of human mycoses*. 1st edition. Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 127-331.

Documents in web sites: The adequate way of citing documents published in web sites is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

Authors (only first family name followed by first name initials) in bold. Title. Citation date: day, month, year. Available from: exact link to open the document.

Example:

Nucci M, Colombo AL. Clinical manifestations and diagnosis of acute/subacute paracoccidiodomycosis. UpToDate. 2012. Citation date: October 15, 2012. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-acute-subacute-paracoccidiodomycosis>.

Tables and figures: Tables must be formatted using the Word processing tool for this purpose. Do not include columns or tabulations within the text of the manuscript.

Regarding microscope slides, include the staining and lens increase in the objective, but do not include the value of the ocular.

In the case of tables or figures previously published, an authorization by the copyright holder should be attached for publication in *Biomédica*.

Manuscript submission

The manuscript should be submitted to *Biomédica*'s on-line platform using the link "*Información para autores*", available from <http://www.revistabiomedica.org/>. However, a printed letter signed by all authors stating that they know the contents of the manuscript, that they agree to its submission for publication in *Biomédica*, and explicitly stating that the manuscript has not been published or submitted for publication to any other journal should be sent to the following address:

Revista Biomédica
Instituto Nacional de Salud
Avenida Calle 26 No. 51-20, bloque B, oficina B-245
Bogotá D.C., Zona 6, Colombia

Authors living in foreign countries may send the letter signed and scanned via e-mail to *Biomédica's* e-mail: biomedica@ins.gov.co, explaining that they do so because they are settled abroad.

Once the printed letter of submission (in the case of local authors), or the e-mails (in the case of authors abroad) have been received at *Biomédica's* office, the editorial review process will start.

The submission of a manuscript to *Biomédica* for publication implies the acceptance by the authors of the following:

- Full knowledge and strict adherence to the instructions to authors;
- compliance with the internationally accepted authorship criteria;
- inclusion of all authors that meet authorship criteria;
- total agreement with the final version of the manuscript submitted for publication, and
- no engagement in any conduct that may be considered a transgression of the scientific integrity or the ethical principles of scientific publications.

Checklist for submitted manuscripts

For the purpose of verifying that authors have complied with *Biomédica's* publication guidelines, the corresponding author should include the following checklist along with the manuscript:

Category

- | | | |
|---|--|---|
| <input type="checkbox"/> Original article | <input type="checkbox"/> Short communication | <input type="checkbox"/> Technical note |
| <input type="checkbox"/> Topic review | <input type="checkbox"/> Historical paper | <input type="checkbox"/> Essay |
| <input type="checkbox"/> Commentary | <input type="checkbox"/> Images in biomedicine | |
| <input type="checkbox"/> Case presentation | <input type="checkbox"/> Make your own diagnosis | |
| <input type="checkbox"/> Letter to the editor | <input type="checkbox"/> Book review | |

1. Presentation

- Text written in double space, in Arial font size 12 point, on one side of letter-size pages
- Pages numbered consecutively

2. Title

- Title in Spanish and English (maximum 165 characters)
- Running title in the same language used in the text of the manuscript (Spanish or English, maximum 50 characters)
- Authors' names with institutional affiliations (do not include current positions or academic titles)
- Corresponding author's information: name, postal address, phone number, fax number, e-mail address

3. Abstracts

- Structured abstract both in Spanish and English (maximum 250 words) using the following subtitles: Introduction, Objective(s), Materials and methods, Results, Conclusion(s). The inclusion of a structured abstract applies only for original articles and short communications.

4. Keywords

- 6 to 10 per manuscript in each language
- Keywords in English previously verified in the Medical Subject Headings (MeSH) of Index Medicus available from <http://www.nlm.nih.gov/mesh7meshhome.htm>, and Spanish keywords verified in *Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS)* of the Latin American and Caribbean Health Sciences index available from <http://decs.bvs.br>

5. Structure of an original article, technical note or short communication

Include the following sections:

- Introduction
- Materials and methods
- Results
- Discussion
- Acknowledgements
- Conflicts of interest statement
- Financial support statement

___ References

___ Tables and figures with their corresponding titles.

6. Figures

___ Figures should go on a separate page with its corresponding title

7. Tables

___ Tables should go on a separate page, in Word format using font Arial size 10 and single space

___ Tables should be numbered consecutively in their order of appearance in the text

___ Include titles for all tables and figures.

8. References

___ References should be numbered consecutively according to the order of citation in the text.

___ *Biomedica*'s guidelines for citing references must be followed strictly.

___ If references are cited in tables or figures, please continue with the consecutive order used in the text.

10. Use of abbreviations and acronyms

___ Write the complete term in its original language with the corresponding abbreviation in parenthesis.
Avoid using abbreviations and acronyms that are not universally accepted.

11. Nomenclature

___ Names of genus and species are written in italics

___ Microorganisms scientific names should be written in full the first time they appear in the text, as well as in the title and in the abstracts; after, just use the first letter of the genus followed by a dot and the complete name of the species.

12. General considerations

___ Printed letter of submission signed by all authors. In the case of authors living abroad, the letter should be signed, scanned and sent from their personal e-mails.

___ Conflicts of interest statement in the corresponding form filled out by each author.

___ Manuscripts presenting results from research conducted on human subjects or animals include an explicit statement that ethical clearance was requested and obtained from an institutional ethics committee. This statement goes at the end of the Materials and methods section.

___ Site and registration number for clinical trials in human subjects.

___ Authors certify that the persons whose names are mentioned in the Acknowledgements section are fully aware of this and agree to their inclusion.

___ The financial support statement was included.

___ The names, institutional affiliation and e-mails of the four national and four international reviewers suggested by the authors were included in the letter of submission.