

ISSN 0120-4157

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 37, No. 3 - Septiembre de 2017

Bogotá, D.C., Colombia, S.A.



Portada: *Pediculus humanus capitis*, adulto macho, 40X

Microscopio óptico Nikon Labopoth® con cámara Canon PowerShot SX 150 IS®,
Laboratorio de Micología, Hospital Universitario Centro Dermatológico Federico Lleras
Acosta, Bogotá, D.C. Colombia

Ángel Omar Jaimes, Hospital Universitario Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta,
Bogotá, D.C. Colombia

Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 37, No. 3 - Bogotá, D.C., Colombia - Septiembre de 2017

Comité Editorial

EDITORES

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

CARLOS ARTURO HERNÁNDEZ
Instituto Nacional de Salud
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

JOSÉ DE JESÚS MORENO-MONTOYA
Universidad El Bosque
Bogotá, D.C., Colombia

JULIÁN ALFREDO FERNÁNDEZ-NIÑO
Universidad del Norte
Barranquilla, Colombia

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

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

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

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

RAÚL PARDO
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

GUSTAVO ALONSO CABRERA
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

CARLOS ANDRÉS FANDIÑO
Universidad del Valle
Cali, 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

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

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

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

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

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
Medellín, Colombia
Universidad de la Sabana
Chía, Colombia

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

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

Contenido

Editorial

- Infecciones de transmisión sexual, un reto permanente y en constante aumento
Miguel A. Guzmán 295

Imágenes en biomedicina

- Alimentación de *Rhodnius prolixus*
Kevin Escandón-Vargas, Carlos A. Muñoz-Zuluaga, Lilibiana Salazar 299

Presentación de caso

- Toxoplasmosis diseminada en un paciente con trasplante de corazón a pesar de la profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol
Victoria Dávila, Gustavo Roncancio-Villamil, Luis Alfonso Correa, Catalina Restrepo, Camilo Alberto Madrid, Javier Mauricio González 303

Artículo original

- Validez de constructo y consistencia interna de tres estructuras factoriales y dos sistemas de puntuación del cuestionario de salud general de 12 ítems
Miguel Simancas-Pallares, Katherine Margarita Arrieta, Luisa Leonor Arévalo 308

- Perfil de las enfermedades gastrointestinales en un centro de gastroenterología pediátrica en Colombia: 15 años de seguimiento
Wilson Daza, Silvana Dadán, Michelle Higuera 315

- Evaluación del efecto tóxico de la doramectina, la ivermectina y la eprinomectina sobre *Triatoma infestans* en un modelo de rata
Martín Dadé, Martín Daniele, Nora Mestorino 324

- Pediculus capitis* en niños de escuelas de la zona urbana de Nuevo León, México: análisis de factores asociados
Zinnia J. Molina-Garza, Lucio Galaviz-Silva 333

- Condición socioeconómica, patrones de alimentación y exposición a metales pesados en mujeres en edad fértil de Cali, Colombia
Roger Figueroa, Diana Caicedo, Ghislaine Echeverry, Miguel Peña, Fabián Méndez 341

- Perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos causantes de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad en pacientes con diabetes mellitus en Colombia
Laura Cristina Nocua-Báez, Jorge Alberto Cortés, Aura Lucía Leal, Gerson Fitzgerald Arias, María Victoria Ovalle-Guerrero, Sandra Yamile Saavedra-Rojas, Giancarlo Buitrago, Javier Antonio Escobar-Pérez, Betsy Castro-Cardozo 353

- Detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en pacientes multitransfundidos, Colombia
Mauricio Beltrán, Andrea Herrera, Astrid Carolina Flórez, Maritza Berrío, María Isabel Bermúdez 361

- Perfiles de poliparasitismo intestinal en una comunidad de la Amazonia colombiana
Julián A. Fernández-Niño, Claudia I. Astudillo-García, Laura María Segura, Natalia Gómez, Ángela Skantria Salazar, Juan Hember Tabares, Cristian Andrés Restrepo, Miguel Ángel Ruiz, Myriam Consuelo López, Patricia Reyes 368

- Efecto mutagénico y genotóxico, y expresión de los genes *Rad51C, Xiap, P53* y *Nrf2* inducidos por extractos antipalúdicos de plantas recolectadas en el Vaupés medio, Colombia
Claudia Viviana Barbosa, Carlos Enrique Muskus, Luz Yaneth Orozco, Adriana Pabón 378

- Caracterización molecular de los serotipos no vacunales 11A, 15 B/C y 23A de *Streptococcus pneumoniae* recuperados de aislamientos invasivos en Colombia
Paola Andrea Palacios, Carolina Duarte, Olga Sanabria, Jaime Moreno 390

- Precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente
Nelson José Alvis-Zakzuk, María de los Angeles Carrasquilla, Verónica Jhajaira Gómez, Jaime Robledo, Nelson Rafael Alvis-Guzmán, José Mauricio Hernández 397

- Composición corporal y condición física de escolares colombianos de educación secundaria y media de Ibagué
Constanza Palomino-Devia, José Antonio González-Jurado, Carlos Alberto Ramos-Parraci 408

- La educación del personal de salud: clave para la eliminación de la sífilis congénita en Colombia
Juan Pablo Garcés, Luisa Consuelo Rubiano, Yenifer Orobio, Martha Castaño, Elizabeth Benavides, Adriana Cruz 416

Comunicación breve

- Caracterización molecular de los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* de pacientes con HIV, Guayaquil, Ecuador
Sunny Sánchez, Dolores Zambrano, Maylen García, César Bedoya, Carlos Fernández, María Teresa Illnait-Zaragozí 425

- Cartas al editor** 431

Instrucciones a los autores

Contents

Editorial

- Sexually transmitted infections, a permanent challenge on the rise
Miguel A. Guzmán 295

Images in biomedicine

- Blood-feeding of *Rhodnius prolixus*
Kevin Escandón-Vargas, Carlos A. Muñoz-Zuluaga, Liliانا Salazar 299

Case presentation

- Disseminated toxoplasmosis in a heart transplant patient despite co-trimoxazole prophylaxis: A case report
Victoria Dávila, Gustavo Roncancio-Villamil, Luis Alfonso Correa, Catalina Restrepo, Camilo Alberto Madrid, Javier Mauricio González 303

Original articles

- Construct validity and internal consistency of three factor structures and two scoring methods of the 12-item General Health Questionnaire
Miguel Simancas-Pallares, Katherine Margarita Arrieta, Luisa Leonor Arévalo 308

- Profile of gastrointestinal diseases in a pediatric gastroenterology center in Colombia: 15 years of follow-up
Wilson Daza, Silvana Dadán, Michelle Higuera 315

- Evaluation of the toxic effects of doramectin, ivermectin and eprinomectin against *Triatoma infestans* using a rat model
Martín Dadé, Martín Daniele, Nora Mestorino 324

- Pediculus capitis* in schoolchildren of the urban area of Nuevo León, México: Analyses of associated factors
Zinnia J. Molina-Garza, Lucio Galaviz-Silva 333

- Socioeconomic status, eating patterns, and heavy metals exposure in women of childbearing age in Cali, Colombia
Roger Figueroa, Diana Caicedo, Ghislaine Echeverry, Miguel Peña, Fabián Méndez 341

- Antimicrobial susceptibility profile in urinary pathogens causing community-acquired infections in diabetic patients in Colombia
Laura Cristina Nocua-Báez, Jorge Alberto Cortés, Aura Lucía Leal, Gerson Fitzgerald Arias, María Victoria Ovalle-Guerrero, Sandra Yamile Saavedra-Rojas, Giancarlo Buitrago, Javier Antonio Escobar-Pérez, Betsy Castro-Cardozo 353

- Detection of *Trypanosoma cruzi* antibodies in multitransfused patients in Colombia
Mauricio Beltrán, Andrea Herrera, Astrid Carolina Flórez, Maritza Berrío, María Isabel Bermúdez 361

- Profiles of intestinal polyparasitism in a community of the Colombian Amazon region
Julián A. Fernández-Niño, Claudia I. Astudillo-García, Laura María Segura, Natalia Gómez, Ángela Skantria Salazar, Juan Hember Tabares, Cristian Andrés Restrepo, Miguel Ángel Ruiz, Myriam Consuelo López, Patricia Reyes 368

- Mutagenicity, genotoxicity and gene expression of *Rad51C*, *Xiap*, *P53* and *Nrf2* induced by antimalarial extracts of plants collected from the middle Vaupés region, Colombia
Claudia Viviana Barbosa, Carlos Enrique Muskus, Luz Yaneth Orozco, Adriana Pabón 378

- Molecular characterization of non-vaccine *Streptococcus pneumoniae* serotypes 11A, 15 B/C and 23A recovered from invasive isolates in Colombia
Paola Andrea Palacios, Carolina Duarte, Olga Sanabria, Jaime Moreno 390

- Diagnostic accuracy of three technologies for the diagnosis of multi-drug resistant tuberculosis
Nelson José Alvis-Zakzuk, María de los Angeles Carrasquilla, Verónica Jhajaira Gómez, Jaime Robledo, Nelson Rafael Alvis-Guzmán, José Mauricio Hernández 397

- Body composition and physical fitness in Colombian high school students from Ibagué
Constanza Palomino-Devia, José Antonio González-Jurado, Carlos Alberto Ramos-Parraci 408

- Educating health workers is key in congenital syphilis elimination in Colombia
Juan Pablo Garcés, Luisa Consuelo Rubiano, Yenifer Orobio, Martha Castaño, Elizabeth Benavides, Adriana Cruz 416

Brief communication

- Molecular characterization of *Cryptococcus neoformans* isolates from HIV patients, Guayaquil, Ecuador
Sunny Sánchez, Dolores Zambrano, Maylen García, César Bedoya, Carlos Fernández, María Teresa Illnait-Zaragozí 425

- Letters to editor 431

Instructions for authors

Editorial

Infecciones de transmisión sexual, un reto permanente y en constante aumento

Las infecciones de transmisión sexual constituyen un grupo de enfermedades de la mayor importancia por su impacto en la calidad de vida del hombre. Su particular forma de transmisión por el contacto sexual íntimo entre dos seres, uno infectado y uno sensible, se ve favorecida por múltiples factores de orden social, cultural y económico, lo cual plantea grandes retos para su control efectivo y las convierte en uno de los más grandes problemas de salud pública a nivel mundial (1).

En este grupo de enfermedades se incluyen aquellas que son necesaria y obligadamente de transmisión sexual, así como aquellas en las que esta puede ocurrir con gran frecuencia, como en el caso de la hepatitis B. A ello se suma el reciente problema planteado por el virus del Zika, el cual puede permanecer viable hasta por 60 días en el líquido seminal y ser transmitido por el varón a su eventual pareja sexual (2).

Se estima que en el mundo cada día más de un millón de personas contrae una infección de transmisión sexual y que anualmente se infectan, por lo menos, 357 millones de personas (3). Según informes del Ministerio de Salud y Protección Social, en Colombia se registran cerca de 98.423 casos al año (4).

La infección por el virus de la inmunodeficiencia adquirida afecta a 36,7 millones de personas en el mundo y el número de nuevos infectados en el 2015 fue de 2,1 millones (5); según el DANE, en Colombia hay 92.379 casos (6,7). En el mundo, la sífilis afecta a 12 millones de personas (8) y, en Colombia, se reportaron 7.354 casos en el 2009 (7). En el 2011, solo en los Estados Unidos se registraron 301.174 casos de infección gonocócica (9) y, en Colombia, 2.788 casos (7). En el 2009, en Estados Unidos se presentaron 1'244.180 casos de uretritis no gonocócica causada por *Chlamydia* spp., siendo, de hecho, la enfermedad infecciosa más informada en esa nación (9,10), en tanto que en Colombia, dado el subregistro, se estima que los casos se aproximan a los 1.500 por año (4). El herpes genital afecta a 500 millones de personas en el mundo (3,11) y, en Colombia la cifra fue de 9.766 casos en el 2011 (4). En cuanto al papiloma humano, se estima que 290 millones de mujeres están infectadas en el mundo (3) y, en Colombia, la cifra registrada en el 2011 en hombres y mujeres fue de 19.478 casos, en tanto que se reportaron 1.279 casos de hepatitis B (4).

Las infecciones mencionadas son las más importantes entre las de transmisión sexual, no solo por su altísima frecuencia mundial sino por sus graves implicaciones para la salud de los afectados y, aunque otras ocurren con menor frecuencia, no por ello deben ser desatendidas; tal es el caso del linfogranuloma venéreo, el granuloma venéreo, el chancro blando, la tricomoniasis y el molusco contagioso, entre otras (4).

Todas estas condiciones son de fácil diagnóstico clínico y, además, en nuestros días algunas de ellas han variado su presentación clínica, por ejemplo, la sífilis, que hoy dista mucho de ser aquella aterradora enfermedad descrita por grandes maestros franceses como Philippe Ricord (12) o Alfred Fournier (13). Lo mismo ha sucedido con otras presentaciones clínicas tales como las gomas benignas, el aneurisma aórtico, la parálisis general progresiva o el tabes dorsal. Sin embargo, en el 2011 se reportaron en Colombia 992 casos de sífilis tardía, aunque no se detallaba el tipo de cuadro clínico al que pudieran corresponder (4).

Los recursos de laboratorio con los que cuenta la medicina contemporánea permiten precisar la etiología de cada una de estas entidades. Tales recursos incluyen desde el simple examen directo, como el del campo oscuro en el caso de la sífilis, hasta las más refinadas técnicas de PCR para establecer la carga viral, como en el caso de la infección con HIV (14).

El manejo terapéutico de cada una de estas condiciones es específico y relativamente simple en la mayoría de los casos, y en algunas de ellas el tratamiento ha logrado un cambio radical, como en el caso del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, el cual pasó de ser una enfermedad progresiva e invariablemente fatal, a ser una condición crónica con una expectativa de vida de más de 35 años y una calidad de vida muy aceptable (15).

Otras infecciones de transmisión sexual continúan siendo un serio problema, específicamente el herpes genital, que afecta a más de 500 millones de personas en el mundo, que deben enfrentar un proceso crónico con recurrencias frecuentes, las cuales deben manejarse mediante la administración de antivirales específicos que, hasta ahora, no ofrecen una solución definitiva para tan angustiante problema (11). La vacuna, que sería la solución ideal para futuras generaciones, es apenas un anhelo y, pese a todos los proyectos, dicha solución no se vislumbra en el futuro cercano (16).

Otro problema que merece toda la atención de los infectólogos es el manejo terapéutico de la infección por *Neisseria gonorrhoeae*. Este microorganismo, cuyo tratamiento ha recorrido todo el largo camino de la era de los antimicrobianos, desde las sulfas hasta las fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación, se ha hecho resistente a todos ellos pasando de la sensibilidad absoluta a la penicilina en los años 50 del siglo pasado hasta la total resistencia a este antibiótico en nuestros días, lo cual ha descartado el uso de tan importante recurso terapéutico (17,18). En la actualidad, la resistencia amenaza seriamente la utilidad de las cefalosporinas de tercera generación, como la ceftriaxona, imponiendo un manejo combinado con azitromicina, según la recomendación de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta (19). La gran pregunta que surge es, desde luego, ¿hasta cuándo?, lo cual nos aboca a una muy alarmante situación frente a una condición de tan elevada frecuencia mundial (9).

Capítulo aparte merece el tema de estas infecciones y su relación con el embarazo, pues un número apreciable de ellas, de hecho las más importantes, puede infectar el feto con muy graves consecuencias, por lo cual debe enfatizarse la necesidad de un estricto control prenatal, ya que la infección es perfectamente prevenible con los recursos de la medicina contemporánea (8,15).

La infección gonocócica materna puede transmitirse al niño en el momento del nacimiento, al paso por el canal vaginal, y el resultado puede ser la oftalmía purulenta del recién nacido y la posibilidad de una pérdida total de la visión.

Asimismo, el herpes genital puede infectar al niño en el momento del nacimiento, bien sea porque la madre tenga en el momento del parto un proceso sintomático o porque, siendo asintomática, esté eliminando el virus en las secreciones vaginales. De tal manera, el niño puede desarrollar un herpes neonatal sistémico de pronóstico sombrío. Sabiendo que, según las estadísticas en el mundo, hay más de 500 millones de personas infectadas con *Herpes simplex* de tipo 1 o 2, y que de este gran total, por lo menos, 200 millones son mujeres, es dable pensar que un apreciable número de ellas está en edad fértil, lo cual determinaría un muy alto riesgo de infección en los recién nacidos (3,11).

La infección con el virus de la inmunodeficiencia adquirida en la mujer gestante trae como consecuencia, en un porcentaje de más de 30 %, la transmisión vertical al feto, lo cual puede resultar en recién nacidos ya infectados desde el vientre, o en el momento del parto, o en el periodo perinatal, situaciones muy graves que pueden prevenirse en gran medida con los recursos terapéuticos actuales (15).

La infección con el virus del Zika, la cual nos ha sorprendido por su rápida propagación en las Américas debida a la presencia tan extendida de *Aedes aegypti*, su transmisor natural, tan conocido para nosotros en Colombia, representa una preocupación adicional por la posibilidad de su transmisión sexual, ya que el virus puede permanecer viable en el líquido seminal y otras secreciones durante más de 60 días y, por lo tanto, puede infectar a la futura madre y al feto por transmisión vertical directa, afectando de forma muy seria su sistema nervioso central (2,20,21). Dada la información con que hoy se cuenta, es muy difícil negar que este virus, como el de la rubéola, pueda producir malformaciones en el feto, ya que, como todo parece indicar, hay entre estos dos virus muy estrechas similitudes a nivel molecular que explicarían sus devastadoras consecuencias en el sistema nervioso del feto (22).

Por último, se sabe desde hace mucho tiempo que la sífilis puede afectar al feto causando la sífilis congénita, conocida en el pasado como heredosífilis. *Treponema pallidum*, la bacteria que la causa,

puede atravesar la barrera placentaria y llegar al feto entre las semanas 18 y 29 de la gestación. Las consecuencias en el feto pueden ser muy variadas, entre ellas la muerte fetal, o el aborto, o puede ocurrir que el niño nazca aparentemente sano y posteriormente desarrolle síntomas, o que nazca con múltiples manifestaciones que posibiliten el diagnóstico inmediato y, por ende, su tratamiento que, de ser el adecuado, frena la posibilidad de desarrollar posteriores lesiones irreversibles (8).

La sífilis congénita ocurre en todo el mundo y en algunos países su frecuencia es elevada. En el 2013, hubo más de 900.000 mujeres embarazadas con sífilis en el mundo y cerca de 350.000 presentaron situaciones que incluyeron, inclusive, la muerte fetal (3). Los informes de sífilis en Colombia dan cuenta de alrededor de 2.000 casos al año (4).

Que exista sífilis congénita en nuestros días es un hecho que debe avergonzar a los sistemas de atención sanitaria de los países del mundo, porque indica una de las siguientes posibilidades: que la madre no recibió atención prenatal o que, si la recibió, se dejó pasar el diagnóstico o, si se hizo, no recibió el adecuado tratamiento. La sífilis congénita no debería existir en ningún lugar del mundo (8).

Consciente de este grave problema, la Organización Mundial de la Salud se ha planteado como prioridad la erradicación de la sífilis congénita y trazó las estrategias para lograr este noble propósito, sin desconocer, desde luego, las grandes y múltiples dificultades para alcanzarlo (8).

En la lucha por controlar las infecciones de transmisión sexual, la educación de la comunidad es, probablemente, el arma más efectiva, pues el conocimiento sobre sus características y consecuencias conduce, necesariamente, a evitar adquirirlas, aunque precisamente por ello es una estrategia que no se acepta con facilidad. La actividad sexual del hombre es la más constante de todas, y en su afán por satisfacerla las personas pueden llegar a extremos peligrosos. Las estadísticas mundiales y nacionales nos dicen que los grupos de edad con las frecuencias más altas están entre los 15 y los 29 años de edad, y en ese núcleo hay sectores que consideran como una conducta absolutamente normal el que cualquier celebración termine necesariamente en una relación sexual discriminada o indiscriminada, y ahí radica el problema, a mayor número de relaciones de tal naturaleza mayor riesgo de contagio.

Al destacar aquí la importancia de las infecciones de transmisión sexual en la salud humana, *Biomédica* ha querido llamar la atención sobre este hecho de importancia social que concierne a todos y en cuyo control todos debemos comprometernos.

Miguel A. Guzmán
Editor asociado, Revista *Biomédica*
Investigador emérito, Instituto Nacional de Salud

Referencias

1. **Gerbase AC, Rowley JT, Mertens TE.** Global epidemiology of sexually transmitted diseases. *Lancet*. 1998;351(Supl.3):2-4. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)90001-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)90001-0)
2. **Petersen LR, Jamieson DJ, Powers AM, Honein MA.** Zika virus. *N Engl J Med*. 2016;374:1552-63. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1602113>
3. **Organización Mundial de la Salud.** Infecciones de transmisión sexual. Nota descriptiva N° 110. Agosto de 2016. Fecha de consulta: 30 de mayo de 2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/es/>
4. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Situación de las infecciones de transmisión sexual diferentes al VIH. Colombia, 2009-2011. p. 17.
5. **Centers for Disease Control and Prevention.** Estadísticas 2015. Fecha de consulta: 30 de mayo de 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/hiv/spanish/basics/statistics.html>
6. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Boletín epidemiológico, situación del VIH/sida. Colombia, 2013. p. 19.
7. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Situación del VIH en Colombia, 2015. p. 140.
8. **Organización Mundial de la Salud.** Eliminación de la sífilis congénita: fundamentos y estrategias para la acción. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2008. p. 49.
9. **Centers for Disease Control and Prevention.** Clamidia y gonorrea: las dos enfermedades infecciosas informadas con más frecuencia en Estados Unidos. Fecha de consulta: 30 de mayo de 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/datos/etsdatos>

10. **Wiesenfield HC.** Screening for *Chlamydia trachomatis* infection in women. *N Engl J Med.* 2017;376:765-73. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1412935>
11. **Looker KJ, Magaret AS, Turner KME, Vickerman P, Gottlieb SL, Newman LM.** Global estimates of prevalent and incident *Herpes simplex* type 2 infection in 2012. *PLoS One.* 2015;10:e0140765. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114989>
12. **Ricord P.** Lectures on venereal and other diseases arising from sexual intercourse: delivered in the summer of 1847, at the Hôpital du Midi, Paris / y M. Ricord; reported and translated by Victor de Meric. Philadelphia: Barrington and Haswell; 1849. p. 300.
13. **Fournier JA.** Clinique de l'hôpital de Lourcine. Leçons sur la syphilis, étudiée plus particulièrement chez la femme, A. Delahaye et E. Lecrosnier (Paris), 1881. p. 974
14. **Clarke JR.** Molecular diagnosis of HIV. *Expert Rev Mol Diagn.* 2002;2:233-9. <https://doi.org/10.1586/14737159.2.3.233>
15. **Gandhi M, Gandhi RT.** Single pill combination regimens for treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 2014;371:248-59. <https://doi.org/10.1056/NEJMct1215532>
16. **Stanberry LR, Spruance SL, Cunningham AL, Bernstein DI, Mindel A, Sacks S, et al.** Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *N Engl J Med.* 2002;347:1652-61. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011915>
17. **Bolan GA, Sparling PF, Wasserheit JN.** The emerging threat of untreatable gonococcal infection. *N Engl J Med.* 2012;366:485-7. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1112456>
18. **Lewiss DA.** Global resistance of *Neisseria gonorrhoeae*. When theory becomes reality. *Curr Opin Infect Dis.* 2014;27:62-7. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000025>
19. **Centers for Disease Control and Prevention.** Sexually transmitted diseases. Treatment guidelines. Atlanta GA: Centers for Diseases Control and Prevention; 2015. *MMWR Recomm Rep* 2015;64(No. RR-3): 1-137.
20. **Broutet N, Krauer F, Riesen M, Khalakdina A, Almiron M, Aldighieri S, et al.** Zika virus as a cause of neurological disorders. *N Engl J Med.* 2016;374:1506-9. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1602708>
21. **Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, Kuivanen S, Jääskeläinen AJ, Smura T, et al.** Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med.* 2016;374:2142-51. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1601824>
22. **Gómez LA, Montoya G, Rivera HM, Hernández JC.** Características de la estructura molecular de las proteínas E del virus del Zika y E1 del virus de la rubéola y posibles implicaciones en el neurotropismo y en las alteraciones del sistema nervioso. *Biomédica* 2017;37(Supl.1):121-32. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i0.3807>

IMAGES IN BIOMEDICINE

Blood-feeding of *Rhodnius prolixus*

Kevin Escandón-Vargas^{1,2}, Carlos A. Muñoz-Zuluaga^{1,3}, Liliana Salazar³

¹ Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

² Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Departamento de Morfología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Triatomines (Hemiptera: Reduviidae) are blood-sucking insect vectors of the protozoan *Trypanosoma cruzi* which is the causative agent of Chagas' disease. *Rhodnius prolixus* is the most epidemiologically important vector of *T. cruzi* in Colombia. Triatomines are regarded to be vessel-feeders as they obtain their blood meals from vertebrate hosts by directly inserting their mouthparts into vessels. Microscopic techniques are useful for visualizing and describing the morphology of biological structures. Here, we show images of the blood-feeding of *R. prolixus*, including some histological features by light microscopy and scanning electron microscopy of the mouthparts of *R. prolixus* when feeding on a laboratory mouse.

Key words: *Rhodnius*; Triatominae; microscopy; histology.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3304>

Alimentación de *Rhodnius prolixus*

Los triatominos (Hemiptera: Reduviidae) son insectos hematófagos vectores del protozoo *Trypanosoma cruzi*, el cual causa la enfermedad de Chagas. *Rhodnius prolixus* es el vector de *T. cruzi* de mayor importancia epidemiológica en Colombia. Para alimentarse, los triatominos introducen su probóscide directamente en los vasos sanguíneos de los huéspedes vertebrados. La microscopía es una técnica útil para visualizar y describir la morfología de estructuras biológicas. Se presentan imágenes de la hematofagia de *R. prolixus*, incluidas algunas características histológicas visibles por microscopía de luz y microscopía electrónica de barrido de las partes bucales de *R. prolixus* al alimentarse de un ratón de laboratorio.

Palabras clave: *Rhodnius*; Triatominae; microscopía; histología.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3304>

Triatomines (Hemiptera: Reduviidae) are blood-sucking insect vectors of the protozoan *Trypanosoma cruzi* which is the causative agent of Chagas' disease (American trypanosomiasis). Vector-borne transmission is the main infection route and occurs in many areas of the Americas (1). Despite significant progress towards the control of domestic vector infestation, Chagas' disease remains a major public health problem in Latin America due to its epidemiological and economic burden (2-4).

According to the eco-epidemiological studies carried out in Colombia, *Rhodnius prolixus* is the most important vector of *T. cruzi* in the country and has successfully adapted to human domiciles (2,5,6). The preference for feeding on humans, the high susceptibility to infection with *T. cruzi*, the rapid development cycle and the short defecation time are factors favoring its vector capacity (5).

The first extensive studies on the blood-feeding of triatomine bugs were published in 1952 and 1953 by Barth, who detailed the internal anatomy of the head of *Triatoma infestans* and its feeding behavior on guinea pigs (7,8). Thereafter, Lavoipierre, *et al.*, observed the mechanism of feeding of three triatomine species (*R. prolixus*, *T. infestans* and *T. protracta*) on a rabbit, a white rat, and a guinea

Corresponding author:

Kevin Escandón-Vargas, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Calle 4B N° 36-00, Cali, Colombia
Telephone number: (572) 518 5652
kevin.escandonvargas@gmail.com

Received: 01/04/16; accepted: 15/11/16

Author's contributions:

Kevin Escandón-Vargas conceived the study idea, reviewed the literature and drafted the manuscript.
Carlos A. Muñoz conceived the study idea, reviewed the literature and performed the laboratory experiments.
Liliana Salazar contributed to the analysis of the experiments and to the writing of the manuscript.
All authors reviewed and approved the manuscript.

pig, directing particular attention to the structure and function of the mouthparts of *R. prolixus* (9). An extensive morphological review on *R. prolixus* was published in 1969 by Ramírez-Pérez (10). Friend, *et al.*, also made observations of mouthpart movements, salivation and ingestion in *R. prolixus* and correlated them with changes of electrical resistance (11). More recently, the functional anatomy of the hypopharynx and the salivary pump of *R. prolixus* has been elucidated (12).

The head, mouthparts and the probing process of a triatomine bug are shown in figure 1. Triatomines are regarded to be vessel-feeders because they obtain blood from vertebrate hosts by directly inserting their mouthparts into vessels (solenophagy or capillary feeding) (9). Triatomines rely on the sense of CO₂ to search for blood meals from sleeping hosts (13). Contact with the host occurs only during feeding, which lasts approximately 20 to 30 min (14). It has been described that these insects feed on a host swinging their proboscis forward and piercing the skin by rapid alternating movements of

the resistant mandibles which penetrate only into the superficial tissues. Then, the maxillae (maxillary bundle) penetrate deeply into the dermis with restless twisting movements (9).

Triatomines possess a wide variety of bioactive molecules in the saliva which facilitate the blood meal by reducing host physiological responses related to haemostasis, inflammation, and immune activation. In *R. prolixus*, saliva deposition into the host skin occurs throughout the probing and engorgement phases of the feeding (12,14). Feeding takes place from blood vessels rather than from small hemorrhages which are formed as a result of probing. When the maxillary bundle enters a blood vessel of suitable caliber, probing ceases and the insect gut begins to engorge (9). Blood ingestion through the food canal is aided by the cibarial pump, which is regulated by several strong muscles of the insect head (7). The bug continues to suck up its blood meal until it is full, but the feeding process is not always continuous and may be interrupted and repeated (9).

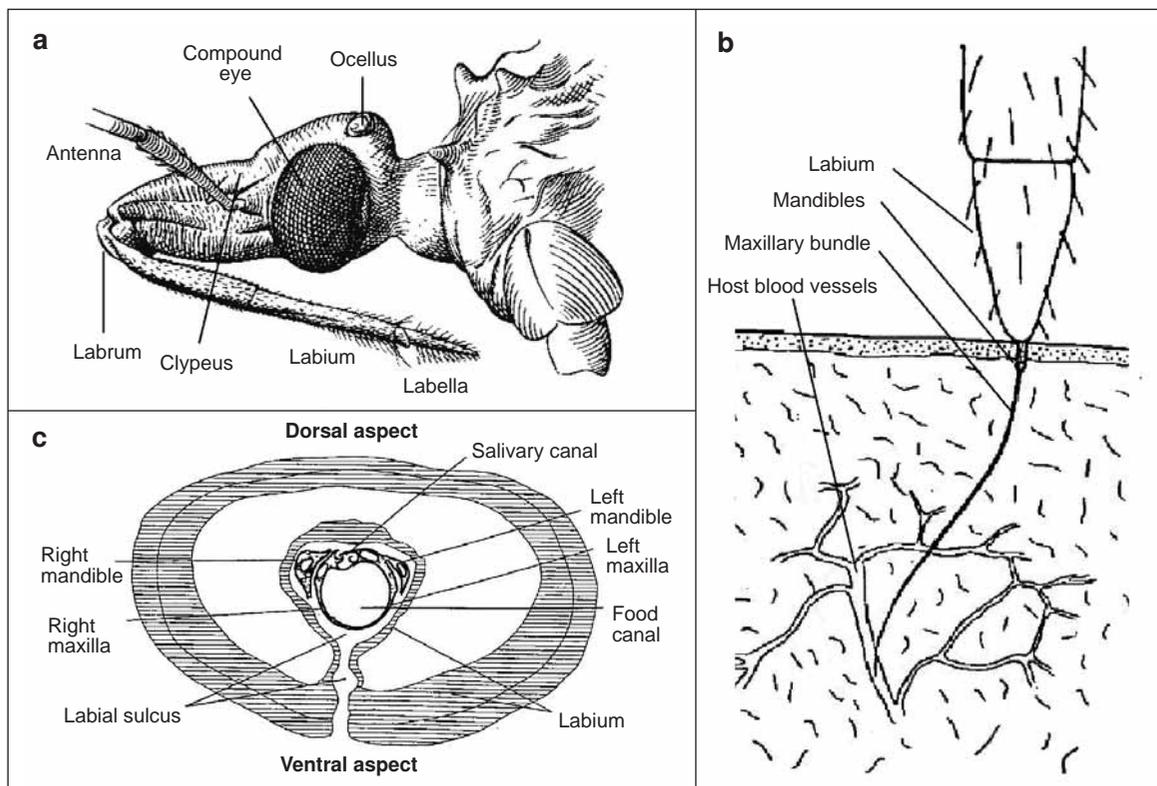


Figure 1. Schematic diagrams of the head and mouthparts of a triatomine bug. **a.** Lateral view of the head and proboscis. **b.** Closer look of the distal part of the proboscis during the end of probing. The mandibles pierce the host skin and the maxillary bundle is thrust into the tissues and enters the lumen of a vessel. **c.** Cross-sectional view of the proboscis close to the base of the labium. Figure part a by courtesy of The Trustees of the Natural History Museum, London, UK; parts b and c adapted and modified from reference 9 with permission for reproduction from the publisher Taylor and Francis.

Microscopic techniques are useful for visualizing and describing the morphology of biological structures. Here, we show images of the blood-feeding of *R. prolixus*, including some histological features of the mouthpart structures implicated.

Third- and fourth-instar uninfected nymphs of *R. prolixus* were obtained from the insectary colonies of the *Departamento de Microbiología* of the *Facultad de Salud* of *Universidad del Valle* in Cali, Colombia. In the *Laboratorio de Histología* of the University, an anesthetized laboratory mouse (*Mus musculus*) was exposed to the triatomines for blood-feeding (figures 2 and 3). Triatomines were decapitated with a curved iris scissor during blood-feeding. We obtained biopsy samples of the skin pierced by the feeding apparatus or proboscis, and of the head of the insect, and processed them accordingly.

Light microscopy (figures 4 and 5) was performed in the *Laboratorio de Ingeniería de Materiales* of *Universidad del Valle* and scanning electron microscopy procedures (JEOL microscope JSM-6490LV) (figures 6, 7 and 8) were performed in the *Laboratorio de Materiales de la Facultad de Ingeniería* of *Universidad del Valle*. Animal experimentation was part of the practical component of



Figure 2. Interaction between *Rhodnius prolixus* and a laboratory mouse. The triatomine extended its proboscis to reach the skin of the mouse and performed several biting attempts.



Figure 3. Proboscis of *Rhodnius prolixus* piercing the skin of the mouse. The terminal portion of the proboscis is thinner at the level in which the mandibular and the maxillary stylets are thrust into the tissues.

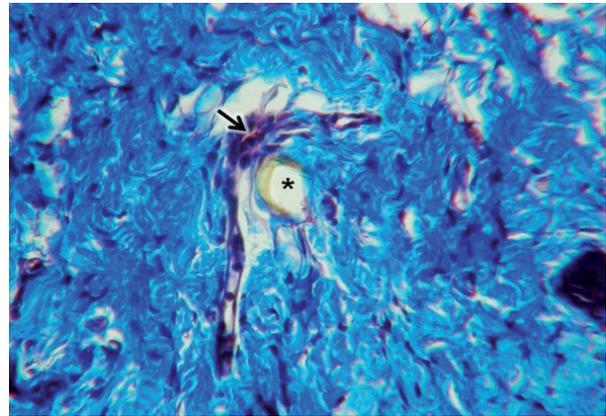


Figure 4. Blood vessel (arrow) collapsed likely due to active sucking up of blood through the maxillary bundle (asterisk). The connective tissue is stained blue. Masson's trichrome stain, 400X

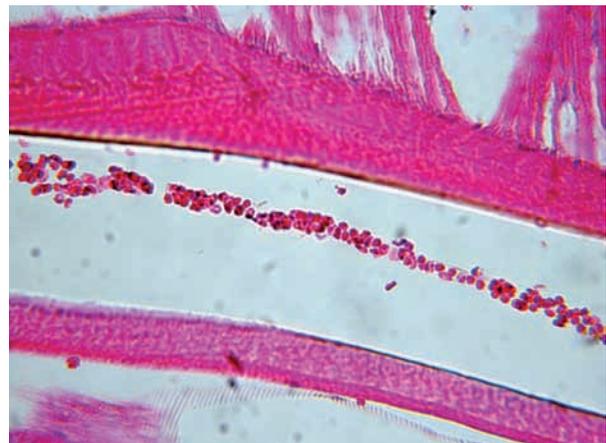


Figure 5. Blood flow throughout the lumen of the pharynx of *Rhodnius prolixus* during blood-feeding. Haematoxylin and eosin stain, 400X

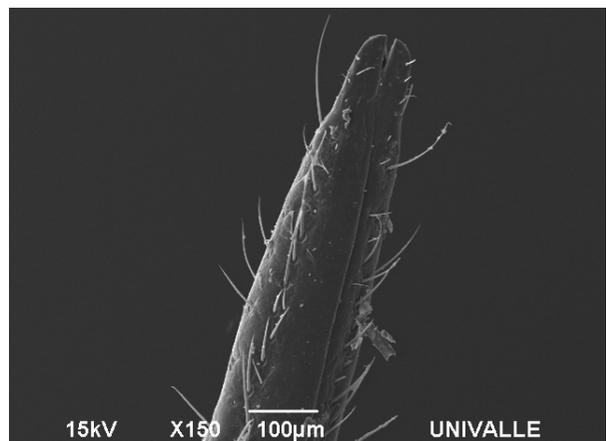


Figure 6. Scanning electron micrograph of the distal end of the labella of the labium of *Rhodnius prolixus*. The ventral lid is not visualized.

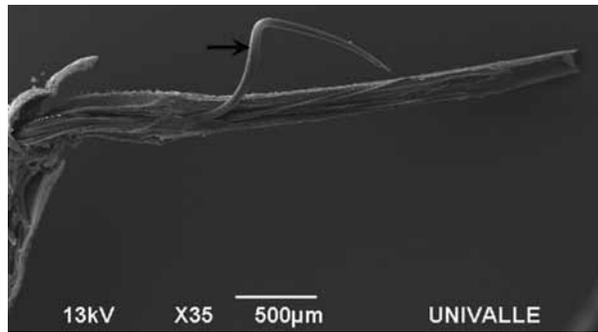


Figure 7. Scanning electron micrograph of the left half of the proboscis of *Rhodnius prolixus*. Note the retraction of the maxillary bundle (arrow) due to the great flexibility of its structure.

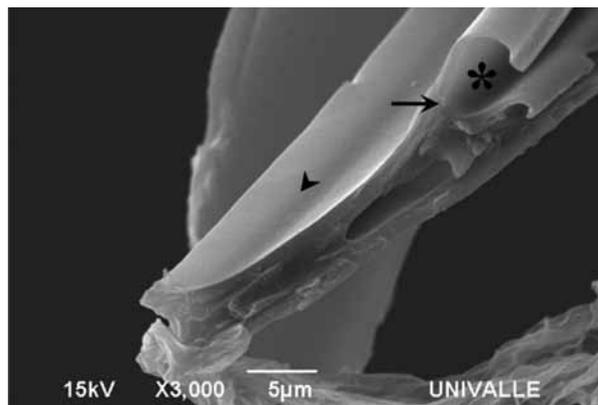


Figure 8. Scanning electron micrograph of the left part of the proboscis of *Rhodnius prolixus* showing the maxillary inner component (arrow tip). When one of the maxillae (arrow) articulates with its opposite, the salivary canal is formed (*).

the subjects “Basic histochemical techniques” and “Electron microscopy techniques” taken by one of the authors.

Acknowledgments

We thank the *Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle*, for providing us the triatomines, as well as Nhora Holguín and Martha Lucía Ceballos from the *Departamento de Morfología, Facultad de Salud, Universidad del Valle*, for their assistance in the *Laboratorio de Histología*, and Gustavo A. Bolaños, from the *Laboratorio de Materiales, Facultad de Ingeniería, Universidad del Valle*, for his help during scanning electron microscopy experiments.

Conflicts of interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

None.

References

1. **Bern C.** Chagas' disease. *N Engl J Med.* 2015;373:456-66. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1410150>
2. **World Health Organization.** Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Grupo de trabajo científico. 17 a 20 de abril de 2005, Buenos Aires: WHO; 2007. Accessed: March 10, 2016. Available from: <http://www.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/reporte-enfermedad-chagas/en/>.
3. **World Health Organization.** Chagas disease in Latin America: An epidemiological update based on 2010 estimates. *Wkly Epidemiol Rec.* 2015;90:33-43.
4. **Moncayo Á, Silveira AC.** Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104(Suppl.1):17-30. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000900005>
5. **Guhl F.** Current status of the control of Chagas disease in Colombia. *Medicina (B. Aires).* 1999;59(Suppl.2):103-16.
6. **Guhl F, Aguilera G, Pinto N, Vergara D.** Updated geographical distribution and ecoepidemiology of the triatomine fauna (Reduviidae: Triatominae) in Colombia. *Biomédica.* 2007;27(Suppl.1):143-62. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i1.258>
7. **Barth R.** Estudos anatômicos e histológicos sobre a sub-família Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). I: A cabeça do *Triatoma infestans*. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1952;50:69-196. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761952000100004>
8. **Barth R.** Estudos anatômicos e histológicos sobre a sub-família Triatominae (Heteroptera, Reduviidae). III: Pesquisas sobre o mecanismo da picada dos Triatominae. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1953;51:11-68. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761953000100002>
9. **Lavoipierre MM, Dickerson G, Gordon RM.** Studies on the methods of feeding of blood-sucking arthropods. I. The manner in which triatomine bugs obtain their blood-meal, as observed in the tissues of the living rodent, with some remarks on the effects of the bite on human volunteers. *Ann Trop Med Parasitol.* 1959;53:235-50. <https://doi.org/10.1080/00034983.1959.11685921>
10. **Ramírez-Pérez J.** Estudio sobre la anatomía de *Rhodnius prolixus*. *Rev Venez Sanid Asist Soc.* 1969;34:9-98.
11. **Friend WG, Smith JJ.** Feeding in *Rhodnius prolixus*: Mouthpart activity and salivation, and their correlation with changes of electrical resistance. *J Insect Physiol.* 1971;17:233-43. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(71\)90207-1](https://doi.org/10.1016/0022-1910(71)90207-1)
12. **Wenk P, Lucic S, Betz O.** Functional anatomy of the hypopharynx and the salivary pump in the feeding apparatus of the assassin bug *Rhodnius prolixus* (Reduviidae, Heteroptera). *Zoomorphology.* 2010;129:225-34. <https://doi.org/10.1007/s00435-010-0115-7>
13. **Guarenstein PG, Lazzari CR.** Host-seeking: How triatomines acquire and make use of information to find blood. *Acta Trop.* 2009;110:148-58. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.09.019>
14. **Soares AC, Carvalho-Tavares J, Gontijo N de F, dos Santos VC, Teixeira MM, Pereira MH.** Salivation pattern of *Rhodnius prolixus* (Reduviidae: Triatominae) in mouse skin. *J Insect Physiol.* 2006;52:468-72. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.01.003>

CASE PRESENTATION

Disseminated toxoplasmosis in a heart transplant patient despite co-trimoxazole prophylaxis: A case report

Victoria Dávila¹, Gustavo Roncancio-Villamil^{1,2}, Luis Alfonso Correa^{3,4}, Catalina Restrepo⁴, Camilo Alberto Madrid¹, Javier Mauricio González¹

¹ Servicio de Enfermedades Infecciosas, Clínica Cardio VID, Medellín, Colombia

² Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

³ Servicio de Patología, Laboratorio Clínico VID, Medellín, Colombia

⁴ Sección de Dermatología, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

We report the case of a 61 year-old male who underwent heart transplantation eight months before developing a systemic condition with central nervous system, lung, kidney, colonic, cutaneous, and hematologic involvement, found to be secondary to a systemic toxoplasmosis despite co-trimoxazole prophylaxis in a previous-to-transplant seronegative patient receiving a heart from a seropositive donor. A review of prophylactic options in our environment is discussed.

Key words: Toxoplasmosis; heart transplantation; immune tolerance; seroconversion.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3189>

Toxoplasmosis diseminada en un paciente con trasplante de corazón a pesar de la profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol

Se reporta el caso de un paciente de sexo masculino, de 61 años de edad, quien ocho meses después de someterse a un trasplante de corazón presentó una enfermedad sistémica con compromiso del sistema nervioso central y del sistema inmunológico, así como de pulmón, riñón, colon y piel, y a quien finalmente se le diagnosticó toxoplasmosis diseminada, a pesar de haber recibido profilaxis con trimetoprim-sulfametoxazol, debido a que el órgano provenía de un donante positivo para toxoplasmosis siendo él un receptor negativo. Se discuten las opciones de profilaxis en nuestro medio.

Palabras clave: toxoplasmosis; trasplante de corazón; tolerancia inmunológica; seroconversión.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3189>

Toxoplasmosis is an infection caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*. It is prevalent worldwide, affecting approximately one third of the world's population (1). Seroprevalence increases with age and there is no gender difference.

Toxoplasmosis is transmitted via oral intake of food contaminated with the parasite's cysts or oocysts. However, there are reports of transmission through transplanted organs and blood transfusions, as well as vertical transmission (2).

It evolves to a systemic disease, and only 10% of the affected population is symptomatic. The clinical

course is usually benign, but it can be lethal, especially in immunosuppressed patients (3). Systemic clinical signs include generalized adenopathies, myocarditis, polymyositis, pneumonitis, encephalitis and chorioretinitis. Skin manifestations are rare, though usually present in immunosuppressed patients. Given the great variability in the appearance of cutaneous toxoplasmosis, histopathological studies are required for diagnosis.

Although direct observation of the parasite is possible in most tissue samples, diagnosis should be confirmed by immunohistochemistry and polymerase chain reaction (PCR) (4).

Medical therapy is indicated when there is active skin or ocular infection, or congenital disease, and in all immunosuppressed patients. Sulfadiazine in combination with pyrimethamine is the treatment

Corresponding author:

Gustavo E. Roncancio, Calle 78N N° 75-21, Medellín, Colombia
Teléfono: (574) 445 4000, extensión 4314; fax: (574) 441 7837
groncancio@gmail.com

Received: 17/12/15; accepted: 20/10/16

Author's contributions:

Victoria Dávila prepared the draft version of the manuscript.

All authors contributed in the collection of clinical and laboratory data, the conception and design of the manuscript, and they all approved its final version.

of choice. Seronegative heart transplant patients should receive prophylaxis with pyrimethamine and sulfadiazine for the first three months followed by co-trimoxazole for the rest of their lives (5,6).

Case report

We report the case of a 61-year-old male patient with a past medical history of hypertension, dyslipidemia, hypothyroidism, heart failure with preserved ejection fraction and severe coronary artery disease, in whom surgical and percutaneous revascularization were performed. After surgery, the patient developed refractory angina despite optimal anti-ischemic medication which led to heart transplantation. Laboratory tests previous to transplant were discordant for *T. gondii* and human herpes viruses type I and II. The donor had positive immunoglobulin M (IgM), negative immunoglobulin G (IgG) for *T. gondii*, and positive IgG for herpes viruses (HV) type I and type II. The receptor was negative for both.

After eight months of transplant the patient was admitted with persistent diarrhea lasting 20 days, abdominal pain and malaise. The immunosuppression regimen included mycophenolate mofetil, 1 g every 12 hours, prednisolone, 5 mg per day, and cyclosporine, 150 mg every 12 hours. Prophylaxis with co-trimoxazole, 160/800 mg per day, was also given.

On physical examination the patient presented with tachycardia, normal blood pressure and respiratory rate, and no fever was documented. Vesicular lesions with clear content and erythematous base with dermatome distribution were seen in the right gluteus.

Initial laboratory tests showed anemia, leukopenia with lymphopenia, renal dysfunction and a positive Tzank test (table 1). Viral load for cytomegalovirus (CMV) was positive with 404.000 copies/ml; therapy with ganciclovir, 5 mg/kg every 12 hours, was started with initial improvement of the diarrhea.

However, two weeks later the patient persisted with leukopenia, the anemia worsened requiring red blood cell (RBC) transfusion and he developed fever as high as 39.8° C. The only additional finding was four 5 mm to 1 cm erythematous, mildly painful lesions, some in legs and thighs with white scaling in the center, and a similar lesion in the upper right eyelid (figure 1). The diarrhea reappeared, renal dysfunction worsened, as well as the complete blood count (CBC), now with pancytopenia (anemia, leukopenia, lymphocytopenia, neutropenia and thrombocytopenia).

Empirical therapy with anidulafungin plus cefepime was started for febrile neutropenia. *Toxoplasma* antibody seroconversion was documented. Therapy with clindamycin plus pyrimethamine was started and the skin lesions were biopsied.

Table 1. Diagnostic aids

Laboratory tests on admission	Creatinine 2.7 mg/dl, BUN 53 mg/dl CBC (leucocytes 3100, PMN 83%, lymphocytes 13%, hemoglobin 9.4, platelet count 250.000) AST 37 ALT 30 FA 80 TB 0.4 DB 0.3 Normal urinalysis Coprological examination with scarce leucocytes
Microbiology Day 5-30	Negative coproculture Negative blood cultures for fungus, bacteria, and mycobacteria
Serological and molecular tests Day 5-30	Latex agglutination test negative for <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Hystoplasma capsulatum</i> urinary antigen: Negative Serum galactomannan: Negative (Platelia) Serum CMV viral load: 404.000 copies/ml
Histopathology Day 20	Colonoscopy: Active chronic inflammation with erosive component. Negative histochemistry colorations Bone marrow biopsy: Hypocellular hematopoietic bone marrow without granuloma orcytophatic changes. Special colorations negative for organisms. Cultures were negative for fungus, bacteria and mycobacteria.
Other tests Day 20	Normal IgA, IgE, and IgM levels. Low IgG levels (593 mg/dl N: 700.6-1600 mg/dl). CSF studies: PCR for CMV, Epstein-Barr virus (EBV) and mycobacteria were negative. PCR for <i>Toxoplasma</i> was positive Low serum ADAMS-13 levels
Laboratory tests on discharge	Creatinine 1.4 mg/dl, BUN 24 mg/dl CBC (leucocytes 5.300, PMN 75%, lymphocytes 20%, hemoglobin 9.4, platelet count 229.000) PCR for <i>Toxoplasma</i> was positive.

BUN: Blood urea nitrogen; PMN: Polymorphonuclear; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; AP: Alkaline phosphatase; TB: Total bilirubin; DB: Direct bilirubin



Figure 1. A 5 mm erythematous papule with white scaling in the center

Histopathology of skin lesions was positive and immunohistochemistry for toxoplasmosis confirmed the presence of the parasite (figures 2 and 3). Molecular studies with blood and cerebrospinal fluid (CSF) PCR were also positive for *Toxoplasma* (7). Central nervous system magnetic resonance (MR) did not show focal lesions.

The initial course was unfavorable, the patient persisted with fever, headache, encephalopathy, oliguric renal failure, hepatitis, pancytopenia, metabolic acidosis and increased lactate dehydrogenase (LDH) up to 2.500 IU/L. Pulmonary patchy infiltrates were found. He was admitted to the intensive care unit for mechanical ventilation. Plasma exchange was started for suspected thrombotic thrombocytopenic purpura.

After a few days the patient's status improved, especially renal function and blood counts, but he persisted with hypogammaglobulinemia. CMV infection relapsed with poor response to ganciclovir. Gammaglobulin, 30 g intravenous (IV) weekly, was started with complete remission.

He was released after six weeks of therapy with clindamycin and pyrimethamine upon suspicion of co-trimoxazole resistance. Suppression with co-trimoxazole plus valganciclovir and gammaglobulin was maintained and the patient has been symptom-free for 28 months.

Discussion

This is a heart transplant patient who developed systemic toxoplasmosis with central nervous system, pulmonary, renal, colonic, cutaneous, and hematologic compromise secondary to disseminated

toxoplasmosis. *Toxoplasma gondii* infection after heart transplant is often a severe disease. The clinical presentation ranges from chorioretinitis to disseminated infection (pulmonary, myocardial, hepatic and CNS infection) (8).

Toxoplasmosis in immunocompromised patients is usually secondary to a reactivation of latent infection from the donor (9). In this case, previous to transplantation the donor's toxoplasmosis serology was discordant with the recipient's. *Toxoplasma* cysts may persist in the donor's myocardium, thus, hosts are at higher risk of developing the disease. With immunosuppression, the bradyzoites become tachyzoites, quickly proliferating and consequently destroying cells.

Before the use of prophylaxis with co-trimoxazole there was a higher risk of disseminated toxoplasmosis (10). Studies of seronegative heart

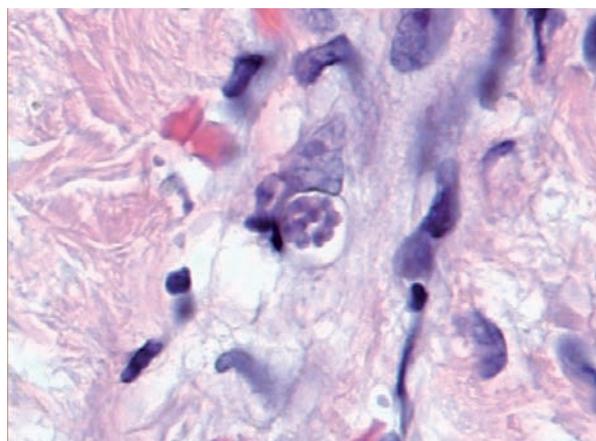


Figure 2. Skin histology from the lower limb showing *T. gondii* tachyzoites forming a pseudocyst. Giemsa stain, 40X.

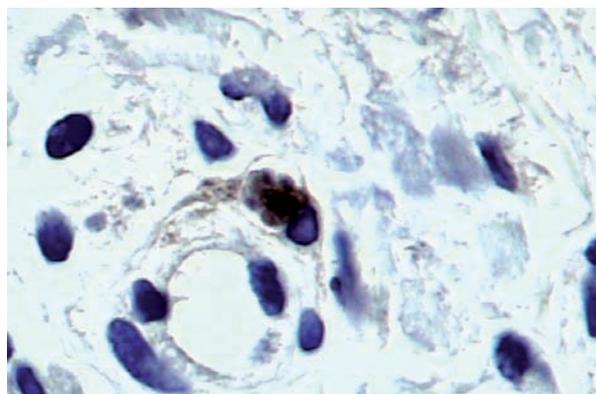


Figure 3. Special immunohistochemical staining for toxoplasma from the skin biopsy showing a pseudocyst. Toxoplasma RB-9423-P rabbit monoclonal antibodies (Thermo®) were used.

recipients have found that the risk of *T. gondii*-associated clinical disease ranges from 0 to 82% if patients receive organs from seropositive donors without antimicrobial prophylaxis (6,8).

Seronegative heart transplant patients should receive prophylaxis. Effective regimens include one single-strength co-trimoxazole tablet daily, one double-strength three times a week, 1,500 mg atovaquone daily or pyrimethamine 25 mg/day. This patient had received prophylaxis with co-trimoxazole. Results from observational studies have shown that this drug is effective in preventing toxoplasmosis, even in cardiac recipients (6,11).

The patient may have developed severe disease despite co-trimoxazole prophylaxis due to resistance to sulfonamide (12,13). In this sense, more-virulent *Toxoplasma* strains have been found in Colombia and transmission of toxoplasmosis by renal transplant was reported in two local cases (14,15). This suggests that the risk could be higher in tropical zones of the Americas where a high genetic diversity of *Toxoplasma* has been found.

Co-trimoxazole is provided as a 1/5 ratio combination of trimethoprim and sulfamethoxazole. This ratio was chosen in order to provide synergistic ratio against bacteria, but due to the poor efficacy of trimethoprim against *T. gondii* trophozoites (100 times lower than pyrimethamine), the optimal ratio of the two compounds against this infection is probably closer to 1/1 (16). High doses of co-trimoxazole are needed to cure experimental acute infection in mice, and relapses are observed after cessation of therapy, because it is ineffective on the cyst form of the parasite. However, it has proved remarkably efficient in the treatment and prophylaxis of toxoplasmosis in transplant patients with AIDS (11).

Considering that a high genetic diversity, gene polymorphisms in the dihydrofolate reductase and dihydropteroate synthase genes, more-virulent strains of *T. gondii*, and several transplanted patients with disseminated toxoplasmosis have been reported in Colombia, the recommended doses of co-trimoxazole could be insufficient, or another agent (e.g., dapsone plus pentamidine or pyrimethamine and sulfadiazine) could be necessary to prevent toxoplasmosis in high risk transplant patients.

It is also important to point out that this patient developed symptoms after eight months of transplantation. Previous reports have described how

heart transplant patients receiving the organ from seropositive donors usually develop infections four to twelve weeks after transplantation. According to previous reports, the organs most commonly affected by systemic toxoplasmosis in immunosuppressed patients are the lungs and the central nervous system (17,18).

To our knowledge, this is the first heart transplant patient reported in the literature presenting toxoplasmosis with cutaneous manifestations. Such cutaneous involvement is quite rare, and only a few cases have been reported in immunocompromised patients with great variability in the appearance of skin lesions. Generalized rash, erythema multiform-like lesions, nodular lesions and vesicular varicella-like lesions have been described (19-21). Skin biopsies confirmed the presence of the parasite, but histopathological findings are variable. The involvement of the colon is also unique in this patient.

We can conclude, then, that diagnosing toxoplasmosis in immunosuppressed patients is challenging, as any organ may be affected. Thus, toxoplasmosis should always be suspected as a differential diagnosis in patients with systemic symptoms. Patients must be studied thoroughly, using all possible diagnostic aids to rule out the disease, including serology, histology, special immunohistochemical staining and PCR (22-23). Co-trimoxazole prophylaxis does not exclude the diagnosis and resistance studies are necessary.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Funding

No funding was received.

References

1. Galván-Ramírez M de L, Troyo R, Román S, Calvillo-Sánchez C, Bernal-Redondo R. A systematic review and meta-analysis of *Toxoplasma gondii* infection among the Mexican population. *Parasit Vectors*. 2012;5:271. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-271>
2. Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25:264-96. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>.
3. Lupi O, Bartlett BL, Haugen RN, Dy LC, Sethi A, Klaus SN, et al. Tropical dermatology: Tropical diseases caused by protozoa. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:897-925. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2009.03.004>
4. Zimmermann S, Hadaschik E, Dalpke A, Hassel JC, Ajzenberg D, Tenner-Racz K, et al. Varicella-like cutaneous toxoplasmosis in a patient with aplastic anemia. *J Clin Microbiol*. 2013;51:1341-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.02851-12>

5. **Wreghitt TG, Gray JJ, Pavel P, Balfour A, Fabbri A, Sharples LD, et al.** Efficacy of pyrimethamine for the prevention of donor-acquired *Toxoplasma gondii* infection in heart and heart-lung transplant patients. *Transpl Int.* 1992;5:197-200. <https://doi.org/10.1111/j.1432-2277.1992.tb01745.x>
6. **Fernández-Sabé N, Cervera C, Fariñas MC, Bodro M, Muñoz P, Gurguí M, et al.** Risk factors, clinical features, and outcomes of toxoplasmosis in solid-organ transplant recipients: A matched case-control study. *Clin Infect Dis.* 2012;54:355-61. <https://doi.org/10.1093/cid/cir806>
7. **Patrat-Delon S, Gangneux JP, Lavoué S, Lelong B, Guiguen C, le Tulzo Y, et al.** Correlation of parasite load determined by quantitative PCR to clinical outcome in a heart transplant patient with disseminated toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2541-5. <https://doi.org/10.1128/JCM.00252.10>
8. **Luft BJ, Naot Y, Araujo FG, Stinson EB, Remington JS.** Primary and reactivated toxoplasma infection in patients with cardiac transplants. Clinical spectrum and problems in diagnosis in a defined population. *Ann Intern Med.* 1983;99:27-31. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-99-1-27>
9. **Weiss LM, Dubey JP.** Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol.* 2009;39:895-901. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.02.004>
10. **Muñoz P, Valerio M, Eworo A, Bouza E.** Parasitic infections in solid-organ transplant recipients. *Curr Opin Organ Transplant.* 2011;16:565-75. <https://doi.org/10.1097/MOT.0b013e32834cddb0>
11. **Orr KE, Gould FK, Short G, Dark JH, Hilton CJ, Corris PA, et al.** Outcome of *Toxoplasma gondii* mismatches in heart transplant recipients over a period of 8 years. *J Infect.* 1994;29:249-53. [https://doi.org/10.1016/S0163-4453\(94\)91082-0](https://doi.org/10.1016/S0163-4453(94)91082-0)
12. **Pfefferkorn ER, Borotz SE, Nothnagel RF.** *Toxoplasma gondii*: Characterization of a mutant resistant to sulfonamides. *Exp Parasitol.* 1992;74:261-70. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(92\)90149-5](https://doi.org/10.1016/0014-4894(92)90149-5)
13. **Cortés LJ, Duque S, López MC, Moncada D, Molina D, Gómez-Marín JE, et al.** Gene polymorphisms in the dihydrofolate reductase (dhfr) and dihydropteroate synthase (dhps) genes and structural modelling of the *dhps* gene in Colombian isolates of *Toxoplasma gondii*. *Biomédica.* 2014; 34:556-66. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i4.2132>
14. **Mejía G, Leiderman E, Builes M, Henao J, Arbeláez M, Arango JL, et al.** Transmission of toxoplasmosis by renal transplant. *Am J Kidney Dis.* 1983;2:615-7.
15. **Álvarez C, de la Torre A, Vargas M, Herrera C, Uribe-Huertas LD, Lora F, et al.** Striking divergence in *Toxoplasma* ROP16 nucleotide sequences from human and meat samples. *J Infect Dis.* 2015;211:2006-13. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu833>
16. **Brun-Pascaud M, Chau F, Garry L, Farinotti R, Derouin F, Girard PM.** Altered trimethoprim-sulfamethoxazole ratios for prophylaxis and treatment of *Toxoplasma gondii* and *Pneumocystis carinii* dual infections in rat model. *J Acquir Imm Defic Syndr Hum Retrovir.* 1996;13:201-7. <https://doi.org/10.1097/00042560-199611010-00001>
17. **Hermanns B, Brunn A, Schwarz ER, Sachweh JS, Seipelt I, Schröder JM, et al.** Fulminant toxoplasmosis in a heart transplant recipient. *Pathol Res Pract.* 2001;197:211-5. <https://doi.org/10.1078/0344-0338-00036>
18. **Chandrasekar PH, Momin F.** Disseminated toxoplasmosis in marrow recipients: A report of three cases and a review of the literature. *Bone Marrow Transplant.* 1997;19:685-9.
19. **Amir G, Salant H, Resnick IB, Karplus R.** Cutaneous toxoplasmosis after bone marrow transplantation with molecular confirmation. *J Am Acad Dermatol.* 2008;59:781-4. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2008.07.014>
20. **Lee SA, Diwan AH, Cohn M, Champlin R, Safdar A.** Cutaneous toxoplasmosis: A case of confounding diagnosis. *Bone Marrow Transplant.* 2005;36:465-6. <https://doi.org/10.1038/sj.bmt.1705079>
21. **Zimmermann S, Hadaschik E, Dalpke A, Hassel JC, Ajzenberg D, Tenner-Racz K, et al.** Varicella-like cutaneous toxoplasmosis in a patient with aplastic anemia. *J Clin Microbiol.* 2013;51:1341-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.02851-12>
22. **Holliman R, Johnson J, Savva D, Cary N, Wreghitt T.** Diagnosis of toxoplasma infection in cardiac transplant recipients using the polymerase chain reaction. *J Clin Pathol.* 1992;45:931-2.
23. **Costa JM, Pautas C, Ernault P, Foulet F, Cordonnier C, Bretagne S.** Real-time PCR for diagnosis and follow-up of toxoplasma reactivation after allogeneic stem cell transplantation using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *J Clin Microbiol.* 2000;38:2929-32.

ARTÍCULO ORIGINAL

Validez de constructo y consistencia interna de tres estructuras factoriales y dos sistemas de puntuación del cuestionario de salud general de 12 ítems

Miguel Simancas-Pallares¹, Katherine Margarita Arrieta², Luisa Leonor Arévalo³

¹ Departamento de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia

² Departamento de Odontología Preventiva y Social, Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia

³ Departamento de Medicina Oral y Cirugía, Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena, Cartagena de Indias, Colombia

Introducción. El análisis de las propiedades psicométricas de un instrumento reviste importancia para el control de sesgos en la medición.

Objetivo. Comparar la validez de constructo y la consistencia interna de tres estructuras factoriales del cuestionario de salud general de 12 ítems.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio de validación en una muestra anidada de 483 estudiantes de odontología de Cartagena, Colombia. Además de las preguntas del instrumento, se hicieron otras sobre aspectos personales. Se evaluó la validez de constructo de la estructura unidimensional, de la unidimensional con corrección del sesgo de respuesta, y de la de dos y tres factores y sistemas de puntuación del tipo de la escala de Likert (0-1-2-3) y dicotómico (0-0-1-1). La validez se determinó con un análisis factorial confirmatorio y, la consistencia interna, con el coeficiente alfa de Cronbach para la escala de Likert y la fórmula 20 de Kuder-Richardson para el método dicotómico empleando los programas Stata™, versión 13.2 (Stata Corp, USA) y Mplus™, versión 7.11 (Muthen and Muthen, USA).

Resultados. Los índices de ajuste revelaron que el mejor modelo era el unidimensional con corrección del sesgo de respuesta y puntuación dicotómica (grados de libertad=36; ji al cuadrado=52,432; raíz cuadrada del error medio de aproximación=0,03; IC_{90%} 0,008-0,048; índice comparativo de ajuste=0,982; índice de Tucker-Lewis=0,966). La consistencia interna fue de 0,70.

Conclusiones. El ajuste del modelo obtenido en este estudio permitió controlar el sesgo de medición y, así, garantizar la validez externa de los resultados del cuestionario de salud general de 12 ítems para la evaluación de las condiciones mentales en esta población. Las propiedades psicométricas de las escalas deben evaluarse críticamente antes del análisis de los resultados.

Palabras clave: estudios de validación; análisis factorial; sesgo (epidemiología); psicometría; salud mental; estudiantes de odontología.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3240>

Construct validity and internal consistency of three factor structures and two scoring methods of the 12-item General Health Questionnaire

Introduction: The analysis of the psychometric properties of an instrument is important for the control of measurement bias.

Objective: To compare the construct validity and internal consistency of three factorial structures of the General Health Questionnaire-12.

Materials and methods: We conducted a validation study in a nested sample of 483 dentistry students from Cartagena, Colombia. The instrument was applied along with questions about personal factors. The construct validity of the following structures was evaluated: one-dimensional, one-dimensional with correction of response bias, and the two and three-factor structure, and these scoring systems: Likert scale (0-1-2-3) and dichotomous (0-0-1-1) scoring method. Validity was determined by confirmatory factorial analysis, and the internal consistency with Cronbach's alpha coefficient for the Likert scale and the Kuder-Richardson Formula 20 for the dichotomous scoring using the Stata™, v. 13.2 (Stata Corp, USA) and Mplus™, v.7.11 (Muthen and Muthen, USA) software.

Contribución de los autores:

Miguel Simancas-Pallares: concepción de la idea y análisis de la información

Katherine Arrieta: concepción de la idea

Todos los autores participaron en la recolección de la información y la estructuración del manuscrito.

Results: Adjustment indexes revealed that the best model was the one-dimensional one with correction of response bias based on a dichotomous scoring (degrees of freedom=36; chi square=52.432; root mean square error of approximation=0.03; 90% CI: 0.008-0.048; comparative fit index=0.982; Tucker-Lewis index=0.966). The internal consistency was 0.70.

Conclusions: The adjustment of the model in this study allowed for the control of measurement bias and guaranteed external validity of results when using the General Health Questionnaire-12 to evaluate mental conditions in this population. The psychometric properties of the scales should be critically evaluated before results analysis.

Key words: validation studies; factor analysis, statistical; bias (epidemiology); psychometrics; mental health; students, dental.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3240>

El cuestionario de salud general (*General Health Questionnaire*, GHQ) es un instrumento que permite la valoración de la morbilidad psicológica en la población general (1,2). Propuesto por Goldberg en 1972 para la valoración del estado mental de los profesionales de la salud, cuenta con versiones de 60, 30, 23 y 12 ítems (3).

El GHQ-12 es la versión más empleada, ya que permite una evaluación rápida de trastornos mentales comunes tan precisa como la de sus predecesores. Se compone de seis ítems redactados de forma positiva y seis redactados de forma negativa (4). Las preguntas pueden puntuarse mediante la modalidad dicotómica binaria (0-0-1-1) propuesta originalmente para el cuestionario, o mediante una escala del tipo de Likert (0-1-2-3), en la cual los ítems positivos se evalúan de esta forma pero la puntuación se invierte para los negativos (5). Para corregir este efecto, se diseñó el sistema binario corregido (0-1-1-1, para los ítems negativos y 0-0-1-1, para los positivos) (6).

Varios autores han señalado que se trata de una escala que representa un constructo multifactorial, a pesar de que los hallazgos iniciales de Goldberg la planteaban como un constructo unidimensional (1,7). Andrich, *et al.*, (8) determinaron que la escala se componía de dos dominios denominados disforia general (ansiedad y depresión) y disfunción social, y que cada dominio estaba conformado por ítems negativos y positivos, respectivamente. Posteriormente, Graetz (9) determinó que la escala se componía de tres factores: ansiedad y depresión,

disfunción social y pérdida de confianza. Algunos autores incluso han evidenciado la presencia de un cuarto factor, la anhedonia (10,11).

En el 2008, Hankins comparó diversos métodos de puntuación y las estructuras de los factores del GHQ-12 mediante un análisis factorial confirmatorio, y determinó que la forma de redacción de los ítems negativos y la ambigüedad en las opciones de respuesta en el cuestionario creaban un efecto conocido como sesgo de respuesta, lo cual podía indicar una naturaleza multidimensional espuria del constructo (12). Concluyó que correlacionar la varianza de los errores de los ítems negativos permitía evidenciar de forma correcta su estructura de factores (13). En este sentido, la mejor forma de puntuación es la propuesta originalmente (0-0-1-1), con lo cual el constructo se evalúa como unidimensional.

Se han hecho múltiples esfuerzos para replicar las estructuras factoriales propuestas por Goldberg, *et al.*, Andrich, *et al.*, y Graetz (14,15). Sin embargo, la inestabilidad del constructo, las características de la población y las particularidades de la redacción de sus ítems, no permiten conclusiones definitivas sobre los múltiples factores encontrados. Además, en diversos estudios se ha empleado de forma indiscriminada el GHQ-12 con una escala de Likert para la puntuación (16), pero muy pocos de estos estudios se han hecho con el cuestionario en español y utilizando un análisis factorial confirmatorio para determinar su validez, por lo cual la capacidad de determinar la validez real del constructo en la población evaluada y la posibilidad de generalizar los resultados encontrados es limitada (17). En Colombia se han hecho estudios exploratorios sobre la estructura de factores del GHQ-12, pero ninguno ha recurrido al análisis factorial confirmatorio, razón por la cual no existe evidencia científica en el país sobre la validez de esta escala (18).

En este sentido, el objetivo del presente estudio fue comparar la validez de constructo y la consistencia interna de tres estructuras factoriales y dos

Correspondencia:

Miguel Simancas-Pallares, Departamento de Investigación, Facultad de Odontología, Universidad de Cartagena, Avenida del Consulado, Calle 30 N° 48-152, Campus Ciencias de la Salud, Zaragocilla, piso 2, oficina 301, Cartagena de Indias, Colombia
Teléfono: (575) 669 8172, extensión 110
msimancasp@unicartagena.edu.co

Recibido: 09/03/16; aceptado: 08/10/16

métodos de puntuación (del tipo de la escala de Likert y dicotómica binaria) del cuestionario de salud general de 12 ítems.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio de validación en una muestra anidada de 483 estudiantes de odontología de dos universidades de Cartagena, Colombia. La investigación se desarrolló en el marco de un estudio multicéntrico desarrollado en tres facultades de Odontología de Cartagena, para determinar la presencia de trastornos mentales comunes y los factores relacionados con su aparición (19). Debido a las similitudes sociodemográficas, personales y académicas de los participantes de cada centro, se seleccionó una muestra aleatoria conformada por poco más de la mitad (56,16 %) de los estudiantes.

Los estudiantes respondieron de forma anónima la encuesta que, además del GHQ-12, contenía preguntas que indagaban por la presencia de factores personales y académicos de interés. Se incluyeron estudiantes matriculados, activos académicamente y que voluntariamente desearon participar en la investigación.

El GHQ-12 consta de 12 ítems redactados en forma de pregunta que indagan sobre la presencia de síntomas emocionales (de ansiedad y depresión) en las cuatro semanas anteriores. Seis de estas preguntas están redactadas de forma positiva (ítems 1, 2, 7, 10, 11 y 12) y, seis, de forma negativa (3, 4, 5, 6, 8 y 9); las opciones de respuesta fueron las siguientes: nunca, a veces, muchas veces y siempre. Las preguntas del cuestionario se enumeran en el cuadro 1. La versión en español empleada en el estudio se tomó de una investigación previamente realizada en Colombia con este instrumento (20).

Para la evaluación de los síntomas, se pueden emplear diversos métodos de puntuación: uno del tipo de la escala de Likert (ítems positivos: 0-1-2-3; ítems negativos: 3-2-1-0), un método dicotómico (ítems positivos: 0-0-1-1; ítems negativos: 1-1-0-0) o un método dicotómico corregido (ítems negativos: 0-1-1-1; ítems positivos: 0-0-1-1). Si se emplea la forma de puntuación del tipo de la escala de Likert, los puntajes varían de 0 a 3; en este sentido, el máximo puntaje posible es 36. Si se emplea una puntuación dicotómica, los puntajes pueden variar de 0 a 12.

Mediante el análisis factorial confirmatorio, se determinó la validez de constructo de las siguientes estructuras de factores: la unidimensional, la unidimensional con corrección del sesgo de respuesta

(correlación del error de la covarianza de los ítems negativos), y la de dos y tres factores. Cada una de estas estructuras se combinó con el método de puntuación dicotómico y el de tipo de la escala de Likert. De esta manera, se determinó la validez de constructo de ocho modelos.

Mediante el método de estimación de mínimos cuadrados parciales con media y varianza ajustada, se obtuvieron los índices de ajuste para cada uno de estos modelos: χ^2 al cuadrado y grados de libertad (gl), p , raíz cuadrada del error medio de aproximación y su intervalo de confianza de 90 %, índice comparativo de ajuste e índice de Tucker-Lewis. Empleando los criterios propuestos por Hu, *et al.*, se determinó que el ajuste del modelo era aceptable si presentaba los siguientes valores: p mayor de 0,05; raíz cuadrada del error medio de aproximación de 0,06 o menor; índice comparativo de ajuste e índice de Tucker-Lewis de 0,95 o mayor (21).

La consistencia interna se determinó con el coeficiente alfa de Cronbach para la puntuación del tipo de la escala de Likert y con la fórmula 20 de Kuder-Richardson para la forma dicotómica, y se calificó como aceptable cuando era de 0,70 o mayor (22). El análisis descriptivo y la estimación de la consistencia interna se hicieron con el programa Stata™, v. 13.2 para Windows (Stata Corp., College Station, TX., USA) y, el análisis factorial confirmatorio, con el Mplus™, v. 7.11 para Windows (Muthen y Muthen, Los Ángeles, CA, USA).

Cuadro 1. Nombre completo y abreviado de los ítems que componen el GHQ-12

Nº	Ítem	Nombre corto
1	¿Ha perdido el sueño por sus preocupaciones?	Pérdida de sueño
2	¿Se ha sentido constantemente tensionado?	Tensión
3	¿Se ha podido concentrar en lo que está haciendo?	Concentración
4	¿Siente que usted representa un papel útil en lo que está haciendo?	Papel útil
5	¿Ha sido capaz de afrontar sus problemas?	Afrontar problemas
6	¿Ha sido capaz de tomar decisiones?	Tomar decisiones
7	¿Ha sentido que no puede vencer sus dificultades?	Vencer dificultades
8	¿Teniendo en cuenta todo, se ha sentido razonablemente feliz?	Ser feliz
9	¿Ha sido capaz de disfrutar sus actividades diarias?	Disfrutar actividades
10	¿Se ha sentido triste o deprimido?	Sentirse triste
11	¿Ha perdido la confianza en usted mismo?	Perder la confianza
12	¿Ha estado pensando que usted no vale nada?	No valer nada

Consideraciones éticas

Este estudio contó con la aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Cartagena. En cumplimiento de las normas nacionales e internacionales para investigación en salud, todos los participantes firmaron un consentimiento informado después de recibir información suficiente y entender los objetivos del estudio.

Resultados

La mayoría de los estudiantes incluidos en la muestra final estaba en los semestres del ciclo básico (53,6 %), más de la mitad eran mujeres (66,2 %) y la edad promedio fue de 20,8 años (desviación estándar, DE=3,01) (cuadro 2).

Validez de constructo

Según los resultados, el mejor ajuste se obtuvo con la estructura unidimensional con corrección del sesgo de respuesta y errores de la covarianza correlacionados para los ítems negativos y la forma binaria de puntuación ($gl=36$; ji al cuadrado=52,432; $p<0,0001$; raíz cuadrada del error medio de aproximación=0,031; $IC_{90\%}$ 0,127-0,148; índice comparativo de ajuste=0,982; índice de Tucker-Lewis=0,966). Los índices de ajuste obtenidos para cada uno de los ocho modelos evaluados se presentan en el cuadro 3 y en la figura 1 se muestra el diagrama de vías para el mejor ajuste.

Consistencia interna

Para la forma de puntuación del tipo de la escala de Likert, la consistencia interna medida con el alfa de Cronbach fue de 0,7415 ($IC_{95\%}$ 0,712-0,771), en

tanto que, para la puntuación dicotómica obtenida con la fórmula 20 de Kuder-Richardson, fue de 0,70 ($IC_{95\%}$ 0,667-0,735).

Discusión

El cuestionario de salud general de 12 ítems (GHQ-12) se diseñó como una forma fácil, rápida y económica de evaluar el estado emocional durante las cuatro semanas previas en pacientes o usuarios de servicios médicos, y se utiliza en estudios epidemiológicos (23-25). En investigaciones anteriores, se ha sugerido la existencia de estructuras multidimensionales en el GHQ-12, aunque con datos contradictorios sobre la validez de cada uno de los modelos (26). Los resultados del presente estudio responderían a la interacción de tres fuentes principales de sesgos: categorías de respuesta ambigua para los ítems negativos, múltiples sistemas o formas de puntuación y métodos de estimación inapropiados (27).

Aunque la mayoría de los estudios en psicometría han centrado sus esfuerzos en el análisis factorial exploratorio para hacer inferencias sobre la validez de los modelos derivados de algún constructo, no deben descartarse las técnicas estadísticas basadas en el modelado de ecuaciones estructurales, o análisis factorial confirmatorio, para la correcta determinación de la validez de constructo. En este sentido, la importancia del análisis factorial exploratorio radica en que de él se derivan las hipótesis que serán puestas a prueba en el análisis confirmatorio (28).

En el presente estudio, dicho análisis se empleó para comparar la validez de constructo de tres estructuras de factores del GHQ-12 y dos sistemas de puntuación mediante el empleo de métodos de estimación apropiados para el tipo de variable evaluada (29). En varios de los estudios de comparación de las estructuras factoriales y los métodos de puntuación del GHQ-12, se ha evaluado el método de puntuación sugerido por Goodchild, *et al.* (0-1-1-1), conocido como GHQ-correctado; no obstante, se ha comprobado que el sesgo de respuesta persistía, por lo cual no se incluyó en la presente investigación. En este método, la puntuación 0-0-1-1 se aplica a los ítems redactados de forma positiva, pero los ítems negativos se puntúan 0-1-1-1, con lo cual se colapsan las categorías 2, 3 y 4. Con el método de puntuación GHQ-correctado debe prestarse atención a las respuestas que a veces se otorgan a un ítem negativo, pues podrían indicar la presencia de un problema en lugar de ser señal de buena salud (14).

Cuadro 2. Características sociodemográficas de la muestra estudiada

	n	%
Sexo		
Femenino	320	66,2
Masculino	163	33,8
Estado civil		
Soltero	459	95
Otro	24	5
Ciclo académico		
Básico	259	53,6
Clínico	224	46,4
Actividad		
Solo estudia	450	93,7
Trabaja y estudia	33	6,8
Nivel socioeconómico		
Alto	4	0,8
Medio	92	19
Bajo	387	80,1

Cuadro 3. Índices de ajuste obtenidos en cada uno de los modelos evaluados mediante análisis factorial complementario

	Unidimensional		Unidimensional'		Andrich, <i>et al.</i> (8)		Graetz (9)	
	Likert	0-0-1-1	Likert	0-0-1-1	Likert	0-0-1-1	Likert	0-0-1-1
Grados de libertad	54	54	36	36	53	53	51	51
Ji al cuadrado	577,599 [‡]	261,678 [‡]	63,799 [‡]	52,432 [‡]	534,95 [‡]	243,353 [‡]	516,232 [‡]	235,91 [‡]
RCEMA	0,142	0,089	0,040	0,031	0,137	0,086	0,137	0,087
IC _{90%}	0,131-0,152	0,079-0,100	0,023-0,056	0,008-0,048	0,127-0,148	0,075-0,097	0,127-0,148	0,076-0,098
Índice comparativo de ajuste	0,700	0,768	0,984	0,982	0,724	0,787	0,733	0,793
Índice de Tucker-Lewis	0,633	0,716	0,971	0,966	0,656	0,735	0,655	0,733

* Modelo con corrección del sesgo de respuesta y errores correlacionados de los ítems negativos; ‡: modelo estadísticamente significativo: p<0,0001
RCEMA: raíz cuadrada del error medio de aproximación; IC_{90%}: intervalo de confianza de 90% para la RCEMA

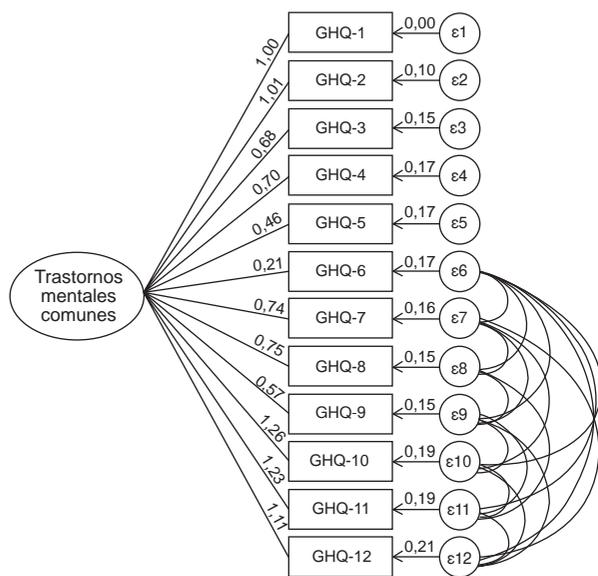


Figura 1. Diagrama de vías del análisis factorial confirmatorio de la estructura unidimensional con corrección del sesgo de respuesta (correlación del error de la covarianza para ítems negativos) y opción de respuesta dicotómica binaria del cuestionario de salud general de 12 ítems en español. La letra griega epsilon en los círculos indica los errores asociados a los estimadores derivados del modelo confirmatorio de análisis factorial (cuadros con los nombres abreviados de los ítems), y el constructo se representa con un óvalo central a la derecha. Los valores de los estimadores aparecen sobre las líneas continuas entre el constructo y cada uno de los ítems, y los valores de error de cada estimador se indican con las flechas entre los ítems y los errores.

Una de las justificaciones para emplear la puntuación del tipo de la escala de Likert es que produce puntajes con una aproximación a la distribución normal y ello permite hacer análisis estadísticos paramétricos (30). Sin embargo, las puntuaciones del cuestionario del tipo de la escala de Likert y del GHQ-correctado se ven afectadas por el sesgo de respuesta, lo cual se evidencia porque, cuando

se emplea el método de puntuación dicotómico original, los índices de ajuste derivados del modelo unidimensional son adecuados, como ocurrió con los obtenidos en el presente estudio (gl=36; ji al cuadrado=52,432; raíz cuadrada del error medio de aproximación=0,03; IC_{90%}=0,008-0,048; índice comparativo de ajuste=0,982; índice de Tucker-Lewis=0,966).

Estos resultados son congruentes con lo sugerido por Hankins (12,13) en el sentido de que los puntajes de los ítems redactados de forma negativa contienen un sesgo de respuesta evidenciado por la alta varianza encontrada en ellos. En general, este sesgo se elimina cuando se emplea el método de puntuación original con base en un enfoque conocido como método de efectos o corrección del sesgo de respuesta (correlación de la covarianza de los errores de los ítems negativos). Los resultados obtenidos sugieren que el sesgo de respuesta puede introducir un grado de error de medición inaceptable en la psicometría clínica, el cual no había sido previamente reconocido.

A la luz de los resultados obtenidos en el presente estudio, el ajuste aceptable obtenido en otras investigaciones para los modelos multidimensionales con el sistema de puntuación GHQ-correctado (31), se debe al agrupamiento artificial de los ítems redactados de forma positiva frente a los redactados de forma negativa, situación conocida como error de reificación (13,30). Así pues, en futuros estudios sobre la estructura de factores de este instrumento deben tenerse en cuenta los hallazgos del presente estudio, con el fin de evitar conclusiones inapropiadas sobre su dimensión (30).

La separación dimensional entre los ítems positivos y los negativos puede explicarse también por las diferencias en los intervalos entre las categorías

de respuesta. Las etiquetas para las opciones de respuesta de los ítems positivos parecen ser bipolares y oscilar entre un polo del atributo (“casi siempre”) y el opuesto (“a veces”), mientras que las opciones de respuesta para los ítems negativos parecen ser unipolares y oscilar entre la ausencia del atributo (“nunca”) y su presencia (“siempre”). Para los ítems negativos, el formato unipolar parece presentar la opción lógica (por ejemplo, “a veces” para un ítem negativo como “perder la confianza” podría implicar una doble negación que puede confundir al sujeto) (27). Varios autores han sugerido que los formatos de respuesta bipolar pueden causar problemas cuando se trata de hacer mediciones negativas de los constructos (32).

Por otro lado, la consistencia interna fue aceptable para las dos formas de puntuación evaluadas en el presente estudio. Los estimadores convencionales de confiabilidad, como el coeficiente alfa de Cronbach, pueden sobrestimar o subestimar la confiabilidad si los supuestos de la teoría clásica no se cumplen. Dichos supuestos, entonces, deben evaluarse y, en caso de ser necesario, debe emplearse un método alternativo de estimación de la confiabilidad del instrumento.

Los resultados del presente estudio revelaron una sobreestimación de la confiabilidad del GHQ-12 al emplear la forma de puntuación del tipo de la escala de Likert (alfa=0,74), dado que el estimador se calculó sin tener en cuenta la correlación de la covarianza de los errores de los ítems redactados de forma negativa (12). En estudios previos en Bucaramanga, se obtuvieron valores de confiabilidad del instrumento para la forma de puntuación del tipo de la escala de Likert (alfa=0,779) y para la binaria (alfa=0,70) similares a los encontrados en el presente estudio (alfa=0,74 y alfa=0,70, respectivamente) (20). En otro estudio en Medellín en pacientes hospitalizados, los valores del alfa de Cronbach también fueron similares (alfa=0,78) a los obtenidos en el presente estudio (18).

Los resultados de este estudio coinciden con los de otras investigaciones y sustentan el carácter unidimensional del constructo siempre que se aplique la corrección del sesgo de respuesta para los ítems redactados de forma negativa. De todas maneras, es evidente la necesidad de llevar a cabo nuevos estudios para probar la estructura de factores del GHQ-12. Es imperativo que este tipo de enfoques metodológicos se utilice antes del análisis de resultados en los estudios epidemiológicos en los que se emplee el instrumento.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiación

Ninguna.

Referencias

1. **Goldberg DP.** The detection of psychiatric illness by questionnaire: A technique for the identification and assessment of non-psychotic psychiatric illness. London: Oxford University Press; 1972. p. 156.
2. **Namjoo S, Shagaghi A, Sarbaksh P, Allahverdipour H, Pakpour AH.** Psychometric properties of the General Health Questionnaire (GHQ-12) to be applied for the Iranian elder population. *Aging Ment Health.* 2016;1-5. <https://doi.org/10.1080/13607863.2016.1196337>
3. **Golderberg D, Williams P.** A user's guide to the General Health Questionnaire. Windsor, UK: NFER-Nelson; 1988.
4. **Rocha KB, Pérez K, Sanz MR, Borrell C, Llandrich JO.** Propiedades psicométricas y valores normativos del *General Health Questionnaire* (GHQ-12) en población general española. *Int J Clin Health Psychol.* 2011;11:125-39.
5. **Petkovska MS, Bojadziev MI, Stefanovska VV.** Reliability, validity and factor structure of the 12-item General Health Questionnaire among general population. *Open Access Maced J Med Sci.* 2015;3:478-83. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2015.075>
6. **Goodchild M, Duncan-Jones P.** Chronicity and the General Health Questionnaire. *Br J Psychiatry.* 1985;146:55-61.
7. **Rahmati-Najarkolaei F, Raiisi F, Rahnama P, Gholami-Fesharaki M, Zamani O, Jafari MR, et al.** Factor structure of the Iranian version of 12-item general health questionnaire. *Iran Red Crescent Med J.* 2014;16:e11794. <https://doi.org/10.5812/ircmj.11794>
8. **Andrich D, van Schoubroeck L.** The General Health Questionnaire: A psychometric analysis using latent trait theory. *Psychol Med.* 1989;19:469-85.
9. **Graetz B.** Multidimensional properties of the General Health Questionnaire. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 1991;26:132-8
10. **Smith AB, Fallowfield LJ, Stark DP, Velikova G, Jenkins V.** A Rasch and confirmatory factor analysis of the general health questionnaire (GHQ)--12. *Health Qual Life Outcomes.* 2010;8:45. <https://doi.org/10.1186/1477-7525-8-45>
11. **van Ballegooijen W, Riper H, Cuijpers P, van Oppen P, Smit JH.** Validation of online psychometric instruments for common mental health disorders: A systematic review. *BMC Psychiatry.* 2016;16:45. <https://doi.org/10.1186/s12888-016-0735-7>
12. **Hankins M.** The reliability of the twelve-item general health questionnaire (GHQ-12) under realistic assumptions. *BMC Public Health.* 2008;8:355. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-8-355>
13. **Hankins M.** The factor structure of the twelve item General Health Questionnaire (GHQ-12): The result of negative phrasing? *Clin Pract Epidemiol Ment Health.* 2008;4:10. <https://doi.org/10.1186/1745-0179-4-10>

14. **Gelaye B, Tadesse MG, Lohsoonthorn V, Lertmeharit S, Pensuksan WC, Sánchez SE, et al.** Psychometric properties and factor structure of the General Health Questionnaire as a screening tool for anxiety and depressive symptoms in a multi-national study of young adults. *J Affect Disord.* 2015;187:197-202. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.08.045>
15. **Padrón A, Galán I, Durban M, Gandarillas A, Rodríguez-Artalejo F.** Confirmatory factor analysis of the General Health Questionnaire (GHQ-12) in Spanish adolescents. *Qual Life Res.* 2012;21:1291-8. <https://doi.org/10.1007/s11136-011-0038-x>
16. **Abu-Ghazaleh SB, Rajab LD, Sonbol HN.** Psychological stress among dental students at the University of Jordan. *J Dent Educ.* 2011;75:1107-14.
17. **Brabete AC.** The 12-Item General Health Questionnaire (GHQ-12): Translation and adaptation study of the Romanian version. *RIDEP.* 2014;37:11-29.
18. **Villa G, Cristina I, Zuluaga-Arboleda C, Restrepo-Roldán LF.** Propiedades psicométricas del Cuestionario de Salud General de Goldberg, GHQ-12, en una institución hospitalaria de la ciudad de Medellín. *Avances en Psicología Latinoamericana.* 2013;31:532-45.
19. **Simancas MA, Arrieta KM.** Common mental disorders and related factors in undergraduate and graduate students from three dental faculties in Cartagena, Colombia. *Study protocol. Journal of Oral Research.* 2014;3:178-83. <https://doi.org/10.17126/JORALRES.2014.042>
20. **Campo-Arias A.** Cuestionario general de salud-12: análisis de factores en población general de Bucaramanga, Colombia. *Iatreia.* 2007;20:29-36.
21. **Hu LT, Bentler PM.** Cut-off criteria for fit indexes in covariance structure analysis: Conventional criteria versus new alternatives. *Struct Equ Modeling.* 1999;6:1-55. <https://doi.org/10.1080/10705519909540118>
22. **Tavakol M, Dennick R.** Making sense of Cronbach's alpha. *Int J Med Educ.* 2011;2:53-5. <https://doi.org/10.5116/ijme.4dfb.8dfd>
23. **Hassan BK, Werneck GL, Hasselmann MH.** Maternal mental health and nutritional status of six-month-old infants. *Rev Saúde Pública.* 2016;50:7. <https://doi.org/10.1590/S1518-8787.2016050006237>
24. **Rutagarama O, Gelaye B, Tadesse MG, Lemma S, Berhane Y, Williams MA.** Risk of common mental disorders in relation to symptoms of obstructive sleep apnea syndrome among Ethiopian college students. *J Sleep Disord Treat Care.* 2015;4. <https://doi.org/10.4172/2325-9639.1000161>
25. **Lopes CS, Abreu G de A, dos Santos DF, Menezes PR, de Carvalho KM, Cunha Cde F, et al.** ERICA: Prevalence of common mental disorders in Brazilian adolescents. *Rev Saúde Pública.* 2016;50(Suppl.1):14s. <https://doi.org/10.1590/S01518-8787.2016050006690>
26. **Aguado J, Campbell A, Ascaso C, Navarro P, García-Esteve L, Luciano JV.** Examining the factor structure and discriminant validity of the 12-item General Health Questionnaire (GHQ-12) among Spanish postpartum women. *Assessment.* 2012;19:517-25. <https://doi.org/10.1177/1073191110388146>
27. **Rey JJ, Abad FJ, Barrada JR, Garrido LE, Ponsoda V.** The impact of ambiguous response categories on the factor structure of the GHQ-12. *Psychol Assess.* 2014;26:1021-30. <https://doi.org/10.1037/a0036468>
28. **Williams B, Onsmann A, Brown T.** Exploratory factor analysis: A five-step guide for novices. *Australian Journal of Paramedicine.* 2010;8:1-13.
29. **Brown TA.** Confirmatory factor analysis for applied research. New York: The Guilford Publications; 2015.
30. **Molina JG, Rodrigo MF, Losilla JM, Vives J.** Wording effects and the factor structure of the 12-item General Health Questionnaire (GHQ-12). *Psychol Assess.* 2014;26:1031-7. <https://doi.org/10.1037/a0036472>
31. **Urzúa A, Caqueo-Úrizar A, Bargsted M, Irrázaval M.** ¿Afecta la forma de puntuación la estructura factorial del GHQ-12? Estudio exploratorio en estudiantes iberoamericanos. *Cad Saúde Pública.* 2015;31:1305-12. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00122913>
32. **Mazaheri M, Theuns P.** Effects of varying response formats on self-ratings of life-satisfaction. *Soc Indic Res.* 2009;90:381-95. <https://doi.org/10.1007/s11205-008-9263-2>

ARTÍCULO ORIGINAL

Perfil de las enfermedades gastrointestinales en un centro de gastroenterología pediátrica en Colombia: 15 años de seguimiento

Wilson Daza^{1,2}, Silvana Dadán^{1,2}, Michelle Higuera²

¹ Facultad de Medicina, posgrado de Gastroenterología Pediátrica y Pediatría, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Investigación Gastronutriped, Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica-Gastronutriped, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. El perfil de las enfermedades gastrointestinales cambia permanentemente a nivel mundial y local, lo cual incide en la sospecha diagnóstica y el manejo médico.

Objetivo. Establecer los principales diagnósticos en una unidad de gastroenterología, hepatología y nutrición pediátrica de Bogotá entre 2009 y 2013 y compararlos con los hallazgos de la misma unidad en los dos quinquenios previos (1997 a 2006).

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo retrospectivo. Se revisaron las historias clínicas para extraer los diagnósticos. Los datos de los quinquenios previos se tomaron de los archivos institucionales. Se hizo un análisis univariado y se calcularon las frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, y las medidas de tendencia central y de dispersión para las cuantitativas.

Resultados. Se consultaron los diagnósticos de 1.171 pacientes, 51,8 % (607) de ellos de sexo masculino, y 64 % (753) menores de cinco años de edad. Los principales diagnósticos fueron: estreñimiento crónico funcional (33,9 %), alergia alimentaria (23,5 %), trastornos de la conducta alimentaria (5,5 %), enfermedad por reflujo gastroesofágico (4,1 %), enfermedad ácido-péptica (4,1 %), diarrea persistente (3,8 %) y fibrosis quística (3,4 %). Al comparar este último período con los anteriores, se observó un descenso de la enfermedad ácido-péptica, en tanto que el estreñimiento, que estaba en segunda posición, ascendió al primer lugar. La alergia alimentaria, que no se registró entre los primeros diez diagnósticos en los periodos previos, apareció en segundo lugar en este último.

Conclusiones. En el último quinquenio, el estreñimiento fue el primer diagnóstico gastrointestinal, seguido por la alergia alimentaria, lo cual concuerda con la tendencia mundial. Por ello, es fundamental aplicar los algoritmos de diagnóstico, así como ofrecer tratamiento oportuno y programas de prevención.

Palabras clave: enfermedades gastrointestinales/epidemiología; gastroenterología; estreñimiento; pediatría; hipersensibilidad a los alimentos; diagnóstico.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3313>

Profile of gastrointestinal diseases in a pediatric gastroenterology center in Colombia: 15 years of follow-up

Introduction: The profile of gastrointestinal diseases is constantly changing globally and locally affecting suspected diagnosis and medical methods.

Objective: To establish the main diagnoses in a gastroenterology, hepatology, and pediatric nutrition unit in Bogota between 2009 and 2013, and to compare with findings from the same unit during the two prior five-year periods (1997 to 2006).

Materials and methods: We conducted a retrospective descriptive study. Medical records were reviewed to extract diagnoses. Data from the two previous five-year periods were taken from institutional records. A univariate analysis was performed, along with calculation of absolute and relative frequencies for qualitative variables, and central tendency and dispersion measures for quantitative variables.

Results: The study collected the diagnoses of 1,171 patients, 51.8% (607) of whom were male, and 64% (753/1171), under five years of age. The main diagnoses were: constipation (33.9%), food allergy (23.5%), eating disorders (5.5%), gastroesophageal reflux disease (4.1%), peptic ulcer disease (4.1%), persistent diarrhea (3.8%) and cystic fibrosis (3.4%). Upon comparing this period with the two previous

Contribución de los autores:

Wilson Daza y Silvana Dadán: atención clínica de los pacientes, idea principal, diseño y corrección de la metodología, revisión e interpretación de los resultados

Michelle Higuera: revisión de la base de datos, interpretación y análisis de los resultados

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

ones, we observed that peptic ulcer disease decreased while constipation, which was in the second position, rose to the first place. Food allergy, not registered within the first ten diagnoses in previous periods, appeared during this last period.

Conclusions: During the last five years, constipation was the first gastrointestinal diagnosis followed by food allergy, in agreement with the global trend. It is essential, therefore, to apply diagnostic algorithms, timely treatment, and prevention.

Key words: gastrointestinal diseases/epidemiology; gastroenterology; constipation; pediatrics; food hypersensitivity; diagnosis.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3313>

El comportamiento de las enfermedades gastrointestinales varía constantemente debido a múltiples factores, algunos relacionados con el paciente, y otros, con el ambiente, la familia y la cultura. Dichos cambios implican el aumento de algunas enfermedades y la disminución de otras (1).

La población pediátrica no escapa a estos cambios. Así, se ha observado un aumento en la prevalencia de algunas enfermedades gastrointestinales, como los trastornos funcionales, el estreñimiento funcional crónico y el síndrome de intestino irritable, así como la de la alergia alimentaria, que hoy se cataloga como un problema de salud pública en algunas áreas geográficas (1).

Estas variaciones podrían deberse, en parte, a cambios culturales y de las prácticas en salud, tales como la disminución del parto vaginal y de la lactancia materna, la edad de introducción de la alimentación complementaria, un mayor consumo de alimentos industrializados y el uso indiscriminado de antibióticos, entre otros. También, el avance tecnológico y las mejoras en las ayudas diagnósticas han facilitado la detección de algunas enfermedades (2,3).

Otro factor que ha incidido en tales cambios son las acciones de entidades como la Organización Mundial de la Salud, la *American Academy of Pediatrics* y, en Colombia, el Ministerio de Salud y Protección Social y el Instituto Nacional de Salud, cuyas actividades de vigilancia de enfermedades prevenibles y de fomento del uso racional de los antibióticos y la ampliación de la inmunización han permitido la disminución de algunas enfermedades infecciosas prevalentes en los últimos años (3,4).

La información disponible sobre estos cambios en las enfermedades gastrointestinales pediátricas es escasa, aunque hay artículos sobre el comportamiento epidemiológico de algunas condiciones específicas.

El Grupo de Investigación de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (Gastronutriped) de la Universidad El Bosque se ha dedicado a observar y describir las enfermedades gastrointestinales pediátricas más prevalentes en Colombia en los últimos 15 años. En este contexto, los objetivos del estudio fueron determinar los principales diagnósticos registrados en dicha Unidad de Bogotá en el quinquenio comprendido entre los años 2009 y 2013, y comparar el comportamiento de las enfermedades gastrointestinales del último quinquenio con los dos anteriores ya registrados (1997 a 2001 y 2002 a 2006), con el fin de detectar las diferencias y describirlas y, así, orientar a los profesionales en cuanto a la sospecha y el manejo médico.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo y retrospectivo de corte transversal entre el 1° de enero de 2009 y el 31 de diciembre de 2013, en la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (Gastronutriped) de Bogotá.

La población de referencia fueron todos los pacientes en edad pediátrica (0 a 18 años) atendidos en esta unidad entre el 2009 y el 2013. Se revisaron las historias clínicas de los pacientes que asistieron a consulta por primera vez o a consultas de seguimiento, y se extrajeron los datos de las variables temporales, sociodemográficas, así como los diagnósticos principales, para luego contrastarlos con los del gastroenterólogo pediatra del equipo de investigación con base en la historia clínica y con ayudas diagnósticas cuando se requirió.

El diagnóstico definitivo se definió como aquel que cumplía con los criterios estandarizados internacionalmente. Los diagnósticos resultantes se agruparon

Correspondencia:

Wilson Daza, Calle 125 N° 20-59, consultorio 105, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 612 3895; fax: (571) 620 6149

dazawilson@unbosque.edu.co

Recibido: 19/04/16; aceptado: 19/10/16

en 14 enfermedades gastrointestinales, según la Clasificación Internacional de Enfermedades (CIE-10). En los casos en los que las enfermedades no contaban con un código que permitiera clasificarlas de manera precisa, o cuando no se pudo determinar una enfermedad específica, se tuvo en cuenta la denominación propuesta a nivel internacional por las organizaciones líderes en este campo, tales como la Sociedad Europea de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica y la *North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*. Los diagnósticos de los quinquenios anteriores se tomaron de los estudios realizados previamente por Gastronutriped.

Los datos se registraron en un formato validado en Microsoft Excel 2010 y luego se exportaron al paquete estadístico EpiInfo®, versión 7.1.3.10, para su análisis. Se calcularon las frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas, y las medidas de tendencia central y de dispersión para las cuantitativas, y se compararon los principales diagnósticos gastrointestinales obtenidos en los dos quinquenios previos (1997 a 2001 y 2002 a 2006) con los del último (2009 a 2013).

Consideraciones éticas

El estudio implicó solo la revisión de fuentes secundarias (historias clínicas), y no se hizo ningún tipo de intervención, por lo tanto, se consideró un estudio de bajo riesgo, aprobado así por el Comité de Ética de la Universidad El Bosque.

Resultados

Perfil epidemiológico entre 2009 y 2013

De los 1.171 pacientes, 51,66 % (607) correspondía al sexo masculino. El estreñimiento funcional crónico y la alergia alimentaria fueron los diagnósticos más frecuentes (57 %), seguidos por los trastornos de la conducta alimentaria, la enfermedad por reflujo gastroesofágico y la enfermedad ácido-péptica, con un porcentaje acumulado mucho menor en comparación con las dos primeras enfermedades (13,58 %) (cuadro 1).

En cuanto al comportamiento de las enfermedades por grupos de edad, se observó una mayor prevalencia en lactantes (502; 43 %), seguidos por los escolares (274; 23,4 %), los preescolares (250; 21,35 %) y los adolescentes (143; 12,21 %).

Comparación por quinquenios

En el primer quinquenio analizado, entre los años 1997 y 2001, los cinco principales diagnósticos fueron, en orden de frecuencia, los siguientes: enfermedad ácido-péptica, dolor abdominal recurrente, reflujo gastroesofágico, hemorragia de vías digestivas altas y enfermedad diarreica prolongada.

En el segundo quinquenio, entre los años 2002 y 2006, los cinco principales diagnósticos fueron: enfermedad ácido péptica, estreñimiento funcional crónico, hemorragia de vías digestivas altas, dolor abdominal recurrente y enfermedad diarreica aguda.

Cuadro 1. Diagnósticos más frecuentes en la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica de Bogotá (Gastronutriped), Colombia, 2009-2013

Diagnóstico principal	Distribución por sexo				Total	
	Masculino		Femenino		n	%
	n	%	n	%		
Estreñimiento funcional crónico	183	30,2	214	37,8	397	33,9
Alergia alimentaria	145	23,9	130	22,9	275	23,4
Trastornos de la conducta alimentaria	35	5,7	29	5,1	64	5,4
Enfermedad por reflujo gastroesofágico	27	4,4	21	3,7	48	4,1
Enfermedad ácido-péptica	20	3,3	27	4,7	47	4,0
Diarrea persistente, síndrome posterior a la enteritis	25	4,1	19	3,3	44	3,7
Fibrosis quística	20	3,3	20	3,5	40	3,4
Diarrea crónica inespecífica o funcional	19	3,1	8	1,4	27	2,3
Reflujo gastroesofágico	14	2,3	8	1,4	22	1,8
Síndrome de malabsorción	9	1,4	4	0,7	13	1,1
Síndrome de intestino irritable	3	0,5	7	1,2	10	0,8
Obesidad	4	0,6	5	0,8	9	0,7
Deficiencia de hierro	4	0,6	3	0,5	7	0,6
Diarrea aguda	5	0,8	2	0,3	7	0,6
Otros	92	15,2	69	12,1	161	13,7
Total	605	100,0	566	100,0	1.171	100,0

Por último, en el tercer quinquenio evaluado, solo tres de los diagnósticos registrados en los quinquenios anteriores se contaron entre los principales: la enfermedad ácido-péptica, el reflujo gastroesofágico y el estreñimiento funcional crónico, aunque su frecuencia cambió; además, aparecieron la alergia alimentaria y los trastornos de la conducta alimentaria (cuadro 2).

La enfermedad ácido-péptica ocupaba el primer lugar como diagnóstico en los dos primeros quinquenios, y descendió al quinto lugar en el último, desplazada por el estreñimiento funcional crónico. Este se encontraba en octavo lugar en el primer quinquenio, ascendió al segundo lugar en el segundo quinquenio y al primero en el último. El diagnóstico de dolor abdominal se encontró en los dos primeros quinquenios con porcentajes de 6,3 y 4,5 %, respectivamente, pero no se halló entre los primeros diagnósticos definitivos en la última cohorte. El reflujo gastroesofágico ocupaba el tercer lugar en el primer quinquenio (6,2 %), pasó al sexto lugar en el segundo y bajó al noveno puesto en el tercer quinquenio (1,9 %); por el contrario, la enfermedad por reflujo gastroesofágico ocupó el cuarto lugar en el tercer quinquenio. La fibrosis quística ocupaba el séptimo lugar en el primer quinquenio, el décimo en el segundo y subió al séptimo lugar en el último quinquenio (cuadro 2).

En el tercer quinquenio apareció la alergia alimentaria como diagnóstico principal en 23,5 % de los casos, ocupando el segundo lugar, cuando en los periodos previos no estaba presente. También, aparecieron otros diagnósticos con menores porcentajes (iguales o inferiores a 5 %), como los trastornos de la conducta alimentaria, la enfermedad

por reflujo gastroesofágico, el síndrome posterior a la enteritis, la diarrea crónica inespecífica y el síndrome de malabsorción (figura 1).

Discusión

Las enfermedades gastrointestinales, así como las que afectan a otros sistemas, experimentan cambios a nivel mundial y local, tal como se observó en quince años de seguimiento en nuestra unidad de gastroenterología. Estos cambios probablemente se deben a diversos factores culturales y ambientales, así como a una mayor sospecha diagnóstica y a los avances tecnológicos que han facilitado el diagnóstico de enfermedades antes no detectadas o de incidencia subestimada (2).

El dolor abdominal es un síntoma común a varias enfermedades, y en los niños es de origen funcional en 90 a 95 % de los casos (5). Según los resultados de este estudio, el dolor abdominal como 'diagnóstico' disminuyó progresivamente y no apareció entre los primeros en el último quinquenio analizado, en contraste con los periodos previos. Esto podría reflejar una mayor y mejor aplicación de los criterios del consenso de Roma III para trastornos gastrointestinales funcionales, así como la disponibilidad de pruebas complementarias que permiten determinar la causa específica del dolor abdominal (6).

En su estudio en el sur de Jordania, Altamimi señaló que cerca de 40 % de los pacientes con estreñimiento presentaba dolor abdominal, y que su prevalencia aumentaba con la edad (7).

El estreñimiento, especialmente el de origen funcional, es una de las causas más frecuentes de dolor abdominal y es un problema usual en la

Cuadro 2. Diez primeros diagnósticos en la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica de Bogotá (Gastronutriped), Colombia, en tres quinquenios

1997-2001 (n=1.088)			2002-2006 (n=1.503)			2009 - 2013 (n=1.171)		
Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%	Diagnóstico	n	%
Enfermedad ácido-péptica	128	11,8	Enfermedad ácido-péptica	355	23,6	Estreñimiento funcional crónico	397	33,9
Dolor abdominal recurrente	68	6,3	Estreñimiento crónico	203	13,5	Alergia alimentaria	275	23,5
Reflujo gastroesofágico	67	6,2	Hemorragia de vías digestivas altas	83	5,5	Trastornos de la conducta alimentaria	64	5,5
Hemorragia de vías digestivas altas	59	5,4	Dolor abdominal recurrente	68	4,5	Enfermedad por reflujo gastroesofágico	48	4,1
Enfermedad diarreica prolongada	57	5,2	Enfermedad diarreica aguda	55	3,7	Enfermedad ácido-péptica	47	4,0
Enterocolitis	57	5,2	Reflujo gastroesofágico	48	3,2	Síndrome posterior a enteritis	44	3,8
Fibrosis quística	49	4,5	Intoxicación exógena	37	2,5	Fibrosis quística	40	3,4
Estreñimiento crónico	45	4,1	Cuerpo extraño en esófago	34	2,3	Diarrea crónica inespecífica	27	2,3
Desnutrición	38	3,5	Desnutrición	31	2,1	Reflujo gastroesofágico	22	1,9
Enfermedad diarreica aguda	35	3,2	Fibrosis quística	28	1,9	Síndrome de malabsorción	13	1,1

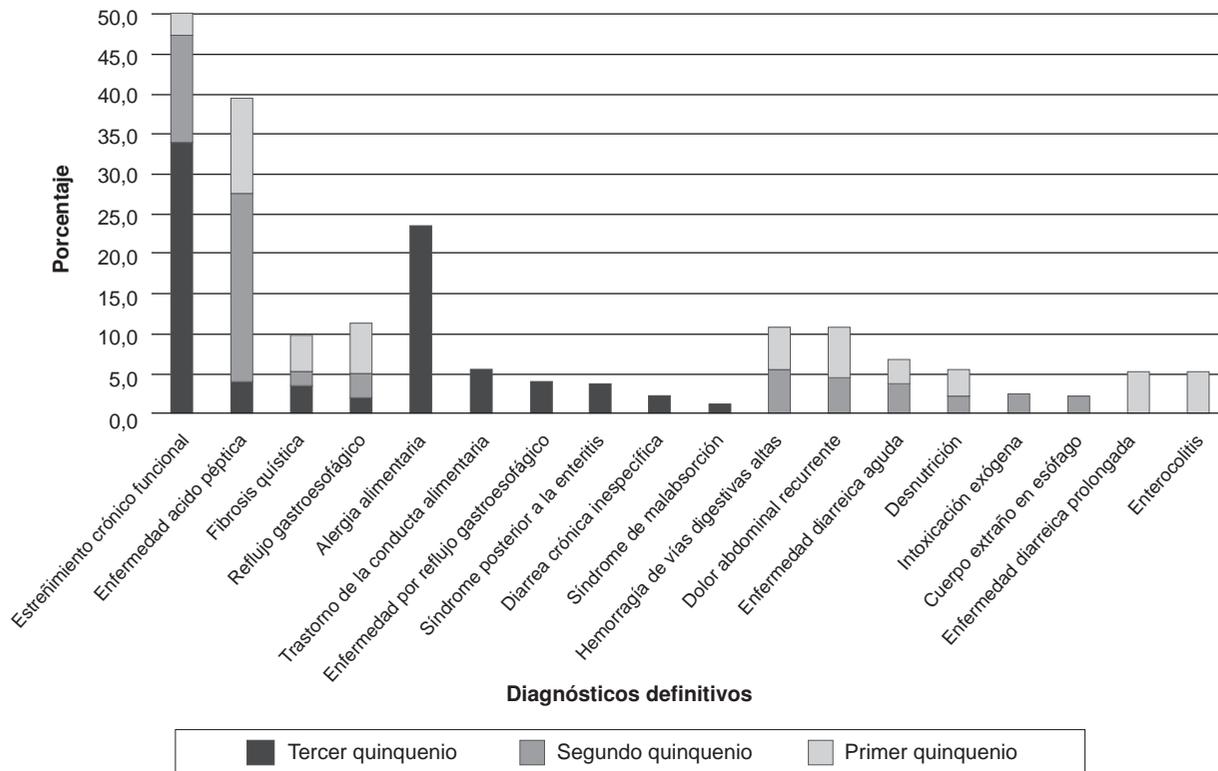


Figura 1. Principales diagnósticos en la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica de Bogotá (Gastronutriped) por quinquenios, Colombia, 1997-2013

población pediátrica; la prevalencia mundial varía entre 0,7 y 29,6 % y representa entre 3 y 5 % de las consultas pediátricas, en general, y alrededor de la cuarta parte de las consultas de gastroenterología pediátrica, con un impacto significativo en el uso y el costo de los servicios médicos (7,8), aunque el número varía según la zona geográfica. En estudios de Brasil, se encontró una alta prevalencia de estreñimiento en lactantes, preescolares y escolares, con valores que oscilaban entre 17,5 y 36,5 % (9,10). Dehghani, *et al.*, registraron una prevalencia de 1,9 a 27,2 % de estreñimiento en niños en Estados Unidos y señalaron que este era la causa principal de síntomas gastrointestinales como el dolor abdominal, la hematoquecia y la anorexia, así como de algunos síntomas extraintestinales, por ejemplo, las infecciones urinarias recurrentes y de complicaciones psicosociales por la encopresis secundaria (11).

Oliveria, *et al.*, encontraron una gran prevalencia de estreñimiento en lactantes, preescolares y escolares, y la correlacionaron con otros factores desencadenantes como el inicio de la alimentación complementaria, el ingreso al colegio y el control de esfínteres. Además, señalaron la presencia de

complicaciones como la diverticulosis, la trombosis hemorroidal y el cáncer de colon, relacionados con la demora diagnóstica (10).

En el presente estudio, el estreñimiento ocupó el primer lugar como diagnóstico principal en el último quinquenio, con una prevalencia de 33 %, cifra ligeramente superior a la reportada por otros centros de referencia (7).

Al comparar el comportamiento del estreñimiento en los últimos 15 años, se observó un importante cambio entre los quinquenios, pues este ascendió vertiginosamente en el segundo y en el último periodo. Dicho aumento se ha descrito en países desarrollados y en desarrollo (8). En el caso de Colombia, podría explicarse, en parte, por la globalización y el acceso a comida procesada con menor contenido de fibra, lo cual resulta en una menor ingestión de fibra que la recomendada para la edad por la *American Academy of Pediatrics*, así como la disminución del ejercicio físico, entre otros aspectos (12).

En general, los datos del estudio concuerdan con los registrados a nivel mundial sobre el aumento del estreñimiento. En un estudio longitudinal en los

Estados Unidos, se encontró un incremento de casi cuatro veces en las tasas de estreñimiento desde 1979 (13). A su vez, Karami, *et al.*, señalaron que 2,5 millones de consultas en los Estados Unidos se debían al estreñimiento (14). Entre 1992 y 2004, las consultas clínicas ambulatorias por estreñimiento aumentaron más del doble y, las hospitalizaciones por la misma causa, alrededor de cuatro veces (13), situación muy similar a los hallazgos del presente estudio, en el cual se observó un aumento cercano al triple en las consultas ambulatorias por estreñimiento.

Rajindrajith, *et al.*, plantearon que el aumento de la prevalencia del estreñimiento podría estar relacionado con la implementación de los criterios del consenso de Roma III, en los cuales se reduce el tiempo necesario para definirlo como tal (15).

Por el contrario, Chu, *et al.*, reportaron tasas más bajas, de alrededor de 8 %, en la población china, aunque estas podrían relacionarse con los hábitos de alimentación, particularmente con la ingestión insuficiente de fibra (8).

La prevalencia de la alergia alimentaria y la de la anafilaxia se han incrementado en las últimas décadas en los países occidentales (14). Diversas instituciones en los Estados Unidos han estimado tasas de prevalencia del 3,5% a 4% (16). En un estudio realizado en Estados Unidos, se registró un aumento significativo entre el 2000 y el 2010, de 3,4 a 4,6 % (17). Sin embargo, a nivel mundial las cifras que se manejan son de 5 % en los adultos y de 8 % en niños (18,19). El diagnóstico de alergia alimentaria puede confundirse con la intolerancia a la lactosa, tal como lo describen Lifschitz, *et al.* (20), lo cual afecta la prevalencia de la primera. En países como China, India y Brasil, se han estimado tasas de prevalencia más bajas, no obstante, podría haber subregistro o subdiagnóstico (21). En Colombia, no se ha determinado la tasa específica a nivel nacional.

En el presente estudio, la alergia alimentaria ocupó el segundo puesto (23,48 %) como diagnóstico principal en el último quinquenio, dato que podría reflejar el hecho de que se hizo en un centro de referencia nacional, por lo que la prevalencia resultó más alta que la registrada previamente.

La alteración de la microbiota intestinal es uno de los factores condicionantes de la alergia alimentaria. Su modificación podría deberse al incremento de los partos por cesárea, la disminución de la lactancia materna como práctica, el uso de fórmulas

infantiles, y el inicio precoz o tardío de la alimentación complementaria, aspectos que favorecen la activación de la respuesta inflamatoria a nivel intestinal y sistémico (22-24).

Al comparar el perfil de los diagnósticos en los tres quinquenios analizados, uno de los hallazgos más importantes fue la constatación de que la alergia alimentaria no aparecía en los dos quinquenios previos, en tanto que se ubicó en segundo lugar entre los principales diagnósticos del último periodo. Este comportamiento podría deberse a los factores expuestos, así como a un mejor conocimiento de la enfermedad por parte de los especialistas y a nuevos métodos diagnósticos (18,22).

Los trastornos de la conducta alimentaria, incluidas las dificultades en la alimentación, ocuparon el tercer puesto entre los diagnósticos más frecuentes. Se ha estimado que hasta 25 % de los niños sanos presentan algún tipo de trastorno en la alimentación (25,26). En algunos estudios se reporta una mayor frecuencia en lactantes entre los 7 y los 11 meses, probablemente porque esta etapa coincide con el inicio de la alimentación complementaria y la mayor textura de los alimentos (25). Estos factores condicionan la aparición del apetito selectivo y las 'neofobias', lo cual determina, a su vez, una mayor predisposición a deficiencias nutricionales específicas y a la malnutrición (25,26).

El diagnóstico de "trastornos de la conducta alimentaria" en los tres quinquenios tuvo un comportamiento similar al de la alergia alimentaria, es decir, apareció entre los principales diagnósticos solo en el último periodo. Los estudios publicados sobre el comportamiento epidemiológico de estos trastornos son escasos, a diferencia de lo que ocurre con la bulimia y la anorexia (26). En parte, el aumento en las alteraciones de la alimentación observadas en los pacientes del presente estudio, podría explicarse por el incremento del diagnóstico de alergia alimentaria. De hecho, las dificultades en la alimentación se encontraron en un tercio de aquellos con diagnóstico de alergia alimentaria, siendo más frecuentes el rechazo a los alimentos y el apetito selectivo (datos de Gastronutriped que no se muestran). En este sentido, desde hace aproximadamente cuatro décadas otros investigadores han reportado la aparición de trastornos en la alimentación de pacientes con alergia alimentaria (27). En concordancia con los hallazgos de este estudio, Harris, *et al.*, encontraron que los lactantes con alergia alimentaria era el grupo que presentaba estas dificultades con mayor frecuencia (28),

y Mukkadda señaló que 16,5 % de los niños con enfermedades gastrointestinales eosinofílicas, entre ellas la alergia alimentaria, tenían alteraciones en la alimentación (29).

La prevalencia de la enfermedad por reflujo gastroesofágico varía según la situación geográfica. En Asia oriental es de 8,5 %, mientras que en Europa occidental y Norteamérica, oscila entre 10 y 20 % (30). En este caso, el diagnóstico de la enfermedad por reflujo gastroesofágico se ubicó en cuarto lugar en el último quinquenio (4,1 %). Se han descrito múltiples factores que favorecen la enfermedad por reflujo gastroesofágico, tales como la presencia de algunos agentes infecciosos, los aspectos nutricionales, los xenobióticos, la predisposición genética y las anomalías anatómicas (31). Los datos de este diagnóstico, en particular, no se pueden comparar con los de quinquenios previos, porque en los dos primeros periodos el diagnóstico de “reflujo” incluyó el reflujo fisiológico y la enfermedad por reflujo, en tanto que en el tercero, se contemplaron las dos categorías por separado (reflujo gastroesofágico y enfermedad por reflujo gastroesofágico). Sin embargo, cabe anotar que en este último período 4,1 % de las consultas se debió a enfermedad por reflujo gastroesofágico propiamente dicho, porcentaje superior al 3,2 % del quinquenio anterior (el cual sumaba el reflujo gastroesofágico y la enfermedad por reflujo gastroesofágico), lo que denotaría un posible aumento del diagnóstico de enfermedad por reflujo gastroesofágico.

La enfermedad ácido-péptica descendió del primero al quinto lugar en el último quinquenio (40 %) en contraste con los dos anteriores. En diversos estudios se describen tasas de incidencia de la enfermedad de 4,4 por 10.000 niños, con una frecuencia de 3 a 6 % en su diagnóstico por endoscopia digestiva alta (32). Estos cambios de frecuencia en el diagnóstico de la enfermedad podrían obedecer a varias razones, entre ellas, la edad de consulta más frecuente en nuestro centro. En el último quinquenio la población atendida se concentró mayoritariamente en el grupo de lactantes, con 6,56 % del total de las enfermedades diagnosticadas (datos de Gastronutriped que no se muestran). Además, con la aplicación de los criterios del consenso de Roma III, se ha mejorado el manejo del paciente con dolor abdominal, y algunos niños que antes se diagnosticaban con enfermedad ácido-péptica hoy reciben otro diagnóstico (33).

Los cambios descritos del comportamiento de las enfermedades gastrointestinales en pediatría

podrían explicarse, en parte, por una aplicación más estricta de los criterios del consenso de Roma III (5), así como por el mayor acceso a nuevos métodos diagnósticos, como las pruebas de calprotectina fecal, alfa 1 antitripsina fecal, elastasa pancreática fecal, la inmuno-CAP, la detección de electrolitos en sudor, la monitorización del pH esofágico y la impedanciometría esofágica de 24 horas, así como la implementación de procedimientos endoscópicos (2). Por otro lado, la intervención de otros profesionales diferentes al médico en el manejo de algunas enfermedades gastrointestinales podría contribuir a lograr un diagnóstico más preciso, como ha ocurrido con el apoyo de los fonoaudiólogos en el diagnóstico de los trastornos de la conducta alimentaria (2).

Por último, no se puede desconocer la influencia de la experiencia y el conocimiento científico. También, es importante resaltar que la literatura médica en torno a estos temas ha aumentado exponencialmente en los últimos años, favorecida por el acceso a revistas médicas electrónicas, y que la programación de cursos de actualización y congresos médicos virtuales o presenciales es continua, lo cual contribuye a elevar el nivel de conocimiento y sensibilización de los profesionales, y permite el diagnóstico de enfermedades que antes se desconocían o no se presentaban y que empiezan a ser descritas en la literatura.

Existen otros factores que pueden influir en el comportamiento epidemiológico de las enfermedades gastrointestinales, como los cambios en el sistema de salud, que han resultado en que hoy la población sea valorada en diferentes centros de salud, clasificados de mayor a menor complejidad y según el estrato socioeconómico, lo cual puede incidir en la disponibilidad de los especialistas en pediatría y gastroenterología pediátrica.

Otro aspecto se refiere a la variabilidad de los diagnósticos gastrointestinales en el territorio nacional. En este sentido, debe anotarse que este estudio se realizó en el área urbana de la capital del país, por lo cual sus resultados no podrían extrapolarse a áreas rurales o a otras poblaciones; sin embargo, dado que se llevó a cabo en un centro de gastroenterología, se abre la posibilidad de llevar a cabo estudios multicéntricos que cobijen a la población pediátrica del país y hagan el seguimiento en los siguientes quinquenios.

Los resultados locales podrían ser útiles para enriquecer el plan de estudios de los residentes de pediatría, de nutrición y de otras especialidades

implicadas en la salud infantil en Colombia, aspecto que redundaría en un mayor conocimiento de estas enfermedades para prevenir y, llegado el caso, posibilitar el tratamiento multidisciplinario e integral de los pacientes.

El estreñimiento funcional crónico y la alergia alimentaria fueron los principales diagnósticos gastrointestinales del último quinquenio analizado en la unidad de referencia en gastroenterología pediátrica del estudio, y conjuntamente superaron la mitad de los diagnósticos. El estreñimiento funcional crónico es un problema de salud pública creciente en el mundo y, en el caso de este estudio, registró un aumento exponencial frente a los periodos previamente evaluados. La alergia alimentaria, que ocupó el segundo lugar, se comportó de forma similar y también ha aumentado su prevalencia a nivel mundial y local debido a diversos factores. Su amplio espectro de manifestaciones gastrointestinales y extraintestinales puede generar subdiagnóstico o sobrediagnóstico y un manejo terapéutico inadecuado.

Dados los hallazgos del presente trabajo, es fundamental hacer estudios de mayor envergadura y evaluar la prevalencia real del estreñimiento y de la alergia alimentaria en la población pediátrica de Colombia, para determinar si el comportamiento a nivel nacional es similar.

Asimismo, se recomienda el estudio de los factores determinantes del estreñimiento funcional crónico y de la alergia alimentaria, y de su persistencia e incremento en la población pediátrica, así como de su impacto en el sistema de salud y en la sociedad.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan que no tienen ningún conflicto de intereses relacionado con el objetivo del trabajo.

Financiación

Este trabajo se desarrolló con el apoyo financiero de la Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica (Gastronutriped) y de la Universidad El Bosque.

Referencias

- Chey WD.** The role of food in the functional gastrointestinal disorders: Introduction to a manuscript series. *Am J Gastroenterol.* 2013;108:694-7. <https://doi.org/10.1038/ajg.2013.62>
- Mora D, Daza W, Dadán S.** Comportamiento epidemiológico de las enfermedades digestivas pediátricas en una Unidad de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica de Bogotá-Gastronutriped (1997-2006) (tesis). Bogotá: Universidad El Bosque; 2010.
- Profamilia.** Encuesta Nacional de Demografía y Salud – ENDS 2010. Bogotá: Printex Impresores; 2010. Fecha de consulta: 3 de agosto de 2016. Disponible en: <https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR246/FR246.pdf>
- Ministerio de la Protección Social.** Encuesta Nacional de Salud 2007. Resultados Nacionales. Bogotá, D.C.: Javegraf; 2009. Fecha de consulta: 3 de agosto de 2016. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/ENCUESTA%20NACIONAL.pdf>.
- Baber KF, Anderson J, Puzanovova M, Walker LS.** Rome II versus Rome III classification of functional gastrointestinal disorders in pediatric chronic abdominal pain. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47:299-302. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31816c4372>
- Zolezzi FA.** Las enfermedades funcionales gastrointestinales y Roma III. *Rev Gastroenterol Perú.* 2007;27:177-84.
- Altamimi E.** Clinical characteristics of pediatric constipation in South Jordan. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2014;17:155-61. <https://doi.org/10.5223/pghn.2014.17.3.155>
- Chu H, Zhong L, Li H, Zhang X, Zhang J, Hou X.** Epidemiology characteristics of constipation for general population, pediatric population, and elderly population in China. *Gastroenterol Res Pract.* 2014;2014:1-12. <https://doi.org/10.1155/2014/532734>
- Velasco CA.** Actualización sobre estreñimiento crónico funcional en niños. *Colomb Med.* 2005;36:55-61.
- Oliveira JN, Tahan S, Goshima S, Fagundes-Neto U, Morais MB.** Prevalence of constipation in adolescents enrolled in São José dos Campos, SP, Brazil, schools and in their parents. *Arq Gastroenterol.* 2006;43:50-4. <https://doi.org/10.1590/S0004-28032006000100013>
- Dehghani SM, Kulouee N, Honar N, Imanieh MH, Haghghat M, Javaherizadeh H.** Clinical manifestations among children with chronic functional constipation. *Middle East J Dig Dis.* 2015;7:31-5.
- Daza W, Dadán S.** Estreñimiento. En: Leal FJ, editor. *El pediatra eficiente.* Séptima edición. Bogotá: Editorial Médica Panamericana; 2013. p. 436-53.
- Everhart JE, Ruhl CE.** Burden of digestive diseases in the United States part II: lower gastrointestinal diseases. *Gastroenterology* 2009; 36:741-754.
- Karami H, Shokohi L.** Management of childhood constipation. *J Pediatr Rev.* 2013;1:45-51.
- Rajindrajith S, Devanarayana NM.** Constipation in children: Novel insight into epidemiology, pathophysiology and management. *J Neurogastroenterol Motil.* 2011;17:35-47. <https://doi.org/10.5056/jnm.2011.17.1.35>
- Comberiati P, Cipriani F, Schwarz A, Posa D, Host C, Peroni DG.** Diagnosis and treatment of pediatric food allergy: An update. *Ital J Pediatr.* 2014;41:13. <https://doi.org/10.1186/s13052-014-0108-0>
- Keet CA, Savage JH, Seopaul S, Peng RD, Wood RA, Matsui EC.** Temporal trends and racial/ethnic disparity in self-reported pediatric food allergy in the United States. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014;112:222-9. <https://doi.org/10.1016/j.anaai.2013.12.007>
- Sicherer SH, Sampson HA.** Food allergy: Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133:291-307. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.11.020>

19. **Saito AM.** Alergia e intolerancia alimentaria, manifestaciones gastrointestinales. *Rev Peru Pediatr.* 2007;60:111-7.
20. **Lifschitz C, Szajewska H.** Cow's milk allergy: Evidence-based diagnosis and management for the practitioner. *Eur J Pediatr.* 2015;174:141-50. <https://doi.org/10.1007/s00431-014-2422-3>
21. **Boye JI.** Food allergies in developing and emerging economies: Need for comprehensive data on prevalence rates. *Clin Transl Allergy.* 2012;25:1-9. <https://doi.org/10.1186/2045-7022-2-25>
22. **Daza W, Dadán S, Rojas A.** Alergia alimentaria en la infancia. *Revista de educación continua de la Sociedad Colombiana de Pediatría.* 2014;3:49-58. Fecha de consulta: 11 de marzo de 2016. Disponible en: https://scp.com.co/precop-old/pdf/3_5.pdf
23. **Searing DA, Leung D.** Vitamin D in atopic dermatitis, asthma and allergic diseases. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2010;30:397-409. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2010.05.005>
24. **Liu X, Arguelles L, Zhou Y, Wang G, Chen Q, Tsai HJ, et al.** The longitudinal trajectory of vitamin D status from birth to early childhood on the development of food sensitization. *Pediatr Res.* 2013;74:321-6. <https://doi.org/10.1038/pr.2013.110>
25. **Bravo P, Hodgson MI.** Trastornos alimentarios del lactante y preescolar. *Rev Chil Pediatr.* 2011;82:87-92. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062011000200002>
26. **Kerzner B, Milano K, MacLean WC, Berall G, Stuart S, Chatoor I.** A practical approach to classifying and managing feeding difficulties. *Pediatrics.* 2015;135:344-53. <https://doi.org/10.1542/peds.2014-1630>
27. **Meyer R, Rommel N, van Oudenhove L, Fleming C, Dziubak R, Shah NJ.** Feeding difficulties in children with food protein-induced gastrointestinal allergies. *Gastroenterol Hepatol.* 2014;29:1764-9. <https://doi.org/10.1111/jgh.12593>
28. **Harris RF, Menard-Katcher C, Atkins D, Furuta GT, Klinnert MD.** Psychosocial dysfunction in children and adolescents with eosinophilic esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;57:500-5. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31829ce5ad>
29. **Mukkada VA, Haas A, Maune NC, Capocelli KE, Henry M, Gilman N, et al.** Feeding dysfunction in children with eosinophilic gastrointestinal diseases. *Pediatrics.* 2010;126:672-7. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2227>
30. **Esposito C, Roberti A, Escolino M, Cerulo M, Settini A, Farina A, et al.** Management of gastroesophageal reflux disease in pediatric patients: A literature review. *Pediatric Health Med Ther.* 2015;6:1-8. <https://dx.doi.org/10.2147/PHMT.S46250>
31. **Zagorski S, Nazarenko O.** Reflux esophagitis and *Helicobacter pylori*: Is there an association in children? *Prog Health Sci.* 2014;4:41-6.
32. **Uribe-Garay C.** Enfermedad ácido péptica en la infancia. Bogotá, D.C.: Sociedad Colombiana de Pediatría; 2014. p. 37-48. Fecha de consulta: 3 de agosto de 2016. Disponible en: https://scp.com.co/precop-old/pdf/3_4.pdf
33. **Tabbers MM, DiLorenzo C, Berger MY, Faure C, Langendam MW, Nurko S, et al.** Evaluation and treatment of functional constipation in infants and children: Evidence-based recommendations from ESPGHAN and NASPGHAN. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;58:258-74. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000000266>

ARTÍCULO ORIGINAL

Evaluación del efecto tóxico de la doramectina, la ivermectina y la eprinomectina sobre *Triatoma infestans* en un modelo de rata

Martín Dadé^{1,2}, Martín Daniele¹, Nora Mestorino¹

¹ Laboratorio de Estudios Farmacológicos y Toxicológicos, Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

² Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires, Argentina

Introducción. La principal herramienta para el control de los triatomíneos, vectores de *Trypanosoma cruzi*, ha sido el uso masivo e intensivo de piretroides. La aparición de resistencia a estas moléculas ha planteado la necesidad de encontrar estrategias nuevas, alternativas y complementarias de control.

Objetivo. Evaluar el efecto tóxico de la ivermectina, la doramectina y la eprinomectina sobre *Triatoma infestans* y sus consecuencias en la alimentación con sangre en un modelo de roedor.

Materiales y métodos. Se alimentaron ninfas de quinto estadio de *T. infestans* en distintos momentos sobre ratas Wistar tratadas previamente con doramectina, ivermectina, eprinomectina o dimetilsulfóxido (excipiente de control), administrados tópicamente o por vía oral. Se determinó el efecto de cada endectocida y del dimetilsulfóxido en la cantidad de sangre ingerida, el volumen de excreciones y el porcentaje de mortalidad.

Resultados. Únicamente la mortalidad de los insectos dependió del endectocida suministrado a las ratas y de la vía de administración utilizada. La doramectina causó mayor mortalidad (21,5 %) comparada con la ivermectina, la eprinomectina y el dimetilsulfóxido (16, 11 y 2,5 %, respectivamente), y la administración tópica fue más efectiva que la vía oral (23 Vs. 9,3 %).

Conclusión. Los resultados obtenidos demuestran el efecto tóxico de los tres endectocidas en *T. infestans*. Su utilización en animales domiciliarios o que viven en el peridomicilio podría ser una interesante estrategia complementaria de la aspersión con piretroides para el control de *T. infestans*.

Palabras clave: *Triatoma*; *Trypanosoma cruzi*; enfermedad de Chagas; resistencia a los insecticidas; control de vectores; ivermectina; ratas Wistar.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3316>

Evaluation of the toxic effects of doramectin, ivermectin and eprinomectin against *Triatoma infestans* using a rat model

Introduction: Pyrethroids have been frequently and intensively used for controlling the triatomine vectors of *Trypanosoma cruzi*. The emergence of resistance to these insecticides has resulted in an urgent need to identify novel, alternative and complementary control strategies.

Objective: To evaluate the toxic effects of ivermectin, doramectin and eprinomectin on the blood-feeding behaviour of *Triatoma infestans* using a rodent model.

Materials and methods: Fifth instar nymphs of *T. infestans* were fed at different times on Wistar rats pretreated with doramectin, ivermectin, eprinomectin or dimethylsulfoxide (excipient control) topically or orally administered. We determined the effects of each insecticide and of dimethyl sulfoxide on the amount of ingested blood, the volume of faecal discharge, and the mortality rates in triatomines.

Results: Only the rate of triatomine mortality was associated with the antiparasitic compounds administered and the route of administration utilized. Doramectin administration was associated with a higher mortality rate (21.5%) than ivermectin, eprinomectin and dimethylsulfoxide (16, 11 and 2.5%, respectively), and topical administration was found to be most effective for inducing mortality (23 vs. 9.3 %).

Conclusion: These results demonstrate the toxic effects of the three assessed insecticides on *T. infestans*. The administration of ecto/endoparasiticides to domiciliary or peridomiciliary animals may serve as an interesting complementary strategy to the use of pyrethroids for the control of *T. infestans*.

Key words: *Triatoma*; *Trypanosoma cruzi*; Chagas disease; insecticide resistance; vector control; ivermectin; Wistar, rats.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3316>

Contribución de los autores:

Nora Mestorino: diseño del estudio, análisis de los datos y escritura del manuscrito

Martín Daniele: ejecución de los ensayos y análisis de laboratorio

Martín Dadé: participación en todas las etapas de la investigación

La enfermedad de Chagas es una infección parasitaria crónica inicialmente considerada endémica de América, en donde actualmente se estima que entre 9 y 11 millones de personas la padecen, y que entre 60 y 120 millones se encuentran en riesgo de adquirirla (1). Debido a los cambios sociodemográficos, actualmente se la categoriza como una enfermedad global (2).

Causada por el protozoo *Trypanosoma cruzi*, la enfermedad de Chagas involucra a numerosos reservorios animales domésticos y selváticos. Se transmite al hombre principalmente por las heces de insectos hematófagos infectados pertenecientes a la subfamilia Triatominae (Heteroptera: Reduviidae), y de madres a hijos, así como por transfusiones y trasplante de tejidos no controlados y por la ingestión de alimentos contaminados, principalmente jugos de frutas (3). Si a ello se añaden los recientes flujos migratorios, las rutas comerciales de los países emergentes y la modernización de los métodos de transporte, es fácil comprender su difícil control y el efecto de la globalización en su distribución (2). No obstante, la enfermedad de Chagas es una de las 17 enfermedades infecciosas desatendidas (4).

Una de las principales estrategias para reducir el número de nuevos enfermos es eliminar de las zonas endémicas a los vectores responsables de transmitir el parásito (5). En Argentina, el principal vector transmisor de *T. cruzi* es *Triatoma infestans*. Su capacidad de adaptarse al ambiente humano y colonizar densamente el domicilio y el peridomicilio, y ciertos patrones fisiológicos como la cantidad de sangre que ingiere y la capacidad de excretar parte del contenido del tubo digestivo mientras se está alimentando, entre otros, hacen de esta especie un vector muy eficaz en la transmisión del parásito (6).

Además de la voluntad política de eliminar los principales vectores de *T. cruzi* de las regiones endémicas mediante iniciativas como la del Cono Sur (Incosur), la del Pacto Andino (IPA), la centroamericana (IPCA) y la de la Amazonia (AMCHA), el reemplazo del lindano (gammahexaclorociclohexano) por piretroides sintéticos a mediados de los 80 marcó un hito en el control del vector (1). Los piretroides

demonstraron ser moléculas de gran eficacia en *T. infestans*, pues poseen un gran poder residual, son bien aceptados por los habitantes de los hogares fumigados y no sufren bioacumulación, como ocurre con los organoclorados utilizados previamente (7).

En 1997, Uruguay fue el primer país en el cual se pudo certificar la interrupción vectorial de la enfermedad de Chagas (8). Chile y Brasil consiguieron dicha certificación en 1999 y 2006, respectivamente (9), en tanto que hasta el día de hoy, Argentina, Perú y Paraguay solo han logrado certificar la interrupción de la transmisión vectorial en ciertas zonas de su territorio.

Si bien en un comienzo los piretroides utilizados en las campañas de fumigación tuvieron gran eficacia en la eliminación de *T. infestans* en los domicilios, dos situaciones condicionaron su uso masivo en distintas poblaciones del vector: la poca eficacia detectada frente a poblaciones de triatomíneos habitantes del peridomicilio (10), y la aparición de resistencia y tolerancia registradas en diferentes localidades de la región (11).

Ante estas limitaciones, surgió la urgente necesidad de implementar estrategias alternativas y complementarias de control. Una de ellas postula la administración de diversos principios químicos con actividad frente a los triatomíneos en animales que habitan el domicilio y el peridomicilio. Muchos de estos animales (perros, gallinas, cabras, etc.), además de representar una fuente de alimentación para los triatomíneos, se comportan como reservorios de *T. cruzi* (12).

Aunque el objetivo principal de los estudios es hallar moléculas que puedan provocar la muerte de los triatomíneos al ser incorporadas en estos, no es el único, ya que también se estudian moléculas con capacidad de interferir en sus patrones de alimentación y defecación como buenos blancos a la hora de encontrar alternativas para su control.

En un estudio previo, nuestro equipo demostró mediante pruebas *in vitro* la actividad tóxica de tres antiparasitarios muy utilizados en medicina veterinaria, la doramectina, la eprinomectina y la ivermectina, en ninfas de quinto estadio de *T. infestans* (13). En dicho estudio, se encontró que la ingestión de las tres moléculas provocaba diferentes grados de intoxicación en las ninfas.

La doramectina exhibió una mayor potencia contra los insectos y mantuvo su actividad anti-*T. infestans*, incluso en las concentraciones más bajas evaluadas, del orden de los 0,4 ng/ml.

Correspondencia:

Martín Dadé, Cátedra de Farmacología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de la Plata, calle 60 y 118, La Plata, Argentina
Telefax: (54) 221 425 7980
martindade26@hotmail.com

Recibido: 13/04/16; aceptado: 20/10/16

Los tres compuestos estudiados pertenecen al grupo de las avermectinas, las cuales, conjuntamente con las milbemicinas (moxidectina), se conocen como endectocidas, término que hace referencia a su espectro de acción contra endoparásitos y ectoparásitos. Lo interesante de estas moléculas es que ejercen su acción sobre los parásitos de manera diferente a la de los piretroides.

Cuando se usa un endectocida en un parásito sensible, se produce un aumento en el flujo de iones cloruro hacia el interior de las células neuronales, evento que se atribuye a los canales de cloro regulados por el glutamato, lo cual desencadena una hiperpolarización de la neurona (14). Este mecanismo da lugar a una disminución de la motilidad del parásito, pues afecta su musculatura somática y le impide mantenerse en su hábitat, en tanto que el efecto sobre la musculatura de la bomba faríngea interfiere profundamente en la alimentación. La combinación de estos dos mecanismos produce la muerte del parásito (15). Los piretroides, en cambio, aumentan el tiempo de apertura de los canales de sodio y, por lo tanto, desencadenan descargas repetitivas en las neuronas, dando lugar a una parálisis espástica del insecto (15,16). El hecho de que la diana molecular de ambas familias de agentes sea distinta no es un dato deleznable, pues son varios los casos en los que los endectocidas se han convertido en una alternativa para eliminar a insectos vectores que desarrollaron resistencia a los piretroides (17).

En diversos trabajos se ha comprobado la estrecha relación entre distintos roedores y diferentes triatomínos en todo el continente americano (18-20), ya que ciertos roedores, además de representar una buena fuente de alimento para los triatomínos, también pueden actuar como huéspedes de *T. cruzi* (20), lo cual resalta su importancia en la epidemiología de la enfermedad de Chagas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar si el efecto tóxico, demostrado *in vitro* de la ivermectina, la doramectina y la eprinomectina en *T. infestans*

persistía en un modelo *in vivo* de roedor (ratas Wistar). El efecto tóxico de las moléculas se evaluó con base en tres variables: la cantidad de sangre ingerida, el volumen de excreciones y el porcentaje de mortalidad en los insectos.

Materiales y métodos

Animales experimentales

Se utilizaron 32 ratas Wistar de ambos sexos y de dos meses de edad, aproximadamente. Los roedores se dividieron al azar en dos grandes grupos según la vía de administración de los endectocidas, y cada uno de estos grupos se subdividió en cuatro grupos de cuatro individuos (dos machos y dos hembras) cada uno (cuadro 1).

Cada uno de los grupos de roedores se alojó en una jaula debidamente identificada. Los animales se mantuvieron en condiciones ambientales controladas y constantes (22 ± 2 °C, humedad relativa, HR, de 70 a 80 % y fotoperiodo de 12 horas), y se les suministraron agua y alimento *ad libitum*.

Formulaciones experimentales

Se prepararon soluciones de ivermectina, doramectina y eprinomectina al 0,5 % en dimetilsulfóxido (DMSO), todas con los ingredientes activos de grado técnico: ivermectina (90 %), eprinomectina (90,7 %) y doramectina (94,8 %) (Romikin, S.A., Argentina). Para el cálculo de la concentración se consideró la pureza de cada sustancia, con el fin de ajustar la masa del ingrediente activo que debía pesarse e igualar así las concentraciones de los tres endectocidas.

Administración de las formulaciones experimentales

Cada grupo de roedores recibió ivermectina, doramectina, eprinomectina o DMSO por vía oral mediante sonda buco-esofágica, o por vía tópica mediante su aplicación puntual a nivel dorsal (*spot-on*). Los endectocidas se administraron a razón de 600 µg/kg de peso vivo. Se administró DMSO (excipiente de control) en igual volumen conjuntamente

Cuadro 1. Distribución del material biológico utilizado (ninfas de *Triatoma infestans* y ratas Wistar) según los diferentes tratamientos evaluados

Vía de administración	Número de tratamientos	Tiempos de alimentación	Número de ratas		N° de <i>Triatoma infestans</i>		
			Por tratamiento	Total	Por rata	Por tratamiento	Total
Tópica	4	6	4	16	5	20	480
Oral	4	6	4	16	5	20	480

Tratamientos: DMSO, ivermectina, doramectina, eprinomectina; tiempos de alimentación: -24, 24, 72, 168, 240 y 336 horas

con el resto de los tratamientos. El momento de administración de las moléculas se consideró como el tiempo cero.

Prueba con *Triatoma infestans*

Se utilizaron 960 ninfas de quinto estadio de *T. infestans* criadas en laboratorio en condiciones ambientales constantes: 25 a 30 °C, 50 a 70 % de humedad relativa y fotoperiodo de 12 horas.

Para la alimentación de los insectos, estos se depositaron individualmente en tubos Eppendorf de 1,5 ml (figura 1). Se colocó tela adhesiva en la mitad superior de la pared interior de cada tubo para permitir a los insectos trepar y llegar a la piel de los roedores. Para mantener los tubos Eppendorf en contacto con las ratas, se utilizaron planchuelas de poliestireno de 20 x 20 cm, en las que se incrustaron cinco tubos Eppendorf (un insecto por recipiente), de manera que la parte superior del tubo, cubierta por un tul, quedase al ras de la planchuela. Así,



Figura 1. Ejemplar de quinto estadio de *Triatoma infestans* contenido en un tubo Eppendorf en cuyo fondo se pueden observar las excreciones emitidas por el insecto después de haber estado dos horas en contacto con una rata Wistar

sobre cada planchuela se ubicó una rata en posición de decúbito ventral, previamente anestesiada con ketamina (75 mg/kg de peso vivo) y acepromacina (2,5 mg/kg de peso vivo) por vía intraperitoneal, para garantizar su inmovilidad.

Los insectos fueron alimentados durante 45 minutos en los siguientes intervalos: 24 horas antes de la administración de las moléculas endectocidas y del DMSO a las ratas (-24 h: control basal), y 24, 72, 168, 240 y 336 horas después de la administración de cada compuesto. Por cada tratamiento y tiempo de observación, se evaluaron 20 insectos (cinco ninfas por rata por cada cuatro ratas y por tratamiento), según se detalla en el cuadro 1.

Mediante micropipetas de 100 y 10 μ l, se midió el volumen de las excreciones emitidas por los insectos dentro de los tubos Eppendorf (figura 1), durante las primeras dos horas a partir del momento de alimentación.

La cantidad de sangre ingerida (g) se calculó aplicando la siguiente ecuación:

$$CSI = P_{ETPA} - P_{ET}$$

donde CSI correspondía a la cantidad de sangre ingerida, P_{ETPA} , al peso de los tubos Eppendorf con el respectivo triatomino después de suministrado el alimento, y P_{ET} al peso del respectivo tubo Eppendorf con el triatomino antes de ser alimentado sobre los roedores. Para este procedimiento, se utilizó una balanza de precisión Denver Instrument (USA).

Después de alimentarlos, se observó a los insectos cada 24 horas durante una semana. La mortalidad se definió como la incapacidad del triatomino para trasladarse sobre un papel de filtro, ya fuera de manera espontánea o incentivada por el contacto con una pinza metálica. Para calcular el porcentaje de mortalidad de las ninfas por efecto de los endectocidas, no se consideró el control basal, ya que los triatominos alimentados en ese momento no los habían recibido, como tampoco el DMSO. Con este control se estableció el nivel basal de la cantidad de sangre ingerida, el volumen de excreciones y la mortalidad de los insectos antes de la administración de los endectocidas y del excipiente a los roedores.

Análisis estadístico

Las variables de cantidad de sangre ingerida y volumen de las deyecciones de los insectos tras su alimentación sobre los roedores tratados con los diferentes endectocidas o con DMSO, se compararon mediante análisis de varianza de una vía

(ANOVA). Las diferencias iguales o menores de 0,05 se consideraron significativas. Cuando se encontró significación en el ANOVA, se utilizó la prueba de Tukey de comparaciones múltiples de medias. En los casos necesarios, se usó la prueba de ji al cuadrado con corrección de Yates, para determinar la diferencia en los porcentajes de mortalidad de las ninfas de *T. infestans*.

Consideraciones éticas

El protocolo para el manejo de los animales en los distintos ensayos se basó en la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* del *Institute for Laboratory Animal Research* (21) y fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Resultados

La cantidad de sangre ingerida por los insectos durante la alimentación se mantuvo constante a lo largo del ensayo y no se vio afectada por los tiempos posteriores a la administración del fármaco en que los triatominos entraron en contacto con las ratas, como tampoco sufrió variación alguna relacionada con el tratamiento previo recibido por el roedor (distribución F de Fisher-Snedecor, $F=2,36$; grados de libertad, $gl=92$; $p=0,061$) (cuadro 2). El promedio total de consumo de sangre fue de $0,268 \pm 0,115$ g por insecto.

La variable del volumen de excreciones de los insectos tampoco sufrió cambios durante el experimento ($F=0,56$; $gl=92$; $p=0,63$) (cuadro 3). El volumen total de excreciones de los insectos durante las primeras dos horas a partir del momento de su contacto con los roedores fue de $51,7 \pm 5,7$ μ l.

Por el contrario, los porcentajes de mortalidad de las ninfas variaron según la vía de administración, el tipo de endectocida administrado y el momento de alimentación de las ninfas después de la administración de cada molécula a los roedores. Los porcentajes de mortalidad total entre los insectos del control basal (-24 h) y los insectos de control con el excipiente (DMSO) fueron idénticos (2,5 %).

En cuanto a la vía de administración, se encontró que la mortalidad de los triatominos fue significativamente más alta (23 %; 69/300 insectos) cuando los endectocidas se administraron de forma tópica a las ratas en los cinco momentos de alimentación después del tratamiento, que cuando se administraron por vía oral (9,3 %; 28/300 insectos; $\chi^2=24,69$, $gl=1$, $p<0,001$).

El endectocida que causó mayor mortalidad al aplicarlo por vía tópica fue la doramectina (28 %), seguido por la ivermectina (21 %), la eprinomectina (20 %) y el DMSO (2 %), diferencias que fueron estadísticamente significativas ($\chi^2= 25,26$; $gl=3$; $p<0,0001$).

Cuadro 2. Efecto de la ivermectina, la doramectina y la eprinomectina en la cantidad de sangre ingerida por ninfas de quinto estadio de *Triatoma infestans* después de 45 minutos de contacto con ratas Wistar

Vía de administración	Sangre ingerida (g)							
	DMSO ¹		Ivermectina		Doramectina		Eprinomectina	
	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE
Oral	0,269	0,121	0,278	0,132	0,262	0,115	0,255	0,101
Tópica	0,276	0,112	0,279	0,101	0,268	0,115	0,259	0,117

¹ Excipiente de control; DE: desviación estándar

Cuadro 3. Efecto de la ivermectina, la doramectina y la eprinomectina en el volumen de excreciones de ninfas de quinto estadio de *Triatoma infestans* durante las dos primeras horas después de la alimentación

Vía de administración	Volumen de excreciones (μ l)							
	DMSO ¹		Ivermectina		Doramectina		Eprinomectina	
	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE
Oral	50,2	4,7	52,8	6,2	51,1	4,8	52,3	5,1
Tópica	53,1	6,9	51,6	6,1	51,4	4,4	50,8	7,0

¹ Excipiente de control; DE: desviación estándar

Con respecto a los momentos de alimentación después de la administración de las sustancias, la actividad de los tres endectocidas sobre las ninfas comenzó a las 24 horas de la alimentación. En este momento la mayor mortalidad se presentó con la ivermectina (40 %), comparada con la doramectina (35 %), la eprinomectina (25 %) y el DMSO (5 %), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($\chi^2=7,43$; $gl=3$; $p=0,059$). A las 72 horas, los tres compuestos endectocidas presentaron su máxima actividad: 80 % con la doramectina, 70 % con la eprinomectina y 65 % con la ivermectina, en tanto que el excipiente de control no ocasionó mortalidad alguna (0 %), y las diferencias fueron estadísticamente significativas ($\chi^2=31,93$; $gl=3$; $p<0,001$). Solamente la doramectina mantuvo su actividad hasta las 168 horas de la administración (25 %). A las 240 y a las 336 horas de la alimentación, no se presentó mortalidad con ninguno de los compuestos ensayados.

En cuanto a la administración oral, solo demostraron actividad insecticida la ivermectina (11 %) y la doramectina (15 %), con diferencias estadísticamente significativas al compararlas con el excipiente de control (3 %) ($\chi^2=8,55$; $gl=2$; $p=0,014$).

Con respecto a los momentos de alimentación después de la administración, a las 24 horas la mortalidad observada fue de 20 % con doramectina y de 15 % con ivermectina, mientras que con el excipiente de control no se observó mortalidad alguna ($\chi^2=4,20$; $gl=2$; $p=0,14$).

La doramectina y la ivermectina demostraron su mayor eficacia en las ninfas a las 72 horas después de la administración, con 55 y 35 %, respectivamente, siendo estas diferencias estadísticamente significativas con respecto al excipiente de control (10 %; $\chi^2=9,19$, $gl=2$; $p=0,011$). A partir de las 168 horas de alimentación, no provocaron mortalidad.

El hecho de poder alojar a las ninfas en recipientes individuales permitió conocer la cantidad de sangre consumida por los triatominos que luego murieron, con promedios de $0,294 \pm 0,063$ g, $0,341 \pm 0,048$ g y $0,332 \pm 0,056$ g para la doramectina, la ivermectina y la eprinomectina, respectivamente; estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($F=6,26$; $g=92$; $p=0,002$).

El análisis realizado con la prueba de Tukey demostró que los triatominos del tratamiento con doramectina tomaron una cantidad de sangre significativamente menor, comparados con aquellos de los tratamientos con ivermectina y eprinomectina. La diferencia

mínima significativa entre medias (DMS) fue de 0,035 g, valor menor que la diferencia observada entre la doramectina y la ivermectina (0,047 g; $p<0,05$) y que la diferencia entre la doramectina y la eprinomectina (0,038 g; $p<0,05$). Por otra parte, la diferencia observada entre la ivermectina y la eprinomectina (0,009 g) no fue estadísticamente significativa ($p>0,05$).

Discusión

El presente estudio se llevó a cabo en el marco de la estrategia de complementación del uso masivo de piretroides contra *T. infestans* con moléculas que pueden controlar las poblaciones en el peridomicilio y el domicilio. Anteriormente, nuestro equipo había demostrado en ensayos *in vitro* la actividad de estos tres endectocidas en *T. infestans*, lo cual motivó la continuación del estudio aplicando distintos modelos animales. La primera prueba *in vivo* se llevó a cabo en gallinas ponedoras (22), y se pudo demostrar la actividad insecticida de la ivermectina en ninfas de quinto estadio de *T. infestans* (23,25 % de mortalidad), administrada únicamente en forma puntual (*spot-on*) y con una dosis igual a la empleada en el presente ensayo (600 $\mu\text{g/ml}$ de una formulación de ivermectina al 0,5 % en DMSO). El efecto insecticida de la ivermectina en *T. infestans* se extendió hasta las 336 horas. Cada especie animal tiene características propias que inciden en el comportamiento farmacocinético de la molécula administrada por diferentes vías y, por ende, los procesos de absorción, distribución, metabolismo y excreción difieren. El patrón metabólico puede ser significativamente diferente entre aves y mamíferos, por lo cual la extrapolación entre especies no se recomienda.

En el presente estudio, el hecho de haber colocado a los triatominos en recipientes individuales y mantener anestesiadas a las ratas durante el tiempo de alimentación de los insectos permitió evaluar, además de la mortalidad de las ninfas, dos variables muy importantes que tienen relación directa con la efectividad de *T. infestans* para transmitir *T. cruzi*: la cantidad de sangre ingerida y el volumen de excreciones durante o tras la alimentación (23). Bajo las condiciones experimentales propuestas durante la alimentación, ninguno de los tres endectocidas tuvo incidencia en los dos procesos fisiológicos estudiados. Debe recordarse que, debido a su mecanismo de acción, las avermectinas interfieren en la alimentación de los ectoparásitos y los endoparásitos alterando la musculatura de la bomba faríngea (15). Según los resultados

obtenidos, en *T. infestans*, la musculatura de la bomba faríngea aparentemente no se vio afectada, ya que no hubo interferencia en la alimentación de los insectos por acción de los endectocidas, comportamiento también observado en el estudio *in vitro* realizado por nuestro grupo de investigación (13). Esta hipótesis debería investigarse mediante estudios moleculares.

Sin embargo, sí se encontraron diferencias en los porcentajes de mortalidad de las ninfas según el endectocida administrado al roedor y la vía de administración empleada. Los tres endectocidas demostraron tener mayor eficacia sobre las ninfas cuando se administraron de forma puntual (*spot-on*), lo cual podría explicarse por la gran liposolubilidad de las moléculas, característica que les permite atravesar la barrera epitelial fácilmente, posibilitando una mayor biodisponibilidad, es decir, los insectos disponen de una mayor cantidad de moléculas en el momento de alimentarse. Por otra parte, el DMSO es un disolvente ideal, que se comporta como un transportador de moléculas y facilita la permeabilidad de las membranas. Si a estas características se añade la gran facilidad con que todas aquellas sustancias con propiedades simultáneamente hidrosolubles y liposolubles, como las avermectinas, pasan a través de la piel, se explicaría por qué se logró un mayor efecto en *T. infestans* tras la administración tópica.

También debe tenerse en cuenta que cuando se utiliza la vía tópica, se evitan las reacciones del primer paso metabólico en el hígado, fenómeno que sí ocurre cuando la vía de administración es la oral. La ivermectina, por ejemplo, sufre distintas reacciones químicas por acción del complejo enzimático citocromo P450, siendo las isoformas 1A1 y A3 las involucradas en el metabolismo del endectocida en ratas (24). Por lo tanto, con esta formulación experimental la vía tópica parece ser la más apropiada para lograr concentraciones suficientes en la sangre que ocasionen la muerte del triatomino.

Cabe destacar que, tanto en los estudios *in vitro* como en el presente ensayo, la doramectina fue el endectocida que produjo la mayor mortalidad en ninfas de quinto estadio de *T. infestans*. *In vitro* también se pudo determinar que la doramectina fue más potente que la ivermectina y la eprinomectina. La concentración mínima para obtener 100 % de mortalidad entre las ninfas fue de 1,6 ng/ml con la doramectina, mientras que con la eprinomectina

se necesitó el doble de concentración (3,15 ng/ml) y, con la ivermectina, cuatro veces más (6,25 ng/ml) (13).

Esta mayor potencia de la doramectina podría estar relacionada con lo observado en el presente trabajo, en el cual los insectos que murieron por acción de la doramectina fueron los que, en promedio, ingirieron menor cantidad de sangre, hallándose una diferencia estadísticamente significativa con respecto a la ivermectina y la eprinomectina. En consecuencia, se podría aseverar que, al ser más potente, se necesitó una menor concentración de moléculas de doramectina para matar al insecto.

Otra explicación podría relacionarse con la mayor biodisponibilidad de la doramectina con respecto a la ivermectina y la eprinomectina, lo que determinaría una mayor cantidad de moléculas de doramectina en el plasma de las ratas disponibles para los triatominos durante la alimentación. La disposición plasmática de las avermectinas se caracteriza por su prolongada persistencia en el organismo y su gran volumen de distribución, así como por un efecto significativo de la formulación y la ruta de administración en la biodisponibilidad, y una gran variación entre especies e individuos.

Si bien los porcentajes de mortalidad total entre las ninfas no fueron elevados durante el ensayo, debe destacarse la gran actividad tóxica demostrada por los tres endectocidas en las ninfas alimentadas a las 72 horas (80, 70 y 65 % para la doramectina, la eprinomectina y la ivermectina, respectivamente) a partir de la administración tópica de las moléculas en los roedores, lo cual probablemente coincidió con la concentración plasmática máxima alcanzada tras la administración.

La pérdida de actividad de los tres endectocidas después de las 168 horas de la administración estaría relacionada con la caída de las concentraciones plasmáticas. Lógicamente, esta breve persistencia respondería a la formulación experimental ensayada (solución en DMSO). En el estudio *in vivo* con gallinas (22), se encontró que el porcentaje de mortalidad observado en las ninfas se relacionaba directamente con la concentración plasmática de ivermectina en el momento de la alimentación de las ninfas sobre las aves, es decir, la actividad de estas moléculas se relacionó directamente con la concentración plasmática lograda y con su mayor persistencia.

Cuando se utilizó la vía oral para administrar los endectocidas en ratas, nuevamente se observó una mayor actividad de las moléculas a las 72 horas

de la administración, 55 y 35 % para doramectina e ivermectina, respectivamente, en tanto que la eprinomectina fue el único de los endectocidas ensayados que no demostró actividad al ser administrado de manera oral, lo cual coincide con lo reportado por Zeng, *et al.*, quienes, mediante estudios sobre el metabolismo de la eprinomectina en ratas Sprague-Dawley, determinaron que la mayor proporción de las moléculas de eprinomectina administradas por vía oral se eliminaban intactas en las heces, y solo un pequeño porcentaje de ellas sufría una N-desacetilación como reacción metabólica, de manera que su biodisponibilidad oral resultaba muy baja (25,26).

En el presente estudio, nos propusimos evaluar la actividad de tres endectocidas en ninfas de quinto estadio de *T. infestans* en un modelo *in vivo* de roedor. De las tres variables estudiadas, la mortalidad fue la única que, bajo las condiciones experimentales, demostró una diferencia estadísticamente significativa entre triatominos alimentados a partir de ratas tratadas y aquellos que se alimentaron de ratas tratadas con el excipiente de control (DMSO). Los altos porcentajes de mortalidad en las ninfas obtenidos a las 72 horas de la administración representan un hallazgo alentador, sobre todo porque estos compuestos antiparasitarios podrían emplearse como complemento de los piretroides en el domicilio y en el peridomicilio.

Dada la breve persistencia obtenida con esta formulación experimental, uno de los objetivos de futuros trabajos sería ensayar distintas formulaciones de acción prolongada y constatar si, al prolongar la permanencia de las moléculas, se aumenta la eficacia frente a las ninfas.

Agradecimientos

Al Centro de Referencia de Vectores, Córdoba, Argentina, por la provisión de los ejemplares de *T. infestans* utilizados en el ensayo.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

Financiación

Esta investigación fue financiada por el Laboratorio de Estudios Farmacológicos y Toxicológicos de la Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Referencias

1. **Coura JR, Días, JC.** Epidemiology, control and surveillance of Chagas disease: 100 years after its discovery. Mem

Inst Oswaldo Cruz. 2009;104(Suppl.1):31-40. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000900006>

2. **Ventura-García L, Roura M, Pell C, Posada E, Gascón J, Aldasoro E, et al.** Socio-cultural aspects of Chagas disease: A systematic review of qualitative research. PLoSNegl Trop Dis. 2013;12:7:e2410. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002410>
3. **Toso AM, Vial FU, Galanti N.** Transmisión de la enfermedad de Chagas por vía oral. Rev Med Chile. 2011;139:258-66. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872011000200017>
4. **World Health Organization.** Sustaining the drive to overcome the global impact of neglected tropical diseases: Second Who Report on Neglected Diseases. Geneva: WHO; 2013.
5. **Salvatella R, Schofield J.** Enfermedad de Chagas iniciativas para su control en Latinoamérica. Biomedicina. 2006;1:36-46.
6. **Guarneri AA, Diotaiuti L, Gontijo NF, Gontijo AF, Pereira MH.** Comparison of feeding behaviour of *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis* and *Triatoma pseudomaculata* in different hosts by electronic monitoring of the cibarial pump. J Insect Physiol. 2000;46:1121-7. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(99\)00222-X](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(99)00222-X)
7. **Casabé N, Melgar F, Wood EJ, Zerba EN.** Insecticidal activity of pyrethroids against *Triatoma infestans*. Int J Trop Insect Sci. 1988;9:233-36. <https://doi.org/10.1017/S1742758400006044>
8. **World Health Organization.** Chagas disease, interruption of transmission in Uruguay. Wkly Epidemiol Rec.1998;73:1-4.
9. **World Health Organization.** Chagas disease, interruption of transmission in Chile. Wkly Epidemiol Rec. 1999;2:9-11.
10. **Gürtler RE, Cohen JE, Cecere MC, Lauricella MA, Chuit R, Segura EL.** Influence of human and domestic animals on the household prevalence of *Trypanosoma cruzi* in *Triatoma infestans* populations in northwest Argentina. Am J Trop Med Hyg. 1998;58:748-58.
11. **Mougabure-Cueto G, Picollo MI.** Insecticide resistance in vector Chagas disease: Evolution, mechanisms and management. Acta Trop. 2015;149:70-85. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.05.014>
12. **Loza-Murguía M, Noireau F.** Vectorial capacity of *Triatoma guayasana* (Wygodzinsky & Abalos) (Hemiptera: Reduviidae) compared with two other species of epidemic importance. Neotrop Entomol. 2010;39:799-809. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2010000500020>
13. **Dadé MM, Daniele MR, Silvestrini MP, Mestorino N.** Eficacia *in vitro* de tres endectocidas frente a *Triatoma infestans*. Rev Cubana Med Trop. 2014;66:338-50.
14. **Parri HR, Djamgoz MB, Holdendyell L, Walker RJ.** An ion-sensitive microelectrode study on the effect of a high concentration of ivermectin on chloride balance in the somatic muscle bag cells of *Ascaris suum*. Parasitology. 1993;106:421-7. <https://doi.org/10.1017/S0031182000067172>
15. **Errecalde J, Mestorino N.** Terapéutica de las ectoparasitosis. En: **Fiel C, Nari A, editores.** Enfermedades parasitarias de importancia clínica y productiva en rumiantes. Fundamentos epidemiológicos para su diagnóstico y control. Montevideo: Editorial Hemisferio Sur; 2013. p. 625-30.

16. **Soderlund DM.** Pyrethroids, knockdown resistance and sodium channels. *Pest Manag Sci.* 2008;64:610-16. <https://doi.org/10.1002/ps.1574>
17. **Wilson ML.** Avermectins in arthropod vector management -prospects and pitfalls. *Parasitol Today.* 1993;9:83-7. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(93\)90210-7](https://doi.org/10.1016/0169-4758(93)90210-7)
18. **Pinto J, Cáceres AG, Vega S, Martínez R, Náquira C.** Fuentes de alimentación de *Panstrongylus herreri* (Hemiptera: Triatominae) capturados en Utcubamba, Amazonas-Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2008;25:179-84.
19. **Calderón-Arguedas O, Chinchilla M, García F, Vargas M.** Preferencias alimentarias de *Triatoma dimidiata* (Hemiptera: Reduviidae) procedente de la meseta central de Costa Rica a finales del siglo XX. *Parasitol Día.* 2001;25:3-4. <https://doi.org/10.4067/S0716-07202001000300002>
20. **Schweigmann NJ, Alberti A, Pietrokovsky S, Conti O, Riarte A, Montoya S, et al.** A new host of *Trypanosoma cruzi* from Jujuy, Argentina: *Octodontomys gliroides* (Gervais & D'Orbigny, 1844) (Rodentia, Octodontidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1992;87:217-20. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761992000200008>
21. **Institute for Laboratory Animal Research.** Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth edition. Washington, D.C: The National Academies Press; 2011. p. 248.
22. **Dadé M, Daniele M, Silvestrini M, Marín G, Mestorino N.** Ivermectin efficacy against *T. infestans in vivo* using hen model. *J Pharm Pharmacol.* 2014;2:353-8.
23. **Rubio C, Moncada LI, Rojas MA, García A.** Comportamiento de *Rhodnius robustus* Larousse, 1927 (Hemiptera, Reduviidae) durante su alimentación en condiciones de laboratorio. *Biomédica.* 2013;33:205-13. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.743>
24. **Zeng Z, Andrew NW, Woda JM, Halley BA, Crouch LS, Wang RW.** Role of cytochrome P450 isoforms in the metabolism of abamectin and ivermectin in rats. *J Agr Food Chem.* 1996;44:3374-8. <https://doi.org/10.1021/jf960222>
25. **Zeng Z, Andrew NW, Green-Erwin ML, Halley BA.** Fate of 40-epi-amino-40-deoxyivermectin B1. *Drug Metab Disp.* 1996;24:572-8.
26. **Zeng Z, Andrew NW.** Characterization of eprinomectin N-deacetylase in rats. *Drug Metab Dispos.* 1999;27:269-73.

ARTÍCULO ORIGINAL

***Pediculus capitis* en niños de escuelas de la zona urbana de Nuevo León, México: análisis de factores asociados**

Zinnia J. Molina-Garza, Lucio Galaviz-Silva

Departamento de Zoología de Invertebrados, Facultad de Ciencias Biológicas,
Universidad Autónoma de Nuevo León, Nuevo León, México

Introducción. La pediculosis *capitis* es un problema recurrente que afecta anualmente de 6 a 12 millones de niños; no existen datos epidemiológicos en el estado de Nuevo León, y en México son escasos, por lo cual se necesitan estudios fundamentados para diseñar estrategias de control basadas en los factores que predisponen a la infestación por piojos.

Objetivo. Determinar la prevalencia de *Pediculus capitis* en niños de educación primaria para detectar factores de riesgo y conocer las características individuales y las condiciones socioeconómicas asociadas estadísticamente con la infestación.

Materiales y métodos. Se incluyeron 840 escolares de seis municipios, previa firma del consentimiento informado por parte de los padres y de los niños. Los ectoparásitos se recolectaron en cada niño infestado utilizando un peine fino. Los participantes contestaron una encuesta que incluía variables individuales y socioeconómicas, como la edad, el sexo, el grado escolar, las características del cabello, el hacinamiento y la pediculosis en hermanos, entre otras.

Resultados. La prevalencia de pediculosis *capitis* en los niños fue de 28 % (235/840), con una mayor prevalencia en las niñas (33,7 %; 140/417); los niños del quinto grado (10 a 11 años) fueron los más afectados (6,2 %; 52/840). El sexo femenino, el cabello largo y el nivel escolar de los padres se asociaron significativamente con la pediculosis *capitis*.

Conclusiones. Los resultados demostraron que la prevalencia de pediculosis *capitis* en Nuevo León es una de las más altas de México y que es un problema real de salud pública, por lo cual es importante establecer programas de prevención en la escuela y en el hogar para disminuirla o controlarla con la ayuda de las autoridades de salud pública.

Palabras clave: infestaciones por piojos/epidemiología; niño; factores de riesgo; salud pública; México.
doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3311>

***Pediculus capitis* in schoolchildren of the urban area of Nuevo León, México: Analyses of associated factors**

Introduction: Pediculosis capitis is a recurring problem affecting 6 to 12 millions of children annually; there are no epidemiological data on this subject in the state of Nuevo León, and there are few in México. Therefore, new contributions are needed to design control strategies based on factors that may predispose to head lice infestation.

Objective: To determine the prevalence of *Pediculus capitis* in primary school children and to evaluate risk factors and individual or socioeconomic characteristics statistically associated with infestation.

Materials and methods: We included 840 schoolchildren from six municipalities after parents and children signed an informed consent. Ectoparasites were collected from infested children using a fine-toothed comb. Participants were interviewed using a questionnaire on individual and socioeconomic variables including age, gender, education, hair characteristics, overcrowding, and siblings with pediculosis, among others.

Results: The overall prevalence of head lice in schoolchildren was 28% (235/840), the highest prevalence was among girls (33.7%, 140/417), and children from the fifth grade (10-11 years old) were the most affected (6.2%; 52/840). Female gender, long hair and the father's education level were significantly associated with *P. capitis*.

Contribución de los autores:

Zinnia J. Molina Garza: elaboración del protocolo de investigación y organización de la recolección del material entomológico y de las encuestas en cada uno de los distritos escolares

Lucio Galaviz-Silva: análisis de los resultados, evaluación de la información y coordinación del estudio

Los dos autores participaron en la elaboración y la revisión crítica del manuscrito.

Conclusion: Our results showed that the *P. capitis* prevalence in Nuevo León is one of the highest in Mexico, that it constitutes a real public health problem, and that there is need to establish prevention programs at home and school to decrease or to control *P. capitis* with the support of public health authorities.

Key words: Lice infestations/epidemiology; child; risk factors; public health; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3311>

Los piojos de la cabeza humana, *Pediculus capitis* De Geer, 1778, son pequeños ectoparásitos (Phthiraptera; Pediculidae) hematófagos obligados (1). *Pediculus capitis* presenta tres fases de desarrollo en su ciclo biológico: los huevos, conocidos también como liendres, tienen forma oval con un diámetro de 300 a 500 μm , y un período de incubación de 10 días; las ninfas, las cuales maduran a su forma adulta en 19 a 25 días a partir de la oviposición, y los adultos, machos o hembras, son dorso-ventralmente aplanados y alcanzan a medir hasta 1,5 a 3 mm, no tienen alas, son de color blanco grisáceo y, después de alimentarse, son de color rojo oscuro (1,2).

Los pedículos, o piojos, se han adaptado a los seres humanos (estenoxenos y estenótrofos) debido a las necesidades de su ciclo vital, como son las condiciones de humedad, temperatura y hematofagia, por lo cual están estrechamente unidos a sus huéspedes (1,3).

La pediculosis afecta anualmente de 6 a 12 millones de niños (4), y la prevalencia informada llega hasta 61,4 % tanto en países desarrollados como en aquellos en desarrollo (4-6). La percepción tradicional de que la pediculosis *capitis* es una parasitosis asociada exclusivamente a regiones con escolares de educación primaria de bajos recursos ha cambiado, pues hoy se ha diseminado en todo el mundo y no discrimina condición socio-económica alguna (5,7).

La transmisión de los piojos de la cabeza generalmente es por contacto directo de cabeza a cabeza e, indirectamente, por intercambio de fómites como peines, sombreros, ropa o artículos personales (8).

La pediculosis *capitis* puede ser asintomática en algunas personas, o provocar prurito intenso acompañado de excoriaciones o infecciones secundarias bacterianas y reacciones alérgicas (9). Los piojos

también provocan angustia psicológica, la cual llega a afectar la concentración y el rendimiento, y lleva al abandono escolar (9,10).

Los factores que predisponen a la infestación de *P. capitis* son la higiene, en especial del pelo, y algunas de sus características (color, longitud, abundancia y textura), así como la edad y el sexo (11,12).

Aunque no es común, se tienen noticias de que en 1912 hubo en México y en Estados Unidos tres casos de tifus epidémico transmitido por *P. capitis* en pacientes del Hospital General de México y del *Hygienic Laboratory* de Washington (13); en Nuevo León se reportó en el 2008 un caso de infestación grave por *P. capitis* con reacciones febriles y comprobación diagnóstica de tifo epidémico mediante la determinación de anticuerpos IgG e IgM específicos para *Rickettsia typhi* en una paciente de 16 años (14). En Guerrero la prevalencia de pediculosis *capitis* alcanzó 33 % en 1997 (15) y 13,6 % en escolares de Yucatán en el 2011 (16).

La importancia de la pediculosis en la población infantil se ha subestimado, a pesar de que constituye un problema recurrente que se presenta año tras año y que, aunque no hay datos epidemiológicos oficiales, es un problema de salud pública en nuestra región.

En este contexto, el objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de *P. capitis* en niños de edad escolar y determinar los factores de riesgo asociados con características individuales, demográficas y socioeconómicas, con el fin de promover las medidas de control y prevención entre los padres de los niños para mejorar su calidad de vida y evitar problemas secundarios de salud (9,10).

Materiales y métodos

Área de estudio

Se hizo un estudio de corte transversal en el área metropolitana del estado de Nuevo León, ubicado en el noreste de México, el cual tiene una superficie de 64.220 km², es decir, 3,3 % de la superficie total del país. Limita al noreste con Tamaulipas;

Correspondencia:

Lucio Galaviz-Silva, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Unidad B, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, CP 66451, México
Teléfono/fax: (52 81) 8352 4425
lucio.galavizsl@uanl.edu.mx

Recibido: 21/04/16; aceptado: 20/10/16

al sur, con San Luis y Zacatecas; al oeste, con Coahuila, y al norte, con Texas, Estados Unidos. Las coordenadas geográficas de sus extremos son 27° 49'-23° 11' N y 98° 26' a 101° 14' O.

El estado cuenta con 5'119.504 de habitantes, lo cual representa el 4,2 % de la población del país; la mayoría de las personas habita en el área metropolitana (3'244.549), conformada por ocho municipios, de los cuales se analizaron seis (17,18).

Diseño del estudio

El estudio se hizo durante el ciclo escolar de 2013 a 2014 en escuelas públicas pertenecientes a la Secretaría de Educación de Nuevo León. La población estudiantil del estado es de 579.724 alumnos distribuidos en 2.704 escuelas. Específicamente, en el área metropolitana se ubican 1.124, distribuidas así: 185 en Apodaca, 70 en García, 135 en General Mariano Escobedo, 221 en Ciudad Guadalupe, 138 en San Nicolás de los Garza y 375 en Monterrey, con una matrícula total de 240.536 escolares, cifra considerada como el universo de la muestra (17,18).

El método de muestreo probabilístico consistió en un procedimiento aleatorio estratificado para obtener una equiprobabilidad representativa de acuerdo con el número de escuelas por municipio, grado escolar y sexo. De esta forma, se seleccionaron 58 escuelas, es decir, aproximadamente el 5 % de cada municipio.

En cada estrato se hizo el muestreo aleatorio simple (19) con base en los reportes de prevalencia más recientes (entre 13,6 % y 33 %) (15,16). Se analizaron 415 niñas y 425 niños, lo cual cumplía con el número de muestras mínimo requerido (174 a 340) según la ecuación $n=Z^2pq/E^2$, en la cual Z representa la precisión absoluta (1,96), p, la prevalencia reportada (13,6 y 33 %), q corresponde a (1 - p), y E, al error estándar (5 %).

Los criterios de inclusión comprendieron el contar con la autorización previa de los directivos de cada uno de los planteles educativos, la firma del consentimiento informado de parte de los padres o tutores y del estudiante, y la asistencia el día convenido al examen de cuero cabelludo en caso de ser seleccionado en el muestreo aleatorio. Se excluyeron todos aquellos que no cumplieran con alguno de estos criterios.

Antes del muestreo, se impartió una charla informativa a los niños sobre la importancia del estudio y los cuidados de higiene personal para prevenir

o tratar la pediculosis *capitis*; posteriormente, se les entregó una encuesta (3,10,16) para que la contestaran con ayuda de sus padres o tutores, en la cual se solicitaban los datos de edad, sexo, grado escolar, pediculosis *capitis* previa o en hermanos, educación de los padres (básica hasta preparatoria y superior, licenciatura o posgrado), material de construcción de la vivienda (como indicativo de la condición sanitaria o estrato social), hacinamiento (más de cinco personas por habitación), almohadas o peines compartidos, y medidas de prevención o control familiar, como el uso de champú, tratamiento por vía oral contra la pediculosis (y cuál) o de peine fino para quitar las liendres.

Con relación al cabello, se consideró el tipo (lacio, ondulado o rizado), el color y la longitud. La clasificación del cabello se basó en la metodología propuesta por Gazmuri, *et al.* (8).

El examen ectoparasitológico de cada uno de los 840 escolares se llevó a cabo mediante la inspección visual y la recolección de los ectoparásitos en sus diferentes estadios de desarrollo (huevos o liendres, ninfas, adultos), utilizando un peine fino sobre el cuero cabelludo de toda la cabeza, en especial, la región occipital y la témporo-parietal. Los especímenes se depositaron en viales con etanol al 70 %. La identificación taxonómica se corroboró en un microscopio estereoscópico con las claves de Kim y Ludwig (20), registrando cada fase de desarrollo por persona (1,2).

Análisis estadístico

La significación de la asociación estadística entre la pediculosis por *P. capitis* y las variables dependientes (sexo, edad, grado escolar, características del cabello, hacinamiento, educación de los padres, calidad de construcción de la vivienda y servicios municipales como electricidad, agua y alcantarillado), se determinó mediante el análisis de ji al cuadrado, y el nivel de significación se calculó con un intervalo de confianza (IC) de 95 %.

El poder de las asociaciones estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre los factores y la pediculosis *capitis* se determinó mediante el cálculo de la razón de probabilidades o razón de momios (*odds ratio*, OR) (21) con el programa SPSS™, versión 21.

Consideraciones éticas

Esta investigación se realizó con el consentimiento informado de los padres y de los escolares. El cabello se revisó bajo la supervisión de los maestros y un equipo de psicólogos y pediatras colaboró con

indicaciones para mejorar la higiene en el entorno familiar. Se les brindó ayuda médica gratuita a los padres para el tratamiento de sus hijos. Se siguieron las normas de bioética establecidas en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (versión adoptada en la LII Asamblea General de Edimburgo, 2000) (22) y el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Resultados

Del total de 904 escolares de 6 a 12 años, se incluyeron 840 participantes y se excluyeron 64 por no traer el consentimiento autorizado por sus

padres o tutores. El 49,4 % (415) de los participantes correspondió a niñas. La prevalencia global de pediculosis *capitis* fue de 28 % en las escuelas primarias, el quinto grado presentó la mayor prevalencia del total de la población analizada (6,2 %; 52/840) y por grado escolar (30,2 %; 52/172).

Las niñas fueron las más afectadas, con 140 casos de 415 (33,7 %), una relación estadísticamente significativa entre pediculosis y sexo femenino ($\chi^2=13,50$, grado de libertad, $gl=1$; $OR=1,83$; $p<0,001$), frente a 95 de 425 (22,4 %) en los niños (cuadro 1), es decir que representó un factor de riesgo (cuadro 2). En los niños de primer grado se

Cuadro 1. Prevalencia de *Pediculus capitis* en niños de educación primaria del estado de Nuevo León, México

Grado	Prevalencia por sexo				Prevalencia por grado +/n (%)	Prevalencia total (+/N*100)
	Femenino		Masculino			
	+/n	%	+/n	%		
Primero	30/90	33,3	9/100	9	39/190 (20,5)	4,6
Segundo	20/56	35,7	13/59	22	33/115 (28,7)	3,9
Tercero	20/55	36,4	18/48	37,5	38/103 (36,9)	4,5
Cuarto	19/68	27,9	20/61	32,8	39/129 (30,2)	4,6
Quinto	30/74	40,5	22/98	22,4	52/172 (30,2)	6,2
Sexto	21/72	29,1	13/59	22	34/131 (26)	4
Total	140/415	33,7	95/425	22,3	235/840 (28)	28

n=muestra por grupo; N=total de la población (840)

Cuadro 2. Posibles factores de riesgo para pediculosis *capitis* en escolares de Nuevo León, México

Variable	Infestados		No infestados		Total		Odds ratio (IC) ^a	p
	n	%	n	%	N	%		
Sexo								
Femenino	140	33,7	275	66,3	415	49,4	1,83	<0,001*
Masculino	95	22,4	330	77,6	425	50,6	(1,35-2,48)	
Edad (años)								
6-8	110	27	298	73	408	48,6	1,10	0,564
9-12	125	28,9	307	71,1	432	51,4	(0,81-1,5)	
Características del cabello								
Liso	173	29,4	415	70,6	588	70	1,27	0,197
Rizado	62	24,6	190	75,4	252	30	(0,91-1,89)	
Longitud								
Corto	121	24,3	376	75,7	497	59,2	1,54	0,005*
Largo	114	33,2	229	66,8	343	40,8	(1,14-2,09)	
Color								
Claro	36	28,1	92	71,9	128	15,2	1,01	0,824
Oscuro	199	27,9	513	72,1	712	84,8	(0,66-1,53)	
Educación de los padres								
Padre								
Básica	95	53,3	178	65,2	273	34,8	1,59	0,002*
Superior	140	24,8	427	32,8	567	24,7	(1,11-2,14)	
Madre								
Básica	127	39,2	324	71,8	451	28,2	1,04	0,427
Superior	108	38,4	281	72,2	389	27,8	(0,77-1,39)	
Hacinamiento								
Sí	33	38,8	85	72	118	28	1,01	0,119
No	202	38,8	520	72	722	28	(0,65-1,54)	

** Diferencias estadísticas significativas; ^a Intervalo de confianza del 95 %

registró la prevalencia más baja, con nueve casos, en tanto que entre las niñas del mismo grado se registraron 30 casos.

Por municipio, la mayor infestación se encontró en la población escolar de General Mariano Escobedo (27,2 %; 64/235), seguida por los escolares de San Nicolás de los Garza (25,1 %; 59/235). La prevalencia en escolares de Apodaca, Monterrey y Ciudad Guadalupe osciló entre 10,6 y 14,4 %. La menor prevalencia se registró en los escolares del municipio de García (8,9 %), aunque no hubo diferencia significativa en la infestación entre los municipios ($\chi^2=5,3$; $gl=3$; $p=0,151$).

Los materiales de construcción de todas las viviendas resultaron ser de buena calidad sin excepción (paredes y techos de concreto y pisos de mosaico cerámico), además, por ser viviendas de interés social, estaban provistas de todos los servicios (electricidad, agua potable y alcantarillado), al igual que los planteles educativos, por lo cual no se pudieron hacer comparaciones entre estas variables.

Con respecto al tipo de cabello, la infestación fue mayor en los escolares con cabello liso, con 29,4 % (173/588), y en los escolares con cabello rizado, con 24,6 % (62/252), pero no hubo diferencia significativa entre esta variable y la pediculosis *capitis* ($\chi^2=1,66$; $gl=1$; $OR=1,27$; $p=0,197$) (cuadro 2).

En cuanto a la longitud del cabello, hubo mayor prevalencia en los estudiantes con cabello largo 114/343 (33,2 %) que en aquellos con cabello corto 121/497 (24,3 %), registrándose una diferencia significativa ($\chi^2=17,9$; $gl=1$; $OR=1,54$; $p=0,005$), lo cual reflejó su importancia como factor de riesgo (cuadro 2). La prevalencia de la pediculosis fue similar en los escolares con cabello claro (36/128; 28,1 %) y con cabello oscuro (199/712; 27,9 %), y no hubo dependencia significativa ($\chi^2=0,05$; $gl=1$; $p=0,824$).

En relación con el nivel educativo de los 840 progenitores y su asociación con la infestación, 95 de 273 (34,8 %) padres tenían educación básica y 140 de 567 (24,7 %), educación superior, y esta se asoció significativamente con los alumnos infestados ($\chi^2=9,30$; $gl=1$; $p=0,002$; $OR=1,59$). En cuanto a las madres, 127 de 451 (28,2 %) tenían educación básica y, 108 de 389 (27,8 %), educación superior, pero no hubo dependencia significativa con la pediculosis ($\chi^2=0,07$; $gl=1$; $p=0,427$) (cuadro 2).

Del total de niños infestados, 33 de 118 (28 %) vivían en hacinamiento y 202 de 722 (28 %) no, sin que se registrara una asociación significativa

($\chi^2=2,43$; $gl=1$; $p=0,119$) (cuadro 2). En ningún caso se reportaron hermanos infestados o almohadas o peines compartidos, por lo cual estas variables se agruparon en una sola categoría y no se pudieron hacer comparaciones.

En cuanto al estadio de los piojos, en 23 de 140 (16,4 %) niñas se encontraron solamente piojos adultos, en 52 (37,1%), liendres, y en 65 (46,4%) se encontraron piojos en ambos estadios. En 29 de 95 (30,5 %) niños se encontraron piojos adultos, en 31 (32,6 %), liendres, y en 35 (36,8 %), piojos y liendres.

Según las encuestas, la mayoría de los niños afectados utilizaba peines finos (56,6 %) para retirar los piojos, seguidos de champú Pioji®, el cual contiene eucalipto, aguacate, ricino, neem y zacate limón (SanaMex, LLC, Salem, NC) (20 %), tabletas de ivermectina (10,6 %), aerosol Pioji® (6,8 %) y, por último, remedios caseros (5,9 %).

Discusión

Según los pocos reportes existentes, la prevalencia de pediculosis *capitis* en el estado de Nuevo León es una de las más elevadas de México (15). La mayor prevalencia se encontró entre las niñas de los municipios del área metropolitana, altamente urbanizada y con todos los servicios públicos, perfil epidemiológico que comparten con regiones de América, Europa y Asia (5,6-8,10). Dicha situación se agrava porque cada alumno infestado puede transmitir los piojos a tres o cuatro escolares más (8,23). El comportamiento de las niñas ayuda a una mayor transmisión (24), pues el contacto entre ellas tiende a ser más prolongado y, asimismo, se toman más fotos (*selfies*) con los teléfonos móviles, situación en la que juntan sus cabezas (Molina Garza, comunicación personal), y tienden a compartir diferentes tipos de deportes o actividades, lo cual aumenta el riesgo de infestación (25).

En algunos países de América Latina, el porcentaje de infestación es mayor que en Nuevo León, por ejemplo, en Honduras (75 %) y en Argentina (61,4 %) (7,26). En Perú, se ha registrado una prevalencia de 34,3 % de pediculosis *capitis* acompañada de dermatitis grave y lesiones en los niños (23). Con respecto a la edad, en Brasil también se ha reportado una mayor prevalencia en escolares entre los 10 y los 11 años (quinto grado), probablemente debido a los juegos propios de la niñez (27). En Venezuela, el porcentaje registrado es casi igual al de Nuevo León (28,8 %) y, al igual que aquí, significativamente mayor en las

niñas, sin diferencias entre los grupos por edad, raza y color o tipo de cabello (8). En Brasil, se ha reportado una prevalencia de 27,5 % (27), en tanto que en Estados Unidos se ha estimado que hasta 12 millones de niños entre los 3 y 12 años de edad se infestan anualmente (28), lo cual indica que la pediculosis constituye un problema tanto en países pobres como ricos.

La pediculosis genera pérdidas directas de millones de dólares anuales en tratamientos y pérdidas indirectas por el ausentismo escolar de los niños infestados y el laboral de los padres, pues las escuelas no los admiten en este estado y, por lo tanto, los padres se ven obligados a faltar a su trabajo (28).

Aunque no es una enfermedad de notificación obligatoria, la pediculosis *capitis* es de importancia en salud pública cuando se presentan las condiciones epidemiológicas óptimas para la transmisión de enfermedades, según se consigna en las normas oficiales mexicanas (29) y en reportes recientes de Estados Unidos (30); por ello, es importante prevenir a la población infantil y a los padres de familia, pues en Nuevo León ya se ha reportado infestación grave de *P. capitis* (14). Asimismo, es necesario promover una mayor concientización en los maestros, ya que la escuela es el lugar donde se adquieren los piojos, no el hogar (31).

La prevalencia de pediculosis *capitis* en este estudio fue mayor en los escolares con cabello largo (33,2 %), condición que solo se ve en las niñas porque el reglamento escolar lo prohíbe en los niños. Este resultado coincide con los reportes de pediculosis en Argentina, Venezuela y Colombia (3,26,32,33). En Morelos, México, en cambio, se ha documentado una mayor frecuencia de infestación entre escolares con cabello corto (34). En este estudio, la infestación se asoció con el nivel de estudios del padre, lo cual se explica porque son los padres los encargados del cuidado de los niños debido al desempleo, o porque sus horarios laborales se los facilita. Esta asociación con el nivel educativo del padre se ha registrado en pocas regiones como, por ejemplo, en Azadshahr, Irán (35).

En el presente estudio, la mayor frecuencia de casos se registró en estudiantes con cabello liso (29,4 %), comparada con la de aquellos con cabello rizado (24,6 %). Sin embargo, la relación con el color del cabello no fue significativa, aunque, en general, la pediculosis se ha reportado en el cabello oscuro liso, pues es más propenso a la infestación

por piojos que el cabello claro rizado. Esta última característica se ha convertido en un factor de 'protección' en Bolívar, Venezuela (36), pero no así en Amazonas, Brasil, donde se ha reportado que la infestación con piojos predomina en el cabello rizado (27).

En Yucatán, México, la condición socioeconómica se ha reportado como un factor de riesgo (16), pero en el presente estudio esto no se pudo comprobar, ya que las viviendas se ubicaban en urbanizaciones (fraccionamientos) comerciales con el mismo tipo de material de construcción y todos los servicios. Las escuelas visitadas también se localizaban en municipios urbanizados que contaban con suministro de agua, energía eléctrica y alcantarillado, no en zonas marginadas o rurales.

No es fácil comparar la prevalencia de pediculosis entre los diferentes países e, incluso, dentro del mismo país, debido a las diferencias socioeconómicas y culturales entre las poblaciones (8). Aunque el hacinamiento es uno de los factores de riesgo reportado en países como Honduras y Chile (7,8), en este estudio no lo fue, tal vez debido al escaso número de hijos, dos o tres, de la gran mayoría de las familias. Además, no existen registros oficiales de las secretarías de salud sobre la prevalencia de la pediculosis en el país que permitieran comparar los resultados de este estudio, lo cual se debería a que se trata de un problema cotidiano que suele pasar desapercibido. Según los estudios científicos, en Morelos se ha reportado una prevalencia de 17,6 % (34), en tanto que en los escolares de Yucatán fue menor (13,6 %) (16), y en Guerrero osciló entre el 18 y el 33 % (15). De ahí la necesidad de atender este problema de salud pública y de fortalecer la educación de los padres, ya que es un factor primordial (24) para la prevención de la dermatosis y de enfermedades infecciosas o parasitarias (9,10,15,24,29,36).

Aunque hay una gran variedad de productos para el tratamiento de la pediculosis (soluciones, pastillas, cremas, champús, aerosoles, etc.), se ha reportado resistencia de los piojos a los diversos compuestos químicos usados en su tratamiento (37). En este contexto, es necesario implementar programas de educación en salud dirigidos a los padres y maestros, con el fin de disminuir la morbilidad causada por estos ectoparásitos y lograr una mejor calidad de vida, y ampliar los estudios, ya que se trata de un padecimiento común, pero poco estudiado en nuestro país, y no se cuenta con registros de morbilidad ni mortalidad (33,38).

En conclusión, se ha reportado que la pediculosis *capitis* ocurre por igual en los diferentes estratos sociales, edades y razas (39). En este estudio, se comprobó que el cabello largo, el sexo femenino y el nivel de estudios del padre presentan una asociación significativa con la pediculosis *capitis*, y no así las demás características individuales o de la vivienda, que, al parecer, son factores de menor importancia, aunque no deben desatenderse para prevenir las infestaciones y sus efectos secundarios, como se ha demostrado en escolares en todo el mundo (13,23,29).

Conflicto de intereses

Los autores del presente manuscrito declaran no tener conflicto de intereses.

Financiación

Este proyecto fue financiado por el Programa de Red Zoonosis Parasitaria 103.5/15/11043 del Programa para el Desarrollo Profesional Docente (SEP-PRODEP) de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Referencias

1. **Al-Marjan, KS, Koyee, QM, Abdullah SM.** *In vitro* study on the morphological development of eggs (nits) and other stages of head lice *Pediculus humanus capitis* De Geer, 1767. *J Pure Appl Sci.* 2015;27:35-40.
2. **Leung AKC, Justine HS, Pinto-Rojas A.** Pediculosis *capitis*. *J Pediatr Health Care.* 2005;19:369-73. <https://doi.org/10.1016/j.pedhc.2005.07.002>
3. **Devera R.** Epidemiología de la pediculosis *capitis* en América Latina. *Saber.* 2012;24:25-36.
4. **Kassiri H, Feizhaddad MH, Abdehpanah M.** Morbidity, surveillance and epidemiology of scorpion sting, cutaneous leishmaniasis and pediculosis *capitis* in Bandar-mahshahr County, Southwestern Iran. *J Acute Dis.* 2014;3:194-200. [https://doi.org/10.1016/S2221-6189\(14\)60043-3](https://doi.org/10.1016/S2221-6189(14)60043-3)
5. **Falagas ME, Matthaïou DK, Rafailidis PI, Panos G, Pappas G.** Worldwide prevalence of head lice. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1493-4. <https://doi.org/10.3201/eid1409.080368>
6. **Vahabi A, Shemshad K, Sayyadi M, Biglarian A, Vahabi B, Sayyad S, et al.** Prevalence and risk factors of *Pediculus (humanus) capitis* (Anoplura: Pediculidae), in primary schools in Sanandaj City, Kurdistan Province, Iran. *Trop Biomed.* 2012;29:207-11.
7. **Figuroa J, Moncada V, Reyes O, Peña C, Kaminsky R.** Pediculosis *capitis*: un problema de salud desatendido en Honduras. *Rev Med Hondur.* 2012;80:102-6.
8. **Gazmuri P, Arriaza B, Castro F, González P, Maripa K, Saavedra I.** Estudio epidemiológico de la pediculosis en escuelas básicas del extremo norte de Chile. *Rev Chil Pediatr.* 2014;85:312-8. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062014000300007>
9. **Hazrati-Tappeh K, Chavshin AR, Mohammadzadeh-Hajipirloo H, Khashaveh S, Hanifian H, Bozorgomid A, et al.** Pediculosis *capitis* among primary school children and related risk factors in Urmia, the Main City of West Azarbaijan, Iran. *J Arthropod-Borne Dis.* 2012;1:79-85.
10. **Doroodgar A, Sadr F, Doroodgar M, Doroodgar M, Sayyah M.** Examining the prevalence rate of *Pediculus capitis* infestation according to sex and social factors in primary school children. *Asian Pac J Trop Dis.* 2014;4:25-9. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60308-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60308-X)
11. **Chosidow O.** Scabies and pediculosis. *Lancet.* 2000;355:819-26. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)09458-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)09458-1)
12. **Bibi F, Tasawar Z, Ali Z.** The prevalence of human pediculosis In Kot Addu District Muzzaffargarh (Punjab) Pakistan. *J Anim Plant Sci.* 2011;21:364-7.
13. **Goldberg J, Anderson JF.** The transmission of typhus fever with especial reference to transmission by the head louse (*Pediculus capitis*). *Public Health Reports.* 1912;27:297-307.
14. **Cortés M, Gámez R.** Tifus epidémico en Nuevo León: presentación del primer caso clínico pediátrico. *Rev Enf Inf Ped.* 2008;86:56-9.
15. **Paredes S, Estrada R, Alarcón H, Chávez G, Romero M, Hay R, et al.** Can school teachers improve the management and prevention of skin disease? A pilot study based on head louse infestations in Guerrero, México. *Int J Dermatol.* 1997;36:826-30. <https://doi.org/10.1046/j.1365-4362.1997.00282.x>
16. **Manrique P, Pavía N, Rodríguez J, Herrera R, Gómez P, Pilger D.** Prevalence of *Pediculosis capitis* in children from a rural school in Yucatán, México. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2011;53:325-7. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652011000600005>
17. **Secretaría de Educación del estado de Nuevo León.** Directorio de escuelas públicas del estado de Nuevo León. Fecha de consulta: 8 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://www.nl.gob.mx/servicios/directorio-de-escuelas-publicas>
18. **Instituto Nacional de Estadística y Geografía.** Conociendo Nuevo León. 5ª edición. México, 2016. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2016. Disponible en: http://internet.contenidos.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/estudios/conociendo/702825213114.pdf
19. **Khalifa KA, Al-Hadithi TS, Al-Lami FH, Al-Diwan JK.** Prevalence of skin disorders among primary-school children in Baghdad governorate, Iraq. *East Mediterr Health J.* 2010;16:209-13.
20. **Kim KC, Ludwig HW.** The family classification of the Anoplura. *Systematic Entomology.* 1978;3:249-84. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1978.tb00120.x>
21. **Tapia JA, Nieto FJ.** Razón de posibilidades: una propuesta de traducción de la expresión *odds ratio*. *Salud Pública Mex.* 1993;35:419-24.
22. **Council for International Organizations of Medical Sciences.** International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects. Geneva, 2002. Fecha de consulta: 21 de octubre de 2014. Disponible en: http://www.cioms.ch/publications/layout_guide2002.pdf

23. **Tincopa OW, Vera J.** Pediculosis capitis factores epidemiológicos, lesiones cutáneas y dermatosis coexistentes en niños de Trujillo, Perú. *Arch Argent Dermatol.* 2006;56:219-26.
24. **Shayeghi M, Paksa A, Salim Y, Sanei A, Ahmadi A, Eshaghi M, et al.** Epidemiology of head lice infestation in primary school pupils, in Khajeh City, East Azerbaijan Province, Iran. *Iran J Arthropod Borne Dis.* 2010;4:42-6.
25. **Davarpanah MA, Mehrabani D, Khademolhosseini F, Mokhtari A, Bakhtiari H, Neirami R.** The prevalence of *Pediculus capitis* among school children in Fars Province, Southern Iran. *Iran J Parasitol.* 2009;4:48-53.
26. **Catalá S, Junco L, Vaporaky K.** *Pediculus capitis* infestation according to sex and social factors in Argentina. *Rev Saúde Pública.* 2005;39:438-43. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102005000300015>
27. **Borges R, Mendes J, Brandão S, Lima A.** Head lice infestation in children in day-care centers and schools of Manaus, Amazon, Brazil. *Rev Patol Trop.* 2011;40:263-70.
28. **Hansen RC, O'Haver J.** Economic considerations associated with *Pediculus humanus capitis* infestation. *Clin Pediatr.* 2004; 43:523-527. <https://doi.org/10.1177/000992280404300603>
29. **Gobierno Federal de México.** Norma Oficial Mexicana NOM-032-SSA2-2010, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las enfermedades transmitidas por vector. México, D.F., a 18 de marzo de 2011. Fecha de consulta: 21 de octubre de 2014. Disponible en: http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/descargas/pdf/nom_032_ssa2_2010_norma_petv.pdf
30. **Bonilla DL, Kabeya H, Henn J, Kramer V, Kosoy MY.** *Bartonella quintana* in body and head lice collected from homeless persons, San Francisco, California, USA. *Emerg Inf Dis.* 2009;5:912-5. <https://doi.org/10.3201/eid1506.090054>
31. **Mumcuoglu K, Miller J, Gofin R, Adler B, Ben-Ishai F, Almog R, et al.** Epidemiological studies on head lice infestation in Israel. I. Parasitological examination of children. *Int J Dermatol.* 1990;29:502-6. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4362.1990.tb04845.x>
32. **Devera R, Blanco Y, Requena I, Amaya I, Nastasi-Miranda J, Aray R, et al.** Pediculosis capitis en habitantes de una comunidad indígena del estado Bolívar, Venezuela. *Rev Vzlna Sal Pub.* 2015;32:9-16.
33. **Ríos SM, Fernández JA, Rivas F, Sáenz ML, Moncada LI.** Prevalencia y factores asociados a la pediculosis en niños de un jardín infantil de Bogotá. *Biomédica.* 2008;28:245-51. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i2.95>
34. **Ortega-Marín L, Márquez-Serrano M, Lara-López LM, Moncada LI, Idrovo AJ.** Effect of households' social networks on lice infestation among vulnerable Mexican children: A qualitative comparative analysis. *J Trop Pediatr.* 2013;59:413-8. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmt041>
35. **Motevalli F, Golchin M, Yousefi M, Hosseini M, Parsi B.** Prevalence of pediculosis and associated risk factors in the girls primary school in Azadshahr City, Golestan Province, 2012-2013. *Iran J Health Sci.* 2014;2:63-8.
36. **Ontón JJ.** Pediculosis y tungiosis en una población indígena del estado Bolívar. Tesis. Universidad de Oriente, 2009. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2016. Disponible en: <http://ri.bib.udo.edu.ve/bitstream/123456789/2191/1/08%20Tesis.WR9%20J45.pdf>.
37. **Di Campli E, Di Bartolomeo S, DelliPizziP, Di Giulio M, Grande R, Nostro A, et al.** Activity of tea tree oil and nerolidol alone or in combination against *Pediculus capitis* (head lice) and its eggs. *Parasitol Res.* 2012;111:1985-92. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3045-0>
38. **Zúñiga-Carrasco IR, Caro-Lozano J.** Pediculosis, una ectoparasitosis emergente en México. *Rev Enf Inf Ped.* 2010;24:56-63.
39. **Birkemoe T, Heggen-Lindstedt H, Ottesen P, Soleng A, Næss Ø, Rukke BJ.** Head lice predictors and infestation dynamics among primary school children in Norway. *J FamPract.* 2016;33:23-9. <https://doi.org/10.1093/fampra/cmv081>

ARTÍCULO ORIGINAL

Condición socioeconómica, patrones de alimentación y exposición a metales pesados en mujeres en edad fértil de Cali, Colombia

Roger Figueroa¹, Diana Caicedo¹, Ghislaine Echeverry², Miguel Peña³, Fabián Méndez¹

¹ Grupo de Epidemiología y Salud Poblacional, Escuela de Salud Pública, Universidad del Valle, Cali, Colombia

² Grupo de Investigación en Contaminación por Metales y Pesticidas, Instituto CINARA, Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Grupo de Investigación en Saneamiento Ambiental, Instituto CINARA, Universidad del Valle, Cali, Colombia

Introducción. La contaminación del agua y de los alimentos constituye un riesgo creciente para la salud a nivel mundial. Dicho riesgo varía según las concentraciones y las dosis de los contaminantes y el tiempo de exposición, especialmente por los posibles efectos a largo plazo debidos a la exposición crónica a bajas concentraciones de metales pesados como el plomo, el cadmio y el mercurio.

Objetivo. Explorar la relación entre la condición socioeconómica, los patrones de alimentación y la exposición a metales pesados en una población de mujeres de Cali.

Materiales y métodos. Participaron 233 mujeres en edad fértil, no embarazadas, residentes en el distrito de Aguablanca, Cali, Colombia. Se recolectó información sociodemográfica, así como sobre las condiciones de la vivienda, la exposición a metales pesados, la frecuencia de consumo de alimentos y las mediciones antropométricas. Para determinar las concentraciones de plomo, cadmio y mercurio, se tomaron muestras de lechuga, repollo y peces (tilapia y 'manteco'). Se hicieron análisis descriptivos y de correspondencias múltiples para establecer los patrones de consumo.

Resultados. El pescado se incluía en las tres comidas del día, especialmente en el almuerzo; se encontró cadmio por debajo de los niveles permitidos en tres muestras de 'manteco'. El 11,1 % de quienes consumían pescado una vez o más por semana lo había comprado en un expendio en el cual las muestras fueron positivas para cadmio. Mediante el análisis de correspondencias múltiples, se determinó la presencia de una relación entre el ser de raza negra y el consumo de 'manteco' y tilapia una vez o más por semana.

Conclusiones. La población de estudio tuvo acceso a alimentos contaminados con metales pesados. Esto, sumado a las características metabólicas de las mujeres y a sus condiciones socioeconómicas, incrementó su exposición y vulnerabilidad frente a los efectos de la contaminación.

Palabras clave: metales pesados; conducta alimentaria; clase social; exposición a riesgos ambientales; bioacumulación; origen étnico y salud; peces.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3286>

Socioeconomic status, eating patterns, and heavy metals exposure in women of childbearing age in Cali, Colombia

Introduction: Global increase in food and water pollution is associated with health risk, which depends on the concentration, the dose, and the exposure time. This has raised concerns about the possible long-term effects of chronic exposure to low concentrations of heavy metals, such as lead, cadmium and mercury.

Objective: To explore the relationship among socioeconomic status, eating patterns, and exposure to heavy metals among a population of women in Cali, Colombia.

Materials and methods: A total of 233 non-pregnant women of childbearing age living in the Aguablanca district of Cali, Colombia, were enrolled in the study. We gathered sociodemographic data, as well as information on housing conditions, exposure to heavy metals, frequency of food intake, and anthropometric measurements. Samples of lettuce, cabbage and fish (tilapia and butterfish) were collected to determine lead, cadmium, and mercury concentrations. Descriptive and multiple correspondence analyses were performed to establish eating patterns.

Contribución de los autores:

Roger Figueroa: plan de análisis de la investigación, análisis estadístico, discusión de resultados y escritura del manuscrito

Diana Caicedo: tutorías y aportes científicos a la discusión, apoyo en el diseño y desarrollo metodológico de la investigación

Ghislaine Echeverry: vigilancia ambiental y coordinación del análisis de las muestras

Miguel Peña: concepción de la idea de investigación, revisión del manuscrito, tutorías y contribución a la discusión

Fabián Méndez: revisión del manuscrito y contribución a la discusión

Results: Fish was served in each of the three main meals of the day, with a bigger serving at lunch time. Cadmium was found in three samples of butterfish at levels below the acceptable. Of those who ate fish more than once a week, 11.1% bought the product at a cadmium-positive store. The multiple correspondence analysis showed a positive relationship between being black and consuming butterfish and tilapia more than once per week.

Conclusions: The findings showed that the studied population had access to heavy metal-contaminated food, which combined with the women's cultural eating patterns, socioeconomic status, and metabolic characteristics led to a greater vulnerability to the effects of heavy metals exposure.

Key words: Heavy, metals; feeding behavior; social class; environmental exposure; bioaccumulation; ethnicity and health; fishes.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3286>

Cerca de 25 % de la población mundial vive en áreas donde la contaminación ambiental afecta a los ecosistemas, entre ellos, los cuerpos de agua y los suelos, en tal grado que puede poner en riesgo la salud humana (1). Los efectos en la salud, documentados por agencias mundiales como la *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ASTDR) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), incluyen principalmente los daños en los sistemas neurológico, cognitivo o reproductivo y, además, diferentes tipos de cáncer (2).

Los riesgos para la salud humana por exposición a contaminantes como los metales pesados (cadmio, plomo y mercurio, entre otros), y los nitratos y los pesticidas, dependen de la concentración, la dosis que ingresa al organismo y el tiempo de exposición. La mayor preocupación actual son los posibles efectos a largo plazo de la exposición crónica a estos contaminantes presentes en bajas concentraciones en el agua potable (3,4) y en los alimentos (5).

La ingestión de alimentos es una de las principales vías de exposición a metales pesados. Por ejemplo, la exposición al cadmio en personas no fumadoras se da a través del consumo de agua (3,4), de frutas, vegetales y peces (5). Una característica especial de la exposición a metales pesados por medio de los alimentos es la capacidad que tienen de acumularse en los tejidos. Especialmente los organismos acuáticos acumulan cadmio en el tejido graso y en órganos como el hígado, lo que implica que la concentración se incrementa a medida que se avanza en la red trófica (6-9).

La exposición a contaminantes ambientales se ve agravada por las desigualdades socioeconómicas y la distribución inequitativa de los riesgos ambientales producto de procesos de urbanización con mezcla de zonas residenciales, comerciales e industriales. También, el hecho de pertenecer a grupos vulnerables como niños, ancianos y mujeres embarazadas, puede agravar la exposición (10), pues existen diferencias en la cinética de absorción y la propensión por razones de sexo y edad. Las mujeres en edad fértil (3,5,11) acumulan más estos contaminantes debido a los cambios hormonales propios de la menarquia y la gestación, así como por presentar una mayor cantidad de grasa relativa.

En investigaciones anteriores en Cali, se reportó la contaminación de fuentes hídricas y de alimentos, y se evidenció la exposición de grupos vulnerables de la población, como el de las mujeres gestantes, a metales pesados en niveles que podrían haber llegado a comprometer su salud (12-15). Sin embargo, la relación entre estos componentes no es clara, por lo cual este estudio tuvo el propósito de aproximarse a la estimación de la relación entre la exposición a metales pesados, los patrones de alimentación y la condición socioeconómica en una población de mujeres en edad fértil residentes en un sector de bajo nivel socioeconómico de Cali, Colombia.

Materiales y métodos

Este estudio hizo parte de una investigación transversal mayor realizada entre abril de 2012 y junio de 2013 en mujeres en edad fértil de Cali, Colombia.

Área de estudio

El área de estudio fue el distrito de Aguablanca, al suroriente de Cali, el cual está constituido por las comunas 13, 14, 15 y 21, y tiene 602.401 habitantes, es decir, el 27 % de la población urbana, la mayoría de bajo nivel socioeconómico. Este sector limita al oriente con el río Cauca, contaminado por

Correspondencia:

Roger Figuerola, Grupo de Epidemiología y Salud Poblacional, Escuela de Salud Pública, Universidad del Valle, Calle 4B N° 36-140, edificio 118, barrio San Fernando, Cali, Valle del Cauca, Colombia

Teléfono (572) 554 2476; fax: (572) 557 0425
rafiguerola@grupogesp.org

Recibido: 15/03/16; aceptado: 27/10/16

muchos años con aguas residuales municipales e industriales y escorrentía agrícola, y al sur, con una zona de expansión donde está ubicado el antiguo vertedero de residuos sólidos municipales (basurero de Navarro), sitios estos con un alto potencial contaminante de diferentes ecosistemas.

Población y muestra

Se incluyeron mujeres en edad fértil de 18 a 49 años que no estuvieran embarazadas, residieran en el área de estudio y aceptaran participar voluntariamente.

La muestra se seleccionó por conveniencia dado que ya se tenía información sobre la ingestión de alimentos y el tiempo de exposición (residencia en la zona) y, en especial, porque la mayoría de las mujeres había sido parte de una cohorte de mujeres gestantes seleccionada anteriormente en el área de estudio. Estas mujeres fueron contactadas mediante llamadas telefónicas y quienes aceptaron participar firmaron un consentimiento informado. El resto de las mujeres, con características similares a la población de la cohorte, fueron captadas en una institución de salud ubicada en el área de estudio (comuna 14), la cual atiende a población subsidiada y pobre sin afiliación al sistema general de salud.

El cálculo del tamaño de la muestra se hizo con corrección por poblaciones finitas, en este caso, la del área de estudio (602.401 habitantes), para estimar una probabilidad de 25 % de presentar algún contaminante (según estudios anteriores, entre 7,1 y 42,5 % en agua y entre 5,2 y 13,8 % en alimentos), un nivel de confianza de 95 % y un error alfa de 5 %. Con estos valores y un porcentaje de no participación de 25 %, el tamaño de la muestra final fue de 280 mujeres.

Recolección de la información

Se empleó un cuestionario para la recolección de la información sobre las características demográficas, y las condiciones socioeconómicas y de la vivienda. Para evaluar el consumo de alimentos con capacidad de "bioacumulación" (hortalizas, verduras, leguminosas y cárnicos), se utilizó un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo de alimentos y una encuesta de recordación del consumo en las 24 horas previas provisto de imágenes para facilitar la comprensión de las preguntas. Además, se tomaron las medidas de talla y peso. Los cuestionarios se diseñaron con base en una revisión de los conocimientos actuales y en los resultados de estudios previos de los grupos de investigación participantes. La recolección de

los datos se hizo en el aplicativo en línea lsurvey® y estuvo a cargo de personal de salud previamente capacitado.

En el estudio transversal que sirvió de marco a este, se habían recolectado muestras de alimentos para detectar metales pesados en seis puntos de muestreo correspondientes a los distribuidores mayoritarios de la zona frecuentados por la población. Se eligieron dos especies de peces (*Oreochromis mossambicus* o tilapia y *Peprilus snyderi* o 'manteco') y dos tipos de vegetales (lechuga y repollo).

En el primer muestreo se analizaron cuatro muestras de cada pescado y dos de cada vegetal. Siguiendo las recomendaciones del *Codex Alimentarius* (16), en el presente estudio se repitió este muestreo, pero se añadieron dos muestras de carne de pollo y dos de carne de res, para un total de 28 muestras. Los metales evaluados fueron el mercurio, el plomo y el cadmio, con límites de detección de 26 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$, 20 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ y 2 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$, respectivamente. Su detección se hizo mediante espectrofotometría de absorción atómica en laboratorios certificados ajenos a la universidad.

Análisis estadístico

Se hizo un análisis exploratorio de los datos para determinar la frecuencia y la distribución de cada una de las variables. La frecuencia de consumo de alimentos se dividió en dos opciones: menos de una vez por semana y una vez o más por semana, siguiendo el patrón de consumo de alimentos de la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia, ENSIN 2010 (17).

Se estableció la cercanía de las viviendas a los sitios de actividad comercial relacionada con metales pesados: cerrajerías, ebanisterías, agricultura urbana, talleres de mecánica, sitios de reciclaje o manipulación de baterías, chatarra o radiadores de carros, de reparación de joyería, de trabajo con pinturas, soldadura, pulidoras, metales, cerámica, tintas, tintes o esmaltes.

Se hizo un análisis bivariado para indagar sobre la relación entre la posición socioeconómica y la exposición, y se determinaron los perfiles de mujeres con una tendencia a un mayor consumo de alimentos con riesgo de contaminación.

Mediante el análisis de correspondencias múltiples, se determinaron los patrones entre consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación, la posición socioeconómica y las variables de vulnerabilidad, y se establecieron las categorías de las

variables con una contribución significativa a los ejes. Las dimensiones que explicaron la mayor variabilidad entre los datos se establecieron por la inercia en el modelo. No se calcularon centroides, ya que se requieren nubes de puntos más amplias. Los análisis se hicieron con el programa Stata 10™.

Consideraciones éticas

Este proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad del Valle.

Resultados

Participaron 233 mujeres, en su mayoría de raza negra (30,9 %) y mestiza (30,5 %), de las comunas 13 (41,2 %), 14 (26,2 %), 15 (26,6 %) y 21 (6 %), en las cuales predominaba el estrato socioeconómico 1 (64,8 %), con ingresos mensuales entre uno y dos salarios mínimos legales vigentes (68,7 %).

Casi todas (96,1 %) se encontraban afiliadas al régimen de seguridad social y salud y 70,4 % de ellas había cursado estudios hasta el nivel de secundaria. Además, la mayoría vivía en viviendas independientes arrendadas o de tipo familiar con servicios públicos básicos (agua, energía, alcantarillado, gas y recolección de basuras), aunque 13,4 % de estas tenía estructuras deterioradas (techo, piso o paredes) y en 11,7 % había hacinamiento (cuadro 1).

El rango de edad estuvo entre los 19 y los 39 años, con un promedio de 26 (desviación estándar, DE=4,7) y mediana de 25 años. En cuanto al índice de masa corporal, 43,8 % de las mujeres tenía sobrepeso u obesidad, y, además, 54,1 % vivía cerca de sitios con alguna actividad económica relacionada con metales pesados (cuadro 1). En las muestras de alimentos recolectadas, se detectó únicamente la presencia de cadmio en el pescado, con niveles entre 20 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$ y 80 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$, es decir, por debajo del límite permisible según la OMS (100 $\mu\text{g}/\text{kg}^{-1}$).

Con respecto a la exposición a alimentos con capacidad de bioacumulación, la mayoría de la población (más del 85 %) consumía carne de pollo y de res una vez o más por semana, y entre 40,3 y 15,9 % consumía lechuga, repollo, tilapia y 'manteco' una vez o más por semana (cuadro 2). La descripción del patrón alimentario por recordación de 24 horas evidenció que los alimentos más frecuentes en el desayuno eran el pescado y la carne de res (1,1 y 0,7 %, respectivamente); en el almuerzo, el pollo y la carne de res (25 y 22 %, respectivamente), así como la lechuga y el repollo (10 y 7 %, respectivamente), y en la comida, la carne de res (12,6 %) y de pollo (11,9 %).

Cuadro 1. Características de la población de estudio (N=233)

Variable	n	%
Características socioeconómicas		
Raza		
Negra	72	30,9
Mulata	40	17,2
Indígena	5	2,1
Mestiza	71	30,5
Blanca	45	19,3
Afiliación a la seguridad social		
Sí	224	96,1
No	9	3,9
Estrato		
1	151	64,8
2	76	32,6
3	6	2,6
Estado civil		
Sin pareja (soltera/separada)	60	25,8
Con pareja (casada/unión libre)	173	74,2
Escolaridad		
Primaria	24	10,3
Secundaria	164	70,4
Técnica/tecnológica/universitaria	45	19,3
Ingreso familiar en el último mes		
<1 SMMLV	62	26,6
≥1 SMMLV	171	73,4
Comuna		
13	96	41,2
14	61	26,2
15	62	26,6
21	14	6,0
Condiciones de la vivienda		
Servicios públicos completos		
Sí	199	85,4
No	34	14,6
Hacinamiento		
No	203	88,2
Sí	27	11,8
Condiciones de la vivienda (pared, techo, piso)		
Vivienda con estructuras en buen estado	201	86,6
Vivienda con al menos una estructura deteriorada	31	13,4
Condiciones de vulnerabilidad		
Edad		
Menor de 25 años	109	46,8
Igual o mayor de 25 años	124	53,2
Índice de masa corporal		
Bajo peso	14	6,2
Normal	113	50,0
Sobrepeso u obesidad	99	43,8
Actividad relacionada con metales pesados en casa		
Sí	14	6,0
No	219	94,0
Actividad relacionada con metales pesados cerca de casa		
Sí	126	54,1
No	107	45,9

SMMLV: salario mínimo mensual legal vigente

No obstante, entre los alimentos muestreados, el único con valores por encima de los límites de detección fueron el 'manteco', con concentraciones de cadmio en tres de las ocho muestras de 20, 30 y 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente. De las 36 mujeres

Cuadro 2. Frecuencia de consumo semanal de los alimentos muestreados

Alimentos muestreados (n=226)				
Alimento	<1 semana		>1 semana	
Pollo	6	(2,7)	220	(97,3)
Res	32	(14,2)	194	(85,8)
Lechuga	135	(59,7)	91	(40,3)
Repollo	142	(62,8)	84	(37,2)
Tilapia	177	(78,3)	49	(21,7)
'Manteco'	190	(84,1)	36	(15,9)

que consumían este pescado una vez o más por semana, cuatro solían comprarlo en uno de los establecimientos donde la muestra de pescado resultó positiva para cadmio; dos de estas mujeres eran negras.

En el análisis bivariado, se encontró que las mujeres negras, de estrato 1 y que carecían de uno de los servicios públicos, tendían a consumir 'manteco' (36,8 %, $p=0,00$; 19,9 %, $p=0,05$; 24,2 %; $p=0,16$, respectivamente) y tilapia (33,8 %, $p=0,02$; 24,0 %, $p=0,06$; 19,7 %, $p=0,08$, respectivamente) una vez o más por semana.

El consumo de lechuga una vez o más por semana fue más frecuente en las participantes con nivel técnico o superior de educación (55,8 %; $p=0,02$), en las que ganaban más de un salario mínimo (45,8 %; $p=0,00$) y en aquellas que habitaban en una vivienda en buen estado (42,4 %; $p=0,13$). El consumo de repollo una vez o más por semana fue mayor en el estrato 3 que en los estratos 1 y 2 (66,7 %; $p=0,02$).

En cuanto a las variables de vulnerabilidad, la tendencia a consumir pescado fue más frecuente en quienes vivían en cercanías a lugares de actividad económica relacionada con la exposición a metales pesados, así como en aquellas con sobrepeso. El consumo de verduras se asoció a las actividades económicas con exposición a metales pesados realizadas en casa o cerca de ella. El consumo de lechuga una vez o más por semana fue más frecuente en las mujeres mayores de 25 años (46,2 %; $p=0,05$).

Asimismo, se determinaron asociaciones entre el tener más de 25 años y pertenecer a los estratos 1 y 3; entre el sobrepeso y la obesidad, y pertenecer a los estratos 2 y 3, y entre la presencia de actividades de potencial riesgo y habitar en viviendas de estrato 1. Se determinó, igualmente, que 75 % de las mujeres con menor nivel de escolaridad (primaria) eran mayores de 25 años, que 58,3 % tenía sobrepeso

u obesidad y que 16,7 % vivía en casas en donde se desarrollaban actividades relacionadas con la exposición a metales pesados.

El análisis de correspondencias múltiples entre las variables de frecuencia de consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación y el nivel socioeconómico arrojó un porcentaje de varianza de 70,4 %, concentrada principalmente en las dimensiones 1 (43,4 %) y 2 (17,2 %). En el cuadro 3 se presentan las inercias, es decir, los valores que cuantifican la varianza de cada categoría.

En la elaboración de la gráfica se seleccionaron, además de los alimentos, las variables de nivel socioeconómico con las inercias más altas en cada dimensión. Para la dimensión 1, estas fueron el estrato (0,091), el ingreso (0,086), la comuna (0,057), los servicios públicos (0,072), el estado de la vivienda (0,090) y el nivel de escolaridad, y para la dimensión 2, la raza (0,173). En la primera dimensión, se observó una agrupación de variables relacionadas con una posición socioeconómica desventajosa (lado izquierdo del eje de la x, franja roja), en contraste con la dimensión 2, la cual agrupó el consumo de pescado una vez o más por semana con ser de raza negra (parte baja del eje de la y, franja amarilla) (figura 1).

Los valores para el análisis de correspondencias múltiples de la condición de vulnerabilidad se presentan en el cuadro 4. A pesar de que el modelo explicó el 50,5 % de la variabilidad (dimensión 1: 25,8 %; dimensión 2: 15,5 %), solo en la dimensión 2 aparecieron valores altos de inercia que permitían elucidar alguna relación, por ejemplo, el consumo de 'manteco' (0,125), de repollo (0,078) o de lechuga una vez o más por semana (0,091), el tener más de 25 años (0,097) y, en menor medida, las actividades relacionados con la exposición dentro y fuera de la casa (0,064 y 0,052, respectivamente). Dicha agrupación se ve en la figura 2 (parte baja del eje de la y, franja roja).

Discusión

En el estudio se analizó la relación entre la condición socioeconómica, los patrones de alimentación y la exposición a metales pesados en una población de mujeres en edad fértil del distrito de Aguablanca en Cali. En los alimentos muestreados se encontró cadmio, aunque por debajo de los niveles reglamentarios (18,19), en tres muestras del pescado denominado 'manteco'; 11,1 % de las mujeres que consumía 'manteco' una vez o más por semana lo adquiría en los expendios que

Cuadro 3. Inercias de las variables de frecuencia del consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación y del nivel socioeconómico

Variables	Inercias	
	Dimensión 1	Dimensión 2
'Manteco'		
<1 vez/semana	0,015	0,030
≥1 vez/semana	0,083	0,160
Tilapia		
<1 vez/semana	0,013	0,023
≥1 vez/semana	0,050	0,087
Repollo		
<1 vez/semana	0,008	0,006
≥1 vez/semana	0,013	0,010
Lechuga		
<1 vez/semana	0,025	0,005
≥1 vez/semana	0,036	0,008
Res		
<1 vez/semana	0,045	0,027
≥1 vez/semana	0,008	0,005
Pollo		
<1 vez/semana	0,005	0,008
≥1 vez/semana	0,000	0,000
Raza		
Negra	0,023	0,173
Mulata	0,001	0,000
Indígena	0,000	0,001
Mestiza	0,004	0,049
Blanca	0,016	0,052
Afiliación a la seguridad social		
Sí	0,000	0,000
No	0,008	0,009
Estrato		
1	0,054	0,001
2	0,091	0,000
3	0,005	0,013
Estado civil		
Soltera	0,003	0,007
Unión libre	0,001	0,001
Casada	0,029	0,009
Separada	0,000	0,026
Escolaridad		
Primaria	0,042	0,002
Secundaria	0,002	0,016
Técnica/tecnológica/ universitaria	0,006	0,077
Ingreso		
<1 SMMLV	0,086	0,003
>1 SMMLV	0,031	0,001
Comuna		
13	0,006	0,009
14	0,016	0,020
15	0,057	0,026
21	0,001	0,037
Servicios públicos		
Incompletos	0,072	0,003
Completos	0,012	0,001
Hacinamiento		
No	0,003	0,007
Sí	0,025	0,048
Estado de la vivienda		
En buen estado	0,013	0,005
Deteriorada	0,090	0,035

SMMLV: salario mínimo mensual legal vigente

resultaron positivos para cadmio, y la mitad de ellas era de raza negra. Mediante el análisis de correspondencias múltiples, se determinó una asociación entre las mujeres de raza negra y el consumo de 'manteco' o tilapia una vez o más por semana, y casi una quinta parte de ellas consumía pescado en las tres comidas del día, en mayor medida en el almuerzo.

La mala calidad de los alimentos y la degradación ambiental amenazan la seguridad alimentaria de las poblaciones. Además, en los tejidos de algunos organismos acuáticos, como los peces, crustáceos

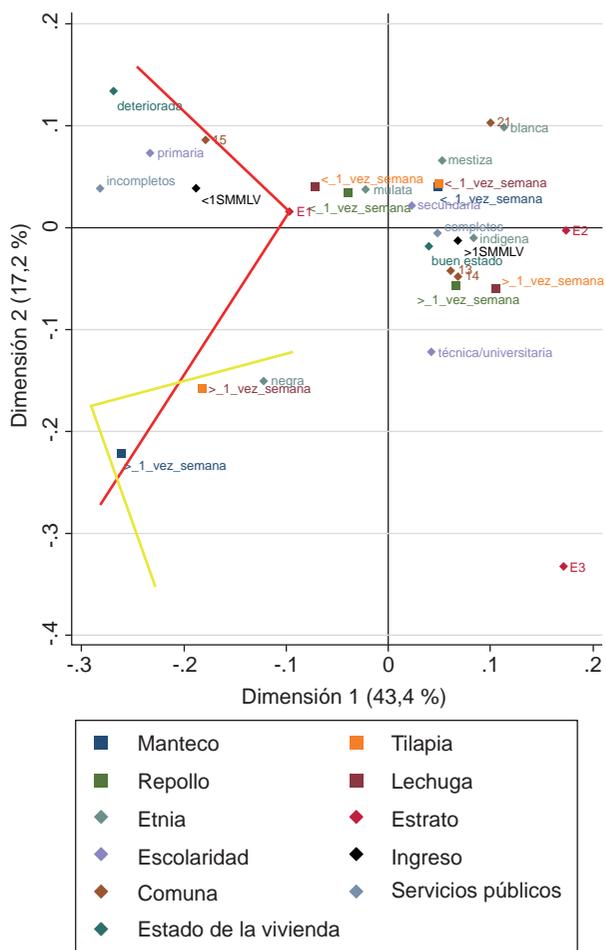


Figura 1. Análisis de correspondencias múltiples entre las variables de posición socioeconómica y el consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación. Los alimentos se representan con un cuadrado y, las variables socioeconómicas, con rombos. El área delimitada por la curva roja indica una asociación entre el consumo frecuente de pescado y una condición socioeconómica desfavorable. El área delimitada por la curva amarilla indica una asociación entre el ser de raza negra y el consumo frecuente de pescado. Por cuestiones de legibilidad, solo se incluyeron las variables con mayor contribución (inercia).

Cuadro 4. Inercias de la frecuencia del consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación y la condición de vulnerabilidad

Variables	Inercias	
	Dimensión 1	Dimensión 2
'Manteco'		
<1 vez/semana	0,049	0,024
≥1 vez/semana	0,256	0,125
Tilapia		
<1 vez/semana	0,066	0,017
≥1 vez/semana	0,236	0,061
Repollo		
<1 vez/semana	0,007	0,046
≥1 vez/semana	0,012	0,078
Lechuga		
<1 vez/semana	0,048	0,060
≥1 vez/semana	0,073	0,091
Res		
<1 vez/semana	0,066	0,032
≥1 vez/semana	0,011	0,005
Pollo		
<1 vez/semana	0,002	0,001
≥1 vez/semana	0,000	0,000
Edad		
Menores de 25 años	0,011	0,108
Mayores de 25 años	0,010	0,097
Índice de masa corporal		
Bajo peso	0,054	0,029
Normal	0,046	0,012
Sobrepeso	0,020	0,033
Actividades relacionadas con la exposición a metales pesados en casa		
No	0,000	0,004
Sí	0,005	0,064
Actividades relacionadas con la exposición a metales pesados cerca de casa		
No	0,015	0,059
Sí	0,013	0,052

y moluscos, se acumulan las sustancias contaminantes presentes en el agua, incluidos los metales pesados (20-23).

Mediante el análisis de correspondencias múltiples de las posibles relaciones con el consumo de 'manteco', en el presente trabajo se evidenció una variación relacionada con esta característica de 65,3 %, y la raza y el consumo de tilapia fueron las variables con mayores porcentajes de inercia. Los hallazgos en torno a esta especie de pez (*P. snyderi*) coincidieron con los de Quintero-Alvares, *et al.*, en Nuevo México, quienes detectaron cadmio en el hígado de los peces en una concentración de 11,05 µg/g⁻¹ (24).

Asimismo, otros estudios sobre la tilapia han reportado la presencia de metales pesados: en Egipto, Mansour, *et al.*, encontraron tilapia de lago

Condición socioeconómica, alimentación y metales pesados

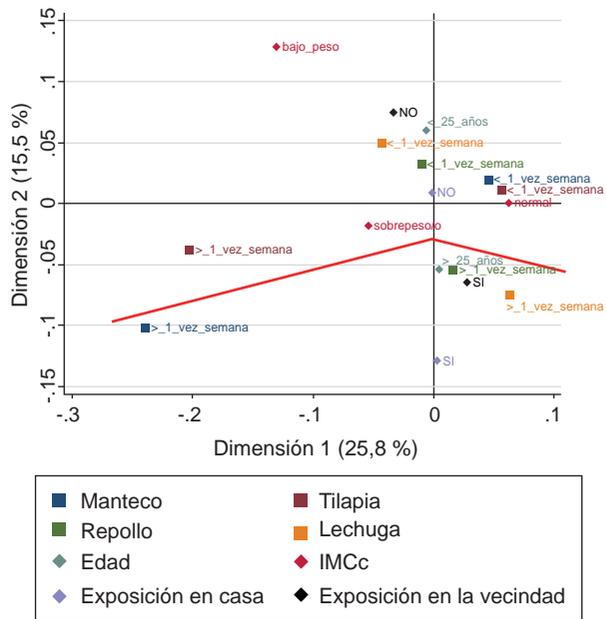


Figura 2. Análisis de correspondencias múltiples entre la frecuencia del consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación y las variables de vulnerabilidad. Los alimentos se representan con un cuadrado y las variables de vulnerabilidad, con rombos. El área delimitada por la curva roja indica una agrupación en el eje de la "y", la cual evidencia una relación entre el consumo frecuente de pescado y verduras, las actividades relacionadas con la exposición a metales pesados y el ser mayor de 25 años. Por cuestiones de legibilidad, solo se incluyeron las variables con mayor contribución (inercia).

con cadmio en concentraciones de 0,33 ppm, lo cual supera el límite de 0,20 ppm establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (25); Rashed, *et al.*, detectaron la presencia de varios metales pesados en los tejidos de hígado de tilapia analizados, especialmente cobre, cobalto y cinc (26).

Por su parte, Atta, *et al.*, detectaron la presencia de cadmio, cobre, plomo y cinc, principalmente en vísceras, cabeza y músculo de tilapia, en rangos que variaron proporcionalmente con el nivel de contaminación del ambiente y del tejido analizado (27), en tanto que en Colombia, en estudios en la laguna de Sonso, municipio de Buga, en la especie *O. niloticus* se reportó alteración en los biomarcadores de genotoxicidad e histopatológicos en tejido branquial y hepático indicativos de daños por contaminantes ambientales (28), así como la presencia de plomo en vísceras y músculo en concentraciones de 0,28 y 0,16 µg/g⁻¹, respectivamente (29).

En trabajos realizados con anterioridad en la zona de estudio, se detectaron cadmio y plomo en muestras de pescado del río Cauca de las

especies *Hypostomus plecostomus* y *Prochilodus magdalenae*, en algunas de las cuales se sobrepasaban los límites establecidos por la FAO (30,31). La presencia de cadmio en el 'manteco' evidenció que siguen ingresando alimentos contaminados al distrito de Aguablanca, como ya se había mencionado en anteriores estudios (30,31) y que, además, en el caso del pescado, provienen no solo del mercado nacional (Buenaventura, Tumaco, Magdalena, Neiva) sino también de Ecuador, Perú, Uruguay y Argentina (32), e incluso de países más lejanos como China y Vietnam, lo cual sugiere que el producto también puede estar vendiéndose en otras zonas de la ciudad, no solo en Aguablanca (33).

El hecho de que 70 % de quienes consumían 'manteco' una vez o más por semana fuera de raza negra, evidencia que dicha relación está ligada a un patrón cultural y geográfico dada la ubicación histórica de los afrodescendientes colombianos en zonas de litoral, aunque en los diversos estudios también se establece una clara relación entre el nivel educativo, la edad y el consumo de pescado: las personas con baja escolaridad, generalmente con menos ingresos, se ven obligadas a comer pescado barato, como el 'manteco', ya que es una buena fuente de proteína (34).

Ahora bien, la raza ha sido uno de los factores determinantes que más se ha vinculado con la inequidad en salud. A partir de conceptos como el de justicia ambiental, originado en Estados Unidos en el marco de las luchas raciales de los años 60 y 70, se ha puesto de manifiesto que la población de raza negra ha estado más expuesta a riesgos ambientales comparada con la población de raza blanca (35). Hertz, *et al.*, sugirieron una asociación entre el pertenecer a la etnia afroamericana y la detección de factores predictores de la presencia de plomo en la sangre (36); en este mismo sentido, Mijal, *et al.*, encontraron que las mujeres negras no hispanas en edad fértil tenían niveles más altos de cadmio en sangre que las no hispanas blancas (37).

En Colombia también se evidenció la asociación entre los niveles de plomo en sangre en niños afrodescendientes y su pertenencia a un nivel socioeconómico bajo (38); en las investigaciones previas en la cohorte de este estudio dicha asociación también se encontró (31), además de la presencia de plomo y cadmio en 90 % de las muestras de agua y alimentos, en especial de pescado, algunas de las cuales sobrepasaban los niveles aceptados internacionales. Asimismo, Evans, *et al.*, asociaron

la raza con el bajo nivel de ingresos, las condiciones precarias de la vivienda y la educación deficiente (39).

Además de este patrón cultural, se debe mencionar la influencia del precio del 'manteco' en la decisión de comprarlo. En este estudio se observó que el consumo de alimentos con capacidad de bioacumulación se dio en un contexto de bajos ingresos que lleva a las personas a comprar alimentos baratos o de menor calidad para afrontar las limitaciones económicas, en el cual el bajo nivel educativo también puede limitar las posibilidades de elegir el consumo de alimentos de calidad, lo cual representa, en la práctica, un mayor riesgo para la seguridad alimentaria y la salud de la población.

La mayoría de las mujeres participantes en el estudio eran de raza negra o mestiza, sus viviendas eran de estrato 1, su nivel de educación alcanzaba solo la secundaria y subsistían con un ingreso mensual de entre uno y dos salarios mínimos, todas características indicadoras de una posición socioeconómica baja, la cual obliga a muchas personas a vivir en áreas urbanas desfavorables, perpetuando así los ciclos de inequidad; esto, a su vez, induce el desarrollo y la propagación de desigualdades en salud (40) que se traducen, por ejemplo, en la ausencia o desarrollo limitado de una infraestructura adecuada para el manejo del agua y los residuos sólidos.

La condición socioeconómica también agrava la exposición a contaminantes ambientales, pues existe una relación inversa entre los indicadores del nivel socioeconómico y los factores de riesgo ambiental, como los desechos peligrosos, la contaminación del aire, la calidad del agua, el hacinamiento, la calidad de la vivienda, la infraestructura educativa y las condiciones del vecindario (39). En cuanto a la exposición ambiental a metales pesados, la exposición al cadmio y al plomo se considera inversamente proporcional a la condición socioeconómica (41), y es especialmente peligrosa para las personas que viven en la pobreza (42).

Sin embargo, son pocos los estudios sobre la relación entre el consumo de alimentos contaminados con metales pesados y la condición socioeconómica. Muckle, *et al.*, examinaron la relación entre algunas características sociodemográficas y el consumo de comida tradicional en mujeres gestantes de una comunidad esquimal, para determinar los alimentos relacionados con la exposición a los policlorobifenilos y al mercurio mediante el análisis de muestras de sangre y cabello de las participantes; encontraron

una asociación entre el consumo de pescado y carne de foca y la condición socioeconómica de pobreza, el bajo nivel educativo y la exposición a estos contaminantes (43).

Los factores sociales afectan la exposición de manera diferencial. Con respecto a la vulnerabilidad del grupo poblacional en estudio, debe tenerse en cuenta que las mujeres en edad fértil asimilan el cadmio presente en el pescado de forma diferente debido a las características propias del metabolismo de las sustancias liposolubles (40). Además, las mujeres tienen una mayor carga corporal de cadmio que los hombres (37), ya que la absorción intestinal de este elemento es de dos a cuatro veces mayor en ellas (44).

En este mismo sentido, el estado nutricional de la población es importante, ya que la deficiencia de hierro en la dieta hace que la absorción del cadmio se incremente y, si se consideran las condiciones socioeconómicas y el patrón alimentario reportados, el papel de la nutrición es crítico. En estudios como el de Arruda, *et al.* (45), se menciona la sustitución metabólica del calcio por contaminantes como el cadmio y el plomo en niños de escasos recursos como una de las hipótesis para explicar los picos de concentración de metales pesados, cercanos a los límites superiores de los promedios mundiales, encontrados en niños menores de 15 años. En Colombia, Suárez-Ortegón, *et al.*, reportaron una asociación negativa entre los niveles altos de plomo en la sangre de mujeres en tercer trimestre de embarazo y la ingestión de cinc, calcio y vitamina B₁₂, así como una asociación positiva en este mismo período de embarazo y el consumo de ácido fólico (46).

Por su parte, en Estados Unidos, Hertz-Picciotto, *et al.*, hallaron una asociación entre el consumo elevado de calcio y los bajos niveles de plomo en la sangre de mujeres en segundo y tercer trimestre de embarazo (35). Por otro lado, Rosado, *et al.*, en un ensayo controlado con placebo en una población de escolares entre los 6 y 7 años que vivían cerca de una zona de fundición industrial, evidenciaron que el suplemento con hierro o cinc no producía reducción en los niveles de plomo en la sangre de estos niños expuestos al plomo (47).

Al observar la correspondencia entre la raza negra y el consumo de pescado hallada en este estudio, podría proponerse que los efectos de la exposición dependen de la raza (37), y que se ven intensificados por un patrón cultural de consumo de alimentos,

así como por la contaminación ambiental con cadmio como producto de actividades antrópicas y por condiciones socioeconómicas desfavorables en esta población vulnerable de mujeres en edad fértil.

Entre las fortalezas del estudio debe mencionarse la eventualidad de que la mayoría de las participantes proviniera de una cohorte anterior. El contar con esta información de base relacionada con el objetivo del presente estudio, permitió entender mejor el contexto e interpretar de forma más adecuada los hallazgos. Asimismo, el tamaño de la muestra estimado se cumplió y el porcentaje de ausencia de respuesta fue de 20 %. Además, el análisis de correspondencias múltiples fue apropiado para el tamaño de la muestra y permitió explorar nuevas relaciones, respetando el comportamiento de los datos e indicando la senda para nuevos estudios.

Por otra parte, el estudio se vio afectado por la imposibilidad de contar con suficientes datos sobre las concentraciones de metales pesados en los alimentos consumidos directamente por las participantes, con el fin de hacer un análisis más completo e integral. Además, la participación voluntaria de las mujeres en el estudio pudo generar un sesgo relacionado con la exposición, ya que las que decidieron participar pudieron ser las que percibían la contaminación ambiental como nociva debido a su nivel escolar. Aunque el sesgo de memoria pudo estar presente al recordar los alimentos consumidos y la frecuencia de su consumo, ello se minimizó mediante la utilización de imágenes para la estimación de sus cantidades y pesos.

La detección de alimentos contaminados con metales pesados en la zona no es nueva, pues en estudios anteriores se ha reportado, incluso, en otras especies de pescado y en niveles que superaban los límites establecidos en las normas internacionales (30,31). Este hecho debe llamar la atención sobre la importancia de implementar un sistema de vigilancia de los alimentos que se consideran de riesgo para la salud por su capacidad de acumular metales pesados, así de un control más riguroso por parte del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima), aunado al trabajo conjunto de la academia, las secretarías municipales de salud, el Instituto Colombiano Agropecuario, el Instituto Colombiano de Desarrollo Rural y el Ministerio de Agricultura, con el fin de dar a conocer los hallazgos sobre la contaminación ambiental de alimentos.

La comunicación y la educación de la comunidad sobre las rutas y vías de exposición a metales pesados y pesticidas, y su riesgo para la salud, es

una tarea importante. La difusión clara y concreta de los resultados de este tipo de estudios entre las comunidades, en colaboración con los medios de comunicación y de las diferentes organizaciones comunitarias, son estrategias esenciales en este propósito.

El trabajo intersectorial en torno a los problemas ambientales a partir de enfoques sociales debe permea las decisiones y acciones que se tomen en este sentido. El fomento de las oportunidades laborales y productivas, la mejoría de la calidad de la educación, la protección y la atención de las poblaciones vulnerables y la construcción de viviendas dignas y suficientes podrían contribuir a la reducción de inequidades y a la reivindicación de grupos sociales excluidos.

A la luz de los hallazgos del presente estudio, se sugiere la caracterización de las rutas de distribución del pescado proveniente del río Cauca y de otras fuentes, así como la realización de estudios de evaluación en otras poblaciones que contemplen la estratificación urbana y rural de Cali, de estudios genéticos mediante herramientas de biología molecular que evalúen los polimorfismos para obtener información sobre la propensión de los individuos frente a contaminantes ambientales, y de estudios con parámetros y variables que estimen y cuantifiquen el impacto de los procesos de urbanización en la salud, con el fin de obtener información que aporte a la construcción de una ciudad con una mejor calidad de vida para sus habitantes.

Agradecimientos

Los investigadores agradecen a las mujeres participantes y al Hospitalito Infantil "Niño Dios" de Aguablanca en Cali, a los encuestadores y nutricionistas participantes en el proyecto, así como a Colciencias por su financiación.

Conflicto de intereses

Los investigadores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Financiación

Este trabajo fue financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias, (código de proyecto: 110651929211).

Referencias

1. **Prüss-Üstün A, Corvalán C.** Preventing disease through healthy environments: Estimate environmental burden of disease. Geneva: World Health Organization; 2006.

2. **Hu H.** Human health and heavy metals. En: McCally M, editor. Life support: The environment and human health. Cambridge, MA: MIT Press; 2002. p. 65.
3. **Ritter C, Solomon K, Sibley P.** Sources, pathways, and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: A perspective prepared for the Walkerton inquiry. J Toxicol Environ Health A. 2002;65:1-142.
4. **Wyatt C, Fimbres C, Romo L, Méndez R, Grijalva M.** Incidence of heavy metal contamination in water supplies in Northern México. Environ Res. 1998;76:114-9. <https://doi.org/10.1006/enrs.1997.3795>
5. **Järup L.** Hazards of heavy metal contamination. Br Med Bull. 2003;68:167-82. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>
6. **Mason RP, Laporte J-M, Andres S.** Factors controlling the bioaccumulation of mercury, methylmercury, arsenic, selenium, and cadmium by freshwater invertebrates and fish. Arch Environ Contam Toxicol. 2000;38:283-97.
7. **van der Oost R, Beyer J, Vermeulen NP.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review. Environ Toxicol Pharmacol. 2003;13:57-149. [https://doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](https://doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)
8. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry.** Resumen de Salud Pública: cadmio (Cadmium). Fecha de consulta: 2 de julio de 2014. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs5.html
9. **Environmental Protection Agency.** Bioaccumulation definition -Terms & Acronyms. Fecha de consulta: 2 de julio de 2014. Disponible en: https://ofmpub.epa.gov/sor_internet/registry/termreg/searchandretrieve/termsandacronyms/search.do
10. **Pan American Health Organization.** Capítulo 3: Desarrollo sostenible y salud ambiental. Salud en las Américas. Washington, D.C.: Pan American Health Organization; 2007. p. 220-313.
11. **Goyer R.** Issue on the human health effects of metals. Washington, D.C.: Environmental Protection Agency; 2004.
12. **Castilla EE, Mastroiacovo P, López-Camelo JS, Saldarriaga W, Isaza C, Orioli IM.** Sirenomelia and cyclopa cluster in Cali, Colombia. Am J Med Genet A. 2008;146A:2626-36. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32506>
13. **Cuatas D, Ariza Y, Pachajoa H, Méndez F.** Analysis of the spatial and temporal distribution of congenital abnormalities between 2004-2008 at a University Hospital in Cali, Colombia. Colombia Médica. 2010;42:9-16.
14. **Pachajoa H, Ariza Y, Isaza C, Méndez F.** Major birth defects in a third-level hospital in Cali, Colombia, 2004-2008. Rev Salud Pública. 2011;13:152-62. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642011000100013>
15. **Ariza-Araújo Y, Martínez G, Peña M, Méndez F.** Fish consumption in an area with high incidence of birth defects in Cali, Colombia. Epidemiology. 2009;20:191-9. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000362644.47136.17>
16. **Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Organización Mundial de la Salud.** Directrices generales sobre muestreo, normas oficiales de la *Codex Alimentarius Commission*. Geneva: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization; 2004. p. 73..

17. **Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.** Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia - ENSIN 2010. Bogotá, D.C.: ICBF; 2011.
18. **Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.** Session T. Codex Alimentarius Commission. Fecha de consulta: 16 de enero de 2014. Disponible en: ftp://ftp.fao.org/osd/CPF/Countries/Bhutan/%5C/codex/Reports/Alinorm01/al0_1_12e.pdf
19. **Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, Organización Mundial de la Salud.** Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Informe de la 3ª reunión del Comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos. Róterdam, Países Bajos, 23-27 de marzo de 2009. Fecha de consulta: 16 de marzo de 2013. Disponible en: ftp://ftp.fao.org/codex/Reports/alinorm09/al32_41s.pdf
20. **Skerfving S, Bencko V, Vahter M, Schütz A, Gerhardsson.** Environmental health in the Baltic region - toxic metals. *Scand J Work Environ Health.* 1999;25(Supl.3):40-64.
21. **Castro M, Méndez M.** Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2008;26:263-71. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.06.001>
22. **Nasreddine L, Parent-Massin D.** Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? *Toxicol Lett.* 2002;127:29-41. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(01\)00480-5](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(01)00480-5)
23. **Sirof V, Guérin T, Mauras Y, Garraud H, Volatier J, Leblanc J.** Methylmercury exposure assessment using dietary and biomarker data among frequent seafood consumers in France CALIPSO study. *Environ Res.* 2008;107:30-8. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2007.12.005>
24. **Quintero-Álvarez JM, Soto-Jiménez MF, Amezcua F, Voltolina D, Frias-Espéricueta MG.** Cadmium and lead concentrations in the fish tissues of a coastal lagoon system of the SE Gulf of California. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2012;89:820-3. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0730-8>
25. **Mansour SA, Sidky MM.** Ecotoxicological Studies. 3. Heavy metals contaminating water and fish from Fayoum Governorate, Egypt. *Food Chem.* 2002;78:15-22. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00197-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00197-2)
26. **Rashed MN.** Monitoring of environmental heavy metals in fish from Nasser Lake. *Environ Int.* 2001;27:27-33. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(01\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(01)00050-2)
27. **Atta MB, El-Sebaie LA, Noaman MA, Kassab HE.** The effect of cooking on the content of heavy metals in fish (*Tilapia nilotica*). *Food Chem.* 1997;58:1-4. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)00205-7](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)00205-7)
28. **Cáceres PR, Tello A, Torres GA.** Uso de biomarcadores genotóxicos e histopatológicos para evaluar el efecto de los metales en la tilapia (*Oreochromis niloticus* L) presente en la laguna de Sonso (Valle del Cauca). *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas.* 2010;1: 109-21.
29. **Gischler C.** Pathways of heavy metals and implications for stakeholders, Sonso lagoon, Colombia. Thesis. Stockholm: KTH School of Architecture and Built Environment; 2005.
30. **Grupo de Epidemiología y Salud Poblacional, Grupo de Investigación en Saneamiento Ambiental, Grupo de Malformaciones Congénitas Perinatales, Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali.** Informe final del proyecto de investigación: factores ambientales asociados a la ocurrencia de malformaciones congénitas en la ciudad de Cali. Cali: Universidad del Valle y Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali; 2009. p. 30.
31. **Méndez F.** Efectos de la exposición ambiental a plomo y cadmio en la ocurrencia de bajo peso al nacer (BPN) y restricción del crecimiento intrauterino (RCIU) en una cohorte de mujeres gestantes de la ciudad de Cali. Cali: Universidad del Valle; 2011.
32. **Echeverry G, Zapata AM, Páez MI, Méndez F, Peña MR.** Valoración del riesgo en salud en un grupo de población de Cali, Colombia, por exposición a plomo, cadmio, mercurio, ácido 2,4-diclorofenoxiacético y diurón, asociada al consumo de agua potable y alimentos. *Biomédica.* 2015;35:110-9 <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2464>
33. **Karouna-Renier N, Ranga K, Lanza J, Rivers S, Wilson P, Hodges D, et al.** Mercury levels and fish consumption practices in women of child-bearing age in the Florida Panhandle. *Environ Res.* 2008;108:320-6. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.08.005>
34. **Burger J, Stephens WL, Boring CS, Kuklinski M, Gibbons JW, Gochfeld M.** Factors in exposure assessment: Ethnic and socioeconomic differences in fishing and consumption of fish caught along the Savannah River. *Risk Anal.* 1999;19: 427-38. <https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1999.tb00418.x>
35. **Taylor DE.** The rise of the environmental justice paradigm. Injustice framing and the social construction of environmental discourses. *Am Behav Sci.* 2000;43:508-80. <https://doi.org/10.1177/0002764200043004003>
36. **Hertz-Picciotto I, Schramm M, Watt-Morse M, Chantala K, Anderson J, Osterloh J.** Patterns and determinants of blood lead during pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2000;152: 829-37. <https://doi.org/10.1093/aje/152.9.829>
37. **Mijal RS, Holzman CB.** Blood cadmium levels in women of childbearing age vary by race/ethnicity. *Environ Res.* 2010; 110:505-12. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2010.02.007>
38. **Filigrana PA, Méndez F.** Blood lead levels in school-children living near an industrial zone in Cali, Colombia: The role of socioeconomic condition. *Biol Trace Elem Res.* 2012;149: 299-306. <https://doi.org/10.1007/s12011-012-9429-2>
39. **Evans GW, Kantrowitz E.** Socioeconomic status and health: The potential role of environmental risk exposure. *Annu Rev Public Health.* 2002;23:303-31. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.23.112001.112349>
40. **World Health Organization.** Equity, social determinants and public health programmes. Geneva: WHO; 2010. p. 103.
41. **Tyrrell J, Melzer D, Henley W, Galloway TS, Osborne NJ.** Associations between socioeconomic status and environmental toxicant concentrations in adults in the USA: NHANES 2001–2010. *Environ Int.* 2013;59:328-35. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.06.017>
42. **Tong S, von Schirnding YE, Prapamontol T.** Environmental lead exposure: A public health problem of global dimensions. *Bull World Health Organ.* 2000;78:1068-77.

43. **Muckle G, Ayotte P, Dewailly E, Jacobson SW, Jacobson JL.** Determinants of polychlorinated biphenyls and methylmercury exposure in Inuit women of childbearing age. *Environ Health Perspect.* 2001;109:957-63.
44. **Järup L, Åkesson A.** Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2009; 238:201-8. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.04.020>
45. **Arruda-Neto JD, Geraldo LP, Prado GR, García F, Bittencourt-Oliveira MC, Sarkis JE, *et al.*** Study of metals transfer from environment using teeth as biomonitor. *Environ Int.* 2010;36:243-6. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.12.003>.
46. **Suárez-Ortegón MF, Mosquera M, Caicedo DM, De Plata CA, Méndez F.** Nutrients intake as determinants of blood lead and cadmium levels in Colombian pregnant women: Nutrients intake and levels of lead and cadmium. *Am J Hum Biol.* 2013;25:344-50. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22375>
47. **Rosado JL, López P, Kordas K, García-Vargas G, Ronquillo D, Alatorre J, *et al.*** Iron and/or zinc supplementation did not reduce blood lead concentrations in children in a randomized, placebo-controlled trial. *J Nutr.* 2006;136:2378-83.

ARTÍCULO ORIGINAL

Perfil de sensibilidad antimicrobiana de microorganismos causantes de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad en pacientes con diabetes mellitus en Colombia

Laura Cristina Nocua-Báez¹, Jorge Alberto Cortés^{1,2}, Aura Lucía Leal^{2,3}, Gerson Fitzgerald Arias^{1,4}, María Victoria Ovalle-Guerrero⁵, Sandra Yamile Saavedra-Rojas⁵, Giancarlo Buitrago⁵, Javier Antonio Escobar-Pérez⁶, Betsy Castro-Cardozo⁶

¹ Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

³ Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Servicio de Infectología, Hospital Santa Clara E.S.E., Bogotá, D.C., Colombia

⁵ Grupo para el Control de la Resistencia Bacteriana en Bogotá, GREBO, Bogotá, D.C., Colombia

⁶ Laboratorio de Genética Molecular Bacteriana, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La infección de las vías urinarias es la más frecuente en pacientes diabéticos, y es un factor determinante de la morbilidad y la mortalidad en este grupo de pacientes. El aumento de la resistencia de los microorganismos adquiridos en la comunidad a los antibióticos comúnmente utilizados para combatirla es alarmante.

Objetivo. Determinar el perfil de sensibilidad a los antibióticos de los microorganismos responsables de infecciones urinarias adquiridas en la comunidad en pacientes diabéticos atendidos en algunos hospitales de Colombia.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo de un subgrupo de pacientes diabéticos en el marco de una investigación en adultos con infección de origen comunitario de las vías urinarias. Durante un año, se recolectaron aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y *Proteus mirabilis* en nueve hospitales de Colombia y se determinó su perfil de sensibilidad mediante métodos microbiológicos y moleculares, para establecer la presencia de betalactamasas de espectro extendido del tipo AmpC y de carbapenemasas del tipo KPC.

Resultados. Se recolectaron 68 aislamientos (58 de *E. coli*, nueve de *Klebsiella* spp. y uno de *P. mirabilis*). Cuatro (6,9 %) de los aislamientos de *E. coli* expresaron dichas betalactamasas, en dos (3,4 %) de ellos, pertenecientes al grupo filogenético B2 y al clon ST131, se detectaron las betalactamasas TEM-1 y CTM-X-15. En otros cuatro (6,9 %) aislamientos de *E. coli* se encontró el fenotipo AmpC, y en tres de ellos se produjeron las betalactamasas TEM-1 y CMY-2. Un aislamiento de *K. pneumoniae* expresó la carbapenemasa KPC-3.

Conclusión. Se confirmó la presencia de cepas productoras de betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas en microorganismos responsables de infección urinaria adquirida en la comunidad en pacientes diabéticos.

Palabras clave: pielonefritis; cistitis; diabetes mellitus; Enterobacteriaceae; betalactamasa.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3348>

Antimicrobial susceptibility profile in urinary pathogens causing community-acquired infections in diabetic patients in Colombia

Introduction: Urinary tract infection is the most common pathology in diabetic patients, and an important determinant of morbidity and mortality among them. The increasing resistance of uropathogens acquired in the community to commonly used antibiotics is alarming.

Contribución de los autores:

Jorge Alberto Cortés, Aura Lucía Leal, Gerson Fitzgerald Arias, Giancarlo Buitrago, Javier Antonio Escobar-Pérez y Betsy Castro-Cardozo: concepción y diseño del estudio

Jorge Alberto Cortés, Aura Lucía Leal, Gerson Fitzgerald Arias y María Victoria Ovalle-Guerrero: recolección de la información clínica
Sandra Yamile Saavedra-Rojas, Javier Antonio Escobar-Pérez y Betsy Castro-Cardozo: ensayos con técnicas moleculares

Laura Cristina Nocua-Báez, Jorge Alberto Cortés y Giancarlo Buitrago: análisis de datos

Aura Lucía Leal y Javier Antonio Escobar-Pérez: reactivos y herramientas de análisis

Laura Cristina Nocua-Báez y Jorge Alberto Cortés: escritura del manuscrito

Objective: To identify the profile of antibiotic susceptibility of uropathogens responsible for community-acquired infections among diabetic patients in hospitals in Colombia.

Materials and methods: We conducted a descriptive study in a subgroup of diabetic patients in the framework of a larger study in adults with urinary tract infection acquired in the community. Over one year, we collected *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Proteus mirabilis* isolates from nine hospitals in Colombia. Their susceptibility profile was determined using microbiological and molecular methods to establish the presence of extended-spectrum AmpC betalactamases and KPC carbapenemases.

Results: We collected 68 isolates (58 *E. coli*, nine *Klebsiella* spp. and one *Proteus mirabilis*). Four (6.9%) of the *E. coli* isolates expressed extended spectrum betalactamases, two (3.4%) of them belonged to the phylogenetic group B2 and to ST131 clone and expressed the TEM-1 and CTM-X-15 betalactamases. The AmpC phenotype was found in four (6.9%) of the *E. coli* isolates, three of which produced TEM-1 and CMY-2 betalactamases. One *K. pneumoniae* isolate expressed the KPC-3 carbapenemase.

Conclusion: The presence of extended spectrum betalactamases and carbapenemases in uropathogens responsible for community-acquired infection was confirmed in diabetic patients.

Key words: Pyelonephritis; cistitis; diabetes mellitus; Enterobacteriaceae; betalactamases.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3348>

La infección urinaria es la más frecuente en pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus (1) y, hasta en 24 % de ellos, es posible detectar infecciones asintomáticas (2,3). La diabetes mellitus es un factor definitorio de las infecciones complicadas de las vías urinarias, con características como una mayor dificultad para el éxito de los tratamientos y, por ende, la necesidad de tratamientos prolongados, así como una mayor frecuencia de microorganismos resistentes (4), entre ellos, las enterobacterias positivas para betalactamasas de espectro extendido y productoras de carbapenemasas, así como bacterias resistentes a fluoroquinolonas (5).

La diabetes mellitus es un factor de riesgo importante para las complicaciones inusuales de las infecciones urinarias, como la cistitis enfisematosa, los abscesos renales, la necrosis papilar renal, la pielonefritis xantogranulomatosa y la enfisematosa, una condición con una mortalidad mayor de 40 % (6).

Los resultados de los exámenes microbiológicos evidencian que el microorganismo más común en pacientes diabéticos con infección urinaria es *Escherichia coli*, con 64 % (1), una frecuencia menor a la de la población general, en tanto que las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* son más comunes en los pacientes diabéticos que en la población general. Otros microorganismos involucrados son *Proteus* spp., *Enterobacter* spp. y estafilococos negativos para coagulasa. Los pacientes con diabetes mellitus presentan

con mayor frecuencia infecciones de las vías urinarias causadas por bacterias inusuales, como *Acinetobacter* spp. y estreptococos del grupo B (6); además, dicha enfermedad es uno de los factores de riesgo principales para infecciones urinarias de origen fúngico, especialmente las causadas por *Candida* spp. (7).

Dada la gran morbilidad de dichas infecciones en los pacientes diabéticos, y las eventuales complicaciones que implican una mortalidad considerable, es necesario conocer el perfil de sensibilidad a los antimicrobianos para su manejo apropiado. En Colombia, sin embargo, la información sobre este grupo especial de pacientes es escasa y, por ello, el objetivo de este estudio fue determinar y caracterizar molecularmente los perfiles de sensibilidad a los agentes antimicrobianos comúnmente utilizados en el manejo de las infecciones urinarias adquiridas en la comunidad por pacientes diabéticos que consultaron en los servicios de urgencias de algunos hospitales de tercer nivel de atención de Colombia.

Materiales y métodos

Pacientes

En este estudio se analizó el subgrupo de pacientes diabéticos del proyecto de Leal, *et al.*, hecho en pacientes adultos (8). Se trató de un estudio descriptivo a lo largo de 12 meses en nueve hospitales generales de tercer nivel de complejidad (dos públicos y siete privados) en tres ciudades de Colombia y en pacientes con infección de las vías urinarias adquirida en la comunidad, la mayoría de ellos admitidos por el servicio de urgencias.

Todos los pacientes incluidos en el estudio inicial eran adultos y para el presente análisis se seleccionaron todos los pacientes diabéticos con diagnóstico

Correspondencia:

Jorge Alberto Cortés, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 N° 45-03, oficina 510, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (571) 316 5000, extensión 15011
jacortesl@unal.edu.co

Recibido: 06/05/16; aceptado: 28/10/16

de infección urinaria adquirida en la comunidad en el momento de ingreso. La condición objeto del análisis se definió como la de aquellos pacientes cuyos síntomas hubieran iniciado, por lo menos, 48 horas antes de su ingreso al hospital, que no usaran sonda vesical permanente, no tuvieran antecedentes de procedimientos quirúrgicos de las vías urinarias en la semana previa, ni hospitalizaciones en los siete días anteriores. Como caso nuevo, se consideró la aparición de infección urinaria después de, por lo menos, un mes a partir del alta hospitalaria previa.

Los pacientes con diabetes mellitus incluidos en el estudio fueron aquellos que requirieron manejo hospitalario por orden médica, en cuyo aislamiento microbiológico se encontraron las enterobacterias *E. coli*, *Klebsiella* spp. o *P. mirabilis*.

Determinación de microorganismos y métodos microbiológicos

Con base en los diagnósticos de ingreso y el resultado de los aislamientos microbiológicos en cada uno de los hospitales, se hizo una búsqueda activa de los pacientes. La información se obtuvo de manera directa o a partir de sus historias clínicas y se registró en un formato que incluía las variables de edad, sexo, enfermedades concomitantes, presencia previa de infección urinaria (uno o más episodios en los últimos tres meses), así como de síntomas, y antecedentes quirúrgicos, uso previo de antibióticos (en los últimos tres meses), y tipo y duración del tratamiento.

Todos los aislamientos de *E. coli*, *Klebsiella* spp. y *P. mirabilis* obtenidos de los urocultivos fueron enviados al Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, para confirmar mediante el método automatizado (BD Phoenix™, Estados Unidos) su identificación y sensibilidad a amoxicilina-ácido clavulánico, amikacina, cefepima, cefazolina, cefotaxima, ceftazidima, ceftriaxona, ciprofloxacina, gentamicina, ertapenem, meropenem, imipenem, piperacilina-tazobactam, trimetoprim-sulfametoxazol y ceftioxitina.

Se determinó la sensibilidad a ampicilina-sulbactam mediante difusión en agar y el gradiente de Etest™ (bioMérieux, Francia). Se utilizó el método de doble disco para confirmar la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), y, la prueba de Hodge, para la revalidación de la producción de carbapenemasas.

Como control de calidad de las pruebas de sensibilidad, se utilizaron las cepas de ATCC 25922 de

E. coli, ATCC 27853 de *Pseudomonas aeruginosa* y ATCC 700603 de *K. pneumoniae*. Las pruebas de sensibilidad se hicieron según las recomendaciones de los fabricantes de los paneles (BD Phoenix™, Estados Unidos) y la interpretación de la concentración inhibitoria mínima se hizo siguiendo los estándares del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), 2014 (9).

Para evaluar la presencia de los genes *blaTEM*, *blaSHV* y *blaCTX-M*, se empleó el método de PCR múltiple en los aislamientos productores de BLEE (10), y los aislamientos positivos para CTX-M se sometieron a una amplificación adicional para la detección de los grupos 1, 2, 8, 9 y 25 (11). Se utilizaron los siguientes iniciadores para la detección de betalactamasas AmpC de plásmidos en los aislamientos con fenotipo AmpC: MOX, CIT, DHA, ACC, EBC y FOX (12); y la presencia de los genes que codifican para carbapenemasas en los aislamientos con resistencia a carbapenémicos se detectó mediante PCR en los genes *blaKPC*, *blaIMP*, *blaVIM* (13) y *blaNDM* (14). Los productos de amplificación obtenidos fueron secuenciados y analizados con el programa BLAST.

El grupo filogenético (A, B1, B2 o D) se determinó mediante la amplificación de los genes *chuA*, *yjaA* y *TspE4* en los aislamientos de *E. coli* productores de CTX-M-15, utilizando los iniciadores descritos por Clermont, *et al.* (15). Se seleccionaron los siguientes factores de virulencia para su detección: FimG/H, papC, usp, SfaD/sfaE, hly y cnf. La relación genética de los aislamientos de *E. coli* con el clon ST131 se determinó siguiendo la metodología publicada por Dhanji, *et al.*, (16) y se confirmó por secuenciación directa de los productos de amplificación.

La relación genética de los aislamientos de *K. pneumoniae* productores de KPC, CTX-M y SHV, se estableció mediante la amplificación de secuencias intergénicas de consenso repetitivas de enterobacterias (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR*, ERIC-PCR) y las de *E. coli* productores de enzimas CTX-M, SHV y AmpC plasmídicas se hizo mediante la amplificación de secuencias repetidas (*Repeated Element Sequence-based-PCR*, rep-PCR) (17).

Los patrones electroforéticos obtenidos se analizaron con el programa *Fingerprinting II* (Bio-Rad), y, para el análisis de agrupamientos, se usó el algoritmo UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Averages*), con 1 % de optimización y de tolerancia; los aislamientos con más de 85 % de similitud se consideraron del mismo genotipo.

En cuanto a la determinación de la resistencia a quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas, se utilizó la PCR para detectar la presencia de los genes *qnrA*, *qnrB* y *qnrS*; *sul1*, *sul2* y *sul3*, y *tetA*, *tetB* y *tetC*, respectivamente.

Análisis estadístico

Se describieron las variables clínicas y microbiológicas; estas últimas se interpretaron como la proporción de aislamientos sensibles, intermedios o resistentes de acuerdo con las normas del CLSI de 2014. Los resultados se reportaron en valores absolutos y medidas de tendencia central.

Consideraciones éticas

Las nueve instituciones participantes aprobaron el protocolo de investigación. La confidencialidad de los pacientes se garantizó. No se requirió el consentimiento informado, ya que no hubo intervenciones, lo cual fue autorizado por todos los comités de investigación, con excepción del de la Clínica Universitaria Colombia, donde se obtuvo el consentimiento de todos los pacientes incluidos.

Resultados

Características de los pacientes

Se recolectaron 68 aislamientos de pacientes diabéticos, de los cuales 51 (75 %) eran mayores de 50 años, 11 (19 %) eran hombres y 57 (81 %) mujeres. El síntoma más común fue la disuria,

informada por 41 (60,3 %) de los pacientes, seguido por la polaquiuria en 26 (38,2 %) casos. Los cambios macroscópicos de la orina referidos por los pacientes fueron: turbidez en 18 (26,5 %), fetidez en 14 (20,6 %), y hematuria en nueve (11,8 %).

La muestra se recolectó por micción espontánea en 40 (58,9 %) de los pacientes, con sonda vesical en 18 (26,5 %) y con cateterismo intermitente en nueve (13,2 %); 18 (26,5 %) pacientes refirieron, al menos, un episodio previo de infección urinaria en los tres meses anteriores, 12 (17,7 %) habían tenido un episodio, siete (10,9 %) dos, y dos (3 %), tres episodios.

El uso de antibióticos en los tres meses anteriores fue referido por 14 (20,6 %) pacientes. Se encontró que los pacientes usaban una amplia variedad de agentes antimicrobianos: cuatro (5,9 %) informaron el uso previo de una cefalosporina de primera generación y cuatro (5,9 %), de ciprofloxacina; los demás refirieron el uso de algún agente antimicrobiano diferente, como ceftriaxona, ampicilina-sulbactam, nitrofurantoína o gentamicina.

Sensibilidad antimicrobiana

La sensibilidad a los antibióticos de los aislamientos de *E. coli* y *Klebsiella* spp. se presenta en el cuadro 1. Se obtuvo solamente un aislamiento de *P. mirabilis*, el cual presentó resistencia a ampicilina-sulbactam, cefazolina, imipinem y nitrofurantoína, pero fue sensible a los demás antibióticos probados.

Cuadro 1. Perfil de sensibilidad y resistencia en aislamientos de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. de pacientes diabéticos con infección urinaria adquirida en la comunidad

	Aislamientos de <i>Escherichia coli</i> (58)			Aislamientos de <i>Klebsiella</i> spp. (9)		
	Sensibilidad (%)	Intermedio (%)	Resistencia (%)	Sensibilidad (%)	Intermedio (%)	Resistencia (%)
Amikacina	100	0	0	88,9	11,1	0
Amoxicilina-clavulonato	69	19	12	88,9	0	11,1
Ampicilina	34,5	0	65,5	22,2	0	77,8
Ampicilina-sulbactam	75,9	8,6	15,5	66,7	11,1	22,2
Aztreonam	86,2	1,7	12,1	88,9	0	11,1
Cefazolina	78,1	13,8	24,1	77,8	11,1	11,1
Cefepima	91,4	8,7	0	88,9	0	11,1
Ceftriaxona	86,2	0	13,8	88,9	0	11,1
Cefotaxima	87,9	0	12,1	88,9	0	11,1
Ceftazidima	87,9	1,7	10,3	88,9	0	11,1
Cefoxitina	89,6	3,4	6,9	88,9	0	11,1
Ciprofloxacina	63,8	3,4	32,8	88,9	0	11,1
Gentamicina	86,2	0	13,8	77,8	0	22,2
Ertapenem	96,6	3,4	0	88,9	0	11,1
Imipenem	100	0	0	100	0	0
Meropenem	100	0	0	88,9	0	11,1
Nitrofurantoína	94,8	0	5,2	77,8	0	22,2
Piperacilina-tazobactam	84,5	5,2	10,3	66,7	22,2	11,1
Trimetoprim-sulfametoxazol	55,2	0	44,8	88,9	0	11,1

Resistencia a cefalosporinas de tercera generación

De los 58 aislamientos de *E. coli*, ocho (13,8 %) presentaron resistencia a cefalosporinas de tercera generación y, de estos, cuatro (6,9 %) expresaron BLEE y dos (3,4 %) de ellos pertenecían al grupo filogenético B2 y al clon ST131 y en ellos se detectaron las betalactamasas TEM-1 y CTM-X-15. En cuatro (6,9 %) aislamientos, se encontró el fenotipo AmpC, y tres de ellos produjeron las betalactamasas TEM-1 y CMY-2. Todas las características de estos aislamientos se encuentran en el cuadro 2. Un aislamiento de *K. pneumoniae* expresó la carbapenemasa KPC-3 y la betalactamasa TEM-1.

Dos aislamientos de *E. coli* demostraron sensibilidad intermedia a ertapenem, y, aunque no se detectaron carbapenemasas, pertenecían al fenotipo AmpC y expresaron las betalactamasas TEM-1 y CMY-2.

Discusión

En este estudio se confirmó la aparición de cepas de enterobacterias productoras de BLEE y AmpC en aislamientos de pacientes diabéticos con infección urinaria adquirida en la comunidad. La presencia de tales microorganismos se consideraba un problema netamente hospitalario hasta hace muy poco tiempo. Otro hallazgo importante fue la detección de un aislamiento productor de carbapenemasas en estos pacientes; la resistencia a carbapenémicos también se consideraba una situación exclusiva de los hospitales. Estos resultados alertan sobre la importancia de este tipo de estudio en pacientes diabéticos, con el fin de propiciar el uso apropiado de antibióticos en el tratamiento de la infección urinaria adquirida en la comunidad.

La existencia de cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación fuera del ambiente hospitalario es una emergencia global, cuya causa se relaciona con la difusión de *E. coli* productora de CTX-M15, la cual se ha asociado con la resistencia a fluoroquinolonas (18). En este estudio, se

encontraron dos cepas con esta característica, pertenecientes al grupo filogenético B2 del clon pandémico ST131, el cual circula en Colombia conjuntamente con el ST405 desde el 2010 (19,20). Las enzimas AmpC del tipo CMY, las BLEE de tipo TEM y las SHV, detectadas en cuatro (5,9 %), seis (8,8 %) y dos (2,9 %) aislamientos, respectivamente, se han descrito en estudios sobre la aparición de la resistencia a cefalosporinas de tercera generación (21), lo cual confirma la presencia de cepas productoras de una amplia variedad de enzimas responsables de este fenómeno en la comunidad. La tipificación de los aislamientos de *E. coli* que expresaron CMY-2 en este estudio no evidenció relación clonal, quizá por su carácter esporádico. No puede desconocerse, sin embargo, que este tipo de aislamientos se ha encontrado en estudios en animales (22).

La diseminación de cepas de *K. pneumoniae* productoras de carbapenemasas del tipo KPC en la comunidad es un problema mundial, especialmente la KPC-3, encontrada en un aislamiento en este estudio, lo que ratifica la presencia de cepas de este tipo en la comunidad en Colombia, en donde el primer reporte de un brote hospitalario causado por KPC-3 fue en el 2008 (23). Hasta el momento se tenía poca información sobre su presencia fuera de los hospitales, en los cuales la segunda carbapenemasa más frecuente es la KPC-2 (24). Es aún más escasa la documentación sobre el tema en el caso específico de los pacientes diabéticos, una población muy vulnerable frente a las bacterias con expresión de estas enzimas.

No se pudo encontrar información de estudios en Colombia y en el área andina sobre la sensibilidad de los microorganismos involucrados en las infecciones urinarias de origen comunitario en diabéticos. En África, Jha, *et al.*, informaron de una resistencia a ceftriaxona de hasta 62,1 % en *E. coli* y de 46,4 % en *K. pneumoniae* en diabéticos con infección urinaria en un hospital de tercer nivel de atención,

Cuadro 2. Características de los aislamientos de *Escherichia coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación

Nº	Fenotipo	Betalactamasas	Genotipo	Grupo filogenético	ST131	Genes de resistencia
1	BLEE	SHV-12, TEM-1	EC 04	Negativo	Negativo	Negativo
2	BLEE	SHV-5	EC 03	Negativo	Negativo	Negativo
3	BLEE	TEM-1, CTM-X-15	EC 14	B2	Positivo	tetA, tetC
4	BLEE	TEM-1, CTM-X-15	EC 14	B2	Positivo	tetA, tetC
5	AmpC	CMY-2	EC 11	Negativo	Negativo	Negativo
6	AmpC	TEM-1, CMY-2	EC 16	Negativo	Negativo	Negativo
7	AmpC	TEM-1, CMY-2	EC 19	Negativo	Negativo	Negativo
8	AmpC	TEM-1, CMY-2	EC 12	Negativo	Negativo	Negativo

pero no especificaron el número de pacientes con infección adquirida en la comunidad (25). En Sudán, Hamdan, *et al.*, en una muestra pequeña de pacientes con infección adquirida en la comunidad, documentaron la ausencia de resistencia a cefalosporinas de tercera generación, con cifras menores para otros antibióticos comparadas con las encontradas en este estudio; la resistencia a ampicilina en *E. coli* fue de 6 %, a amoxicilina-clavulonato, de 9 % y a nitroflurantoína, de 3 %; en *K. pneumoniae* la resistencia a cefalexina fue de 11,1 % y a ampicilina de 22,2 % (26). En Latinoamérica, González, *et al.*, en aislamientos de *E. coli* en Cuba, encontraron una resistencia de 5,7 % a ceftriaxona, de 2,9 % a ceftazidima y de 11,4 % a cefuroxima, es decir, la mitad de la encontrada en el presente estudio; en aislamientos de *K. pneumoniae* la resistencia fue de 14,3 % para ceftriaxona y cefatizima y de 28,6 % para cefuroxima, valores cercanos a los informados en este trabajo, en tanto que no se reportó ninguna resistencia a carbapenémicos (27).

Se han señalado diferentes factores de riesgo para la infección de vías urinarias adquirida en la comunidad y causada por cepas BLEE, como el sexo masculino, la edad mayor de 65 años, el uso previo de cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas, y la diabetes mellitus (28,29), enfermedad que también aumenta la probabilidad de pielonefritis aguda (30), por lo cual en los pacientes diagnosticados con la enfermedad debe sospecharse la infección de vías urinarias y la presencia de BLEE. En algunos estudios sobre los factores de riesgo de la presencia de bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación en pacientes diabéticos con infección de las vías urinarias adquirida en la comunidad, estos no se evidenciaron, por lo cual es necesario seguir explorando el tema para establecer los factores determinantes; asimismo, debe sospecharse tempranamente este diagnóstico, con el fin de ofrecer el manejo apropiado.

Las cefalosporinas de primera generación, como la cefazolina, se utilizan a menudo en el tratamiento empírico de las infecciones de vías urinarias, lo cual explicaría la detección de una gran resistencia a este antibiótico en el presente estudio; sin embargo, todavía no son claros los valores de concentración inhibitoria mínima en pacientes con esta infección, pues los primeros trabajos que se hicieron son antiguos y este antibiótico se concentra bien en la orina, por lo que dichos resultados deben interpretarse con cautela.

En cuanto a las fluoroquinolonas, en este estudio se registró un porcentaje de 32,8 de aislamientos de *E. coli* resistentes a ciprofloxacina y de 11,1 en el caso de *K. pneumoniae*, cifras menores a las encontradas por González, *et al.*, quienes informaron una resistencia a la ciprofloxacina de 74,3 y 42,9 %, respectivamente (27); entre los factores de riesgo relacionados con este tipo de resistencia se encuentran la exposición previa a este grupo de antibióticos, ser mayor de 50 a 60 años y las anomalías de las vías urinarias (31). Con respecto a la sensibilidad de *E. coli* al trimetoprim-sulfametoxazol, otro de los antimicrobianos utilizado frecuentemente en pacientes con infección urinaria, se encontró resistencia en 44,8 % de los aislamientos, en tanto que en otros trabajos se ha reportado 57,1 % (27).

El diagnóstico oportuno de las infecciones urinarias causadas por microorganismos resistentes previene diferentes complicaciones, como la bacteriemia, la cual tiene una incidencia mayor en pacientes con diabetes mellitus en comparación con quienes no la padecen (26,8 Vs. 15,5 por cada 1.000 personas admitidas en hospitales, respectivamente) (32). De igual forma, la mortalidad, incluso fuera del hospital, es mayor en pacientes diabéticos con este tipo de infección que en los no diabéticos (riesgo relativo, RR=1,38; IC_{99%} 1,23-1,55) (33). El uso empírico de antibióticos no indicados tiene un efecto preocupante en el aumento de la resistencia bacteriana, la mortalidad, la morbilidad, la duración de la hospitalización, el uso de antibióticos de amplio espectro y los costos hospitalarios (34). Es necesario hacer estudios para determinar los factores de riesgo relacionados con la resistencia a cefalosporinas de tercera generación y carbapenémicos en pacientes diabéticos con infección de vías urinarias adquirida en la comunidad, ya que esta es la más frecuente y tiene un alto índice de morbilidad y mortalidad en este grupo de pacientes (1).

Entre las limitaciones del estudio debe mencionarse que inicialmente no fue diseñado con el objetivo de estudiar la infección de vías urinarias de origen comunitario en pacientes diabéticos; además, la información corresponde solamente a tres ciudades de Colombia, por lo cual no es posible generalizar los datos a todo el país. Asimismo, el número de muestras fue reducido, y, además, pudo haber sesgos en los antibióticos sometidos a la prueba de E-test para determinar los valores de la concentración inhibitoria mínima en lugar de usar los estándares establecidos por el CSLI.

En conclusión, los resultados de este trabajo llaman la atención sobre la circulación de cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación y productoras de carbapenemasas en las infecciones de las vías urinarias adquiridas en la comunidad en personas diabéticas, e informa sobre la sensibilidad a los antibióticos más utilizados para combatirlos. Asimismo, alerta sobre la necesidad de conocer los factores de riesgo adicionales de este tipo de infección en este grupo específico de pacientes, y la necesidad de la sospecha clínica temprana y el desarrollo de mecanismos que contribuyan a su prevención.

Agradecimientos

A Anita María Montañez por su apoyo administrativo en el desarrollo del estudio, y a la Clínica La Presentación, en Manizales, el Hospital Rosario Pumarejo, en Valledupar, y a la Clínica Universitaria Colombia, el Hospital de Occidente Kennedy E.S.E., la Clínica Juan N. Corpas, el Hospital Universitario de la Samaritana, el Hospital Universitario de San Ignacio, el Hospital Universitario Clínica San Rafael y el Hospital Santa Clara E.S.E., en Bogotá.

Conflicto de intereses

Los autores del presente manuscrito declaran no tener conflictos de intereses.

Financiación

Este proyecto de investigación fue patrocinado por una subvención de investigación independiente de Merck Sharp and Dohme.

Referencias

- Ribera MC, Pascual R, Orozco D, Pérez-Barba C, Pedrera V, Gil V. Incidence and risk factors associated with urinary tract infection in diabetic patients with and without asymptomatic bacteriuria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2006;25:389-93. <https://doi.org/10.1007/s10096-006-0148-5>
- Martínez E, Osorio J, Delgado J, Esparza GE, Mota G, Blanco VM, et al. Infecciones del tracto urinario bajo en adultos y embarazadas: consenso para el manejo empírico. *Infectio*. 2013;17:122-35. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(13\)70719-7](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(13)70719-7)
- Geerlings SE, Stolk RP, Camps MJ, Netten PM, Hoekstra JB, Bouter KP, et al. Asymptomatic bacteriuria may be considered a complication in women with diabetes. *Diabetes Mellitus Women Asymptomatic Bacteriuria Utrecht Study Group*. *Diabetes Care* 2000;23:744-9. <https://doi.org/10.2337/diacare.23.6.744>
- Nitzan O, Elias M, Chazan B, Saliba W. Urinary tract infections in patients with type 2 diabetes mellitus: Review of prevalence, diagnosis, and management. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2015;8:129-36. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S51792>
- Neal DE. Complicated urinary tract infections. *Urol Clin North Am*. 2008;35:13-22. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2007.09.010>
- Stapleton A. Urinary tract infections in patients with diabetes treated with dapagliflozin. *J Diabetes Complications*. 2013;27:473-8. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2013.05.004>
- Sobel JD, Fisher JF, Kauffman CA, Newman CA. *Candida* urinary tract infections-epidemiology. *Clin Infect Dis*. 2011;52(Suppl.6):S433-6. <https://doi.org/10.1093/cid/cir109>
- Leal AL, Cortés JA, Arias G, Ovalle MV, Saavedra SY, Buitrago G, et al. Emergencia de fenotipos resistentes a cefalosporinas de tercera generación en *Enterobacteriaceae* causantes de infección del tracto urinario de inicio comunitario en hospitales de Colombia. *Enferm Infect Microbiol Clin*. 2013;31:298-303. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.04.007>
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. Wayne: CSLI; 2014 .p. 230.
- Monstein HJ, Ostholm-Balkhed A, Nilsson MV, Nilsson M, Dornbusch K, Nilsson LE. Multiplex PCR amplification assay for the detection of *blaSHV*, *blaTEM* and *blaCTX-M* genes in *Enterobacteriaceae*. *APMIS*. 2007;115:1400-8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.00722.x>
- Woodford N, Fagan EJ, Ellington MJ. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum (beta)-lactamases. *J Antimicrob Chemother*. 2006;57:154-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dki412>
- Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*. 2002;40:2153-62. <https://doi.org/10.1128/JCM.40.6.2153-2162.2002>
- Mendes RE, Kiyota KA, Monteiro J, Castanheira M, Andrade SS, Gales AC, et al. Rapid detection and identification of metallo-beta-lactamase-encoding genes by multiplex real-time PCR assay and melt curve analysis. *J Clin Microbiol*. 2007;45:544-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.01728-06>
- Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:119-23. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.12.002>
- Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol*. 2000;66:4555-8. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000>
- Dhanji H, Doumith M, Clermont O, Denamur E, Hope R, Livermore DM, et al. Real-time PCR for detection of the O25b-ST131 clone of *Escherichia coli* and its CTX-M-15-like extended-spectrum beta-lactamases. *Int J Antimicrob Agents* 2010;36:355-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.06.007>
- Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*. 1991;19:6823-31. <https://doi.org/10.1093/nar/19.24.6823>
- Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56:52-9. <https://doi.org/10.1093/jac/dki166>

19. **Ruiz SJ, Montealegre MC, Ruiz-Garbajosa P, Correa A, Briceño DF, Martínez E, et al.** First characterization of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST131 and ST405 clones causing community-onset infections in South America. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1993-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.00045-11>
20. **Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL.** *Escherichia coli* O25b-ST131: A pandemic, multiresistant, community-associated strain. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:1-14. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq415>
21. **Woodford N, Turton JF, Livermore DM.** Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35:736-55. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00268.x>
22. **Baudry PJ, Mataseje L, Zhanel GG, Hoban DJ, Mulvey MR.** Characterization of plasmids encoding CMY-2 AmpC beta-lactamases from *Escherichia coli* in Canadian intensive care units. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;65:379-83. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.08.011>
23. **López JA, Correa A, Navón-Venezia S, Correa AL, Torres JA, Briceño DF, et al.** Intercontinental spread from Israel to Colombia of a KPC-3-producing *Klebsiella pneumoniae* strain. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17:52-6. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03209.x>
24. **Nordmann P, Naas T, Poirel L.** Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:1791-8. <https://doi.org/10.3201/eid1710.110655>
25. **Ramana BV, Chaudhury A.** Prevalence of uropathogens in diabetic patients and their resistance pattern at a tertiary care centre in south India. *Int J Biol Med Res.* 2012;3:1433-5.
26. **Hamdan HZ, Kubbara E, Adam AM, Hassan OS, Suliman SO, Adam I.** Urinary tract infections and antimicrobial sensitivity among diabetic patients at Khartoum, Sudan. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2015;14:26. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0082-4>
27. **González-Pedraza A, Dávila R, Acevedo O, Ramírez ME, Gilbaja S, Valencia C, et al.** Infección de las vías urinarias: prevalencia, sensibilidad antimicrobiana y factores de riesgo asociados en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Rev Cubana Endocrinol.* 2014;25:57-65.
28. **Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gómez L, Vidal CG, Quintana S, et al.** Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57:780-3. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl035>
29. **Kang CI, Wi YM, Lee MY, Ko KS, Chung DR, Peck KR, et al.** Epidemiology and risk factors of community onset infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol.* 2012; 50:312-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.06002-11>
30. **Park SH, Choi SM, Lee DG, Cho SY, Lee HJ, Choi JK, et al.** Impact of extended-spectrum beta-lactamase production on treatment outcomes of acute pyelonephritis caused by *Escherichia coli* in patients without health care-associated risk factors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59:1962-8. <https://doi.org/10.1128/AAC.04821-14>
31. **Seija V, Fratchez V, Ventura V, Pintos M, González M.** Factores asociados al desarrollo de infección urinaria de origen comunitario causada por *Escherichia coli* resistente a fluoroquinolonas. *Rev Chilena Infectol.* 2014;31:400-5. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182014000400004>
32. **Geerlings SE.** Urinary tract infections in patients with diabetes mellitus: Epidemiology, pathogenesis and treatment. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;31:54-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.07.042>
33. **Shah BR, Hux JE.** Quantifying the risk of infectious diseases for people with diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26:510-3. <https://doi.org/10.2337/diacare.26.2.510>
34. **Davey PG, Marwick C.** Appropriate Vs. inappropriate antimicrobial therapy. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(Suppl.3): 15-21. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.01959.x>

ARTÍCULO ORIGINAL

DetECCIÓN DE ANTICUERPOS CONTRA *Trypanosoma cruzi* EN PACIENTES MULTITRANSFUNDIDOS, COLOMBIA

Mauricio Beltrán^{1,2}, Andrea Herrera^{1,2}, Astrid Carolina Flórez^{2,3},
Maritza Berrío^{1,2}, María Isabel Bermúdez^{1,2}

¹ Coordinación Nacional de Red de Bancos de Sangre, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

² Red Chagas Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

³ Grupo de Parasitología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. La enfermedad de Chagas es un problema de salud pública en Latinoamérica y, aunque la transmisión vectorial es la más importante, deben evaluarse otras formas de transmisión, como la de las transfusiones.

Objetivo. Describir la prevalencia de infección con *Trypanosoma cruzi* en pacientes sometidos a múltiples transfusiones o multitransfundidos.

Materiales y métodos. Se detectaron anticuerpos IgG contra *T. cruzi* mediante dos inmunoensayos en muestras tomadas de pacientes sometidos a múltiples transfusiones en cuatro hospitales de Bogotá y Medellín, Colombia. Se analizó la asociación de factores de riesgo conocidos y se calcularon las razones de momios (*odds ratio*, OR) con un intervalo de confianza de 95 % (IC) utilizando el programa Stata 11™.

Resultados. Se evaluaron 479 muestras. La prevalencia de anticuerpos contra *T. cruzi* fue de 1,88 % (nueve pacientes): cinco pacientes remitidos de oncohematología, dos de hemodiálisis, uno tenía talasemia y uno había sufrido pérdida súbita y abundante de sangre. No se halló ningún paciente con hemofilia que resultara positivo, ni relación de los factores de riesgo de infección asociados con la transfusión de componentes sanguíneos, como el número de transfusiones, la cantidad de unidades de sangre y el tipo de componente, con la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Solo se encontró relación entre la infección con el virus de la hepatitis C y la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* (OR=5,68; IC_{95%} 1,36-23,63).

Conclusión. La frecuencia de infección por *T. cruzi* hallada en este grupo de pacientes sugiere que el riesgo de infección por transfusiones en Colombia es bajo. No se encontró relación entre los factores de riesgo asociados con la transfusión y la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*; transfusión sanguínea; prevalencia; factores de riesgo; anticuerpos; hemofilia A.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3177>

Detection of *Trypanosoma cruzi* antibodies in multitransfused patients in Colombia

Introduction: Chagas disease is a public health problem in Latin America. Even though vector-borne infection is the most important transmission mode for this disease, other modes such as transfusions require evaluation.

Objective: To describe the prevalence of *T. cruzi* infection in multitransfused patients.

Materials and methods: We detected IgG antibodies against *T. cruzi* by two immunoassays in samples from multitransfused patients in four hospitals located in Bogotá and Medellín, Colombia. We analyzed the association with known risk factors, and we calculated the odds ratios (OR) with 95% confidence intervals using Stata 11™ statistical software.

Results: In total, 479 samples were tested. Overall, *T. cruzi* antibody prevalence was 1.88% (nine patients). Five were onco-hematological patients, two were hemodialyzed, one had thalassemia, and one had suffered acute blood loss. We found no hemophilia patients. There was no association between known risk factors for transfusion-transmitted infection (such as the number of transfusion events, number of blood units and type of blood component) and the presence of anti-*T. cruzi* antibodies in this

Contribución de los autores:

Mauricio Beltrán, Maritza Berrío y María Isabel Bermúdez: concepto y diseño del estudio

Andrea Herrera y Astrid Carolina Flórez: montaje y análisis de las pruebas

Mauricio Beltrán: análisis de resultados

Mauricio Beltrán y Maritza Berrío: redacción del manuscrito

Todos los autores participaron en la revisión crítica del manuscrito y la aprobación final.

study. Only the hepatitis C virus infection showed a positive association with the presence of anti-*T. cruzi* antibodies (OR=5.68, 95% CI: 1.36-23.63).

Conclusions: The results of this study showed a low frequency of *T. cruzi* infection in multitransfused patients, suggesting that the risk of transfusion infection in Colombia is low. Known risk factors for transfusion-related infection were not associated with the presence of anti-*T. cruzi* antibodies.

Key words: *Trypanosoma cruzi*; blood transfusion; prevalence; risk factors; antibodies; hemophilia A.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3177>

La enfermedad de Chagas es un problema serio de salud pública en varios países de América Latina (1). En el Nuevo Mundo, la enfermedad en los humanos está presente desde hace nueve mil años, por lo menos (2,3). Su aparición está asociada con factores sociales, económicos y de política sanitaria muy bien establecidos, que dependen de la ocupación por parte del hombre de ambientes naturales en la búsqueda de medios de supervivencia y riqueza, así como de las condiciones de pobreza, de las acciones antrópicas y de relaciones nocivas de producción (2).

En su conjunto, Latinoamérica experimenta pérdidas económicas relacionadas con la morbilidad y la mortalidad causadas por la enfermedad de Chagas que ascienden a USD\$ 18.000 millones al año (4-6).

La transmisión vectorial de la infección por *T. cruzi* ocurre cuando grandes cantidades del parásito presentes en las heces del vector infectado entran al cuerpo humano a través del sitio de la picadura, de la conjuntiva o de las membranas mucosas después de que este defeca mientras se alimenta o inmediatamente después (7,8). La transmisión también puede darse por transfusión, por trasplante de órganos, por infección de madre a hijo y por la vía oral debido a la ingestión de comida o de bebidas contaminadas, situación que recientemente ha cobrado relevancia en brotes de casos agudos (9-11).

La estrategia para el control de la enfermedad de Chagas se basa en el control vectorial y de las transfusiones, así como en la detección y el tratamiento de la transmisión congénita, de los niños infectados y de los casos agudos (12).

A medida que se progresa en el control vectorial, otras fuentes de infección, como la transmisión por transfusiones, cobran mayor relevancia, sobre

todo si se considera que en las zonas urbanas del continente habita más del 70 % de la población y la mayor parte está compuesta por inmigrantes que han pasado sus primeros años de vida en zonas endémicas (13). En países como Canadá, Estados Unidos y España, que cuentan con un número importante de inmigrantes latinoamericanos provenientes de zonas endémicas para la enfermedad, la transfusión de sangre puede ser la vía más frecuente de transmisión (14,15). En Colombia, el porcentaje de pruebas reactivas para *T. cruzi* en donantes de sangre osciló entre 2,3 y 0,44 % en los años 1994 y 2004, respectivamente (16).

La primera alusión a una posible transmisión de *T. cruzi* por transfusión de sangre la hizo Mazza en 1936 en Argentina (17), y los primeros dos casos de enfermedad de Chagas adquirida por transfusión se publicaron en 1952 (17). Con excepción de los derivados sanguíneos, todos los componentes sanguíneos pueden transmitir la infección; *T. cruzi* sigue siendo viable a 4 °C durante, por lo menos, 18 días y, si se mantiene la temperatura ambiente, hasta durante 250 días (17,18). Probablemente, la baja parasitemia (menos de un parásito por 20 ml de sangre total) y la presencia concomitante de anticuerpos en la sangre de los donantes sean los responsables de la capacidad parcial de infección de este agente (17).

Se estima que el riesgo de adquirir la infección de Chagas al recibir una unidad de sangre infectada oscila entre 12 y 25 %, aunque en Bolivia se registró una probabilidad de casi 47 % (19). Estas cifras pueden incrementarse, entre otras causas, por la elevada prevalencia en la población, por el largo tiempo de latencia de la infección, que en el caso de la enfermedad de Chagas puede ser de varios años, la elevada prevalencia en donantes de sangre, la baja cobertura de la tamización de las unidades de sangre donadas, el número de unidades de sangre transfundidas, la larga supervivencia del parásito en la sangre almacenada en refrigeración, la dificultad para ubicar y confirmar los donantes reactivos sospechosos de estar infectados, y la deficiencia en los controles de calidad durante el procesamiento de la sangre y sus componentes (20-23).

Correspondencia:

Mauricio Beltrán, Coordinación Red Nacional de Bancos de Sangre, Instituto Nacional de Salud, Avenida Calle 26 N° 51-20, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (571) 221 2219, 220 7700, extensiones 1254 y 1255
mbeltrand@ins.gov.co

Recibido: 15/12/15; aceptado: 06/11/16

El control de las infecciones transmitidas por transfusión, incluida la enfermedad de Chagas, se basa en el establecimiento de controles a lo largo de la cadena de seguridad de la transfusión, desde la promoción de la donación en la población de bajo riesgo, siguiendo con la selección del donante de sangre y el control serológico, hasta la transfusión sanguínea a un receptor específico (24).

En diversos estudios se ha demostrado que en la infección chagásica crónica hay parásitos circulantes en la mitad de los casos, por lo menos, lo cual implica que hay un gran riesgo de transmisión de la enfermedad por transfusiones, pues el volumen de sangre transfundido es mayor de 250 ml (19). La prevalencia de infección por *T. cruzi* se ha analizado ampliamente en diferentes estudios eco-epidemiológicos y en la mayoría de los estudios relacionados con la sangre se ha buscado determinar la prevalencia de la infección en los donantes (14). En este sentido, en una reciente publicación se señalaba que en Latinoamérica se han reportado menos de 350 casos de infección por *T. cruzi* por transfusiones (17). Sin embargo, son escasos los estudios orientados a detectar o a informar sobre la infección con *T. cruzi* en receptores de sangre (25).

En nuestro país, no hay reportes publicados sobre la prevalencia de *T. cruzi* en los diferentes grupos de pacientes sometidos a transfusión de manera frecuente. Con este estudio se pretendió aportar información sobre la prevalencia de la infección por *T. cruzi* en pacientes multitransfundidos.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio de prevalencia en 479 pacientes multitransfundidos y con diagnóstico de enfermedades como hemofilia, insuficiencia renal con necesidad de hemodiálisis, anemia drepanocítica, talasemia, pérdida rápida y abundante de sangre o enfermedad hematológica u oncológica. Los pacientes eran atendidos en cuatro hospitales de Bogotá y Medellín. Como paciente con necesidad de múltiples transfusiones se definió a aquel que hubiera recibido diez o más unidades de sangre total o de componentes sanguíneos (plasma, plaquetas, glóbulos rojos, crioprecipitados o factores liofilizados), por lo menos, en dos ocasiones con 15 días de diferencia. No se incluyeron aquellos que presentaran infecciones transmitidas por transfusión.

Las bases de datos de los bancos de sangre de cada hospital se utilizaron como fuente de información para contactar a los pacientes por teléfono. Además, se obtuvo información de la historia clínica y mediante entrevistas con un

cuestionario que incluía variables demográficas y aquellas asociadas con el riesgo por transfusiones, como el número de transfusiones, tipo de componente, tiempo de transfusión, edad de la primera transfusión y diagnóstico. El cuestionario también incluía preguntas sobre los factores de riesgo asociados con la transmisión parenteral de agentes infecciosos, como uso de drogas intravenosas, acupuntura o tratamientos invasivos. Se consideró como periodo de exposición los años transcurridos desde la transfusión inicial según el recuerdo del paciente o la fecha consignada en su historia clínica.

Las muestras se analizaron para detectar la presencia de anticuerpos de tipo IgG contra *T. cruzi*, utilizando un inmunoensayo ELISA estandarizado y realizado por el Grupo de Parasitología de la Red Nacional de Laboratorios del Instituto Nacional de Salud y una prueba de quimioluminiscencia de tercera generación (Architect Abbott, USA), los cuales se practicaron en la coordinación de la Red Nacional de Bancos de Sangre y Servicios de Transfusión del Instituto Nacional de Salud, según recomendaciones de la casa comercial. Las muestras se consideraron positivas para anticuerpos contra *T. cruzi* cuando resultaron reactivas en las dos pruebas de tamización empleadas.

Se consignaron las variables sociodemográficas descritas en el cuestionario y se calcularon las proporciones, incluida la prevalencia de *T. cruzi*, así como las razones de momios (OR) y sus correspondientes intervalos de confianza (IC) de 95 % para establecer la posible asociación entre los factores de riesgo y la presencia de *T. cruzi*. La prueba de ji al cuadrado se empleó para evaluar la significación de tales asociaciones. Dado que en el 2005 se alcanzó el 100 % de tamización para este agente en los donantes de sangre de Colombia, la comparación se hizo con las personas que habían recibido transfusiones antes del 2004. Todos los análisis se hicieron con el paquete estadístico Stata 11™.

Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación del Instituto Nacional de Salud, según consta en el acta de la reunión del 8 de marzo de 2013, código 14-2011.

Resultados

Se analizaron las muestras de 479 pacientes multitransfundidos, de los cuales 288 (60,6 %) eran hombres. La mediana de edad fue de 43 años, 75 % de ellos era mayor de 28 años; 381 (79

%) habían cursado hasta secundaria; 288 (53,9 %) habían sido atendidos en centros médicos de Bogotá y los restantes en Medellín.

La edad promedio de la primera transfusión fue de 34 años y cada paciente recibió, en promedio, 129 unidades; 226 (47,2 %) pacientes recibieron entre 10 y 20 unidades de sangre y solamente 13 (2,71 %), todos con hemofilia, recibieron más de 1.000 unidades de sangre (cuadro 1).

En nueve pacientes se detectaron anticuerpos anti-*T. cruzi*, es decir, una proporción de 1,88 %; su promedio de edad fue de 56 años (rango: 22 a 78 años) y, de ellos, cinco eran mujeres. Con respecto a la caracterización según el diagnóstico, cinco (2,3 %) tenían cánceres del sistema sanguíneo, dos (2,4 %) recibían hemodiálisis, uno (7,1 %) tenía talasemia y uno (1,3 %) había sufrido pérdida súbita y abundante de sangre.

Los nueve pacientes recibieron transfusiones con glóbulos rojos; solamente uno recibió, además, plaquetas; todos habían recibido las transfusiones antes del 2004, pues en el 2005 se llegó al 100 % de la tamización para *T. cruzi* en los donantes. La edad promedio de la primera transfusión fue de 46 años (± 7).

Cuadro 1. Características de los pacientes en estudio sometidos a múltiples transfusiones

Variables	n	%
Sexo		
Femenino	191	30,4
Masculino	288	60,6
Nivel educativo		
Primaria	181	37,7
Secundaria	200	41,7
Técnico	37	7,7
Universitario	61	12,7
Grupo según diagnóstico		
Cánceres del sistema sanguíneo	217	45,3
Pérdida rápida y abundante de sangre	78	16,2
Anemia drepanocítica	14	2,9
Hemodiálisis	82	17,1
Hemofílicos	88	18,3
Número de unidades transfundidas		
De 10 a 20	226	47,18
Más 20 menos de 100	182	38,00
Más de 100 menos de 1.000	58	12,11
Más de 1.000	13	2,71
Exposición a transfusión		
<1 año	251	52,4
>1 año	228	47,6
Ciudad de origen		
Medellín	221	46,14
Bogotá	258	53,86

No se halló relación entre la edad o el sexo, y el riesgo de presentar la infección por *T. cruzi*. Ninguno de estos nueve pacientes tenía hemofilia. En el análisis bivariado no se encontró ninguna asociación entre la infección por *T. cruzi* y los principales factores de riesgo asociados con la infección por transfusiones, como son el número de transfusiones, el total de componentes sanguíneos transfundidos, el recibir transfusiones por más de un año y la edad de la primera transfusión (cuadro 2). En tres de estos pacientes se detectó, además, infección con el virus de la hepatitis C (OR=5,68; IC_{95%} 1,36-23,63).

Discusión

La baja prevalencia de infección por *T. cruzi* hallada en el presente estudio es similar a lo reportado en un estudio reciente en Brasil, en el cual se reportó una prevalencia de 1,3 % en personas multitransfundidas (25), y fue más baja que la estimada por Cecirola, et al. (19). Asimismo, la prevalencia fue inferior al porcentaje de 6,71 % reportado por Gamarra en pacientes colombianos sometidos a diálisis (26). En este mismo sentido, Angheben, et al., reportaron que el número estimado de pacientes con infección por *T. cruzi* transmitida por transfusión era de 300 a 800 casos, en las últimas décadas (27).

Estos resultados se explicarían por las mejoras introducidas en las prácticas de manejo de los pacientes multitransfundidos después de que se estableciera la asociación entre el HIV, la transmisión por transfusiones y la hemodiálisis en Colombia (28,29).

Por otro lado, la baja prevalencia en los donantes de sangre en el país puede deberse a la aplicación de las medidas de control de las transfusiones en los bancos de sangre, entre ellas, la selección de donantes de bajo riesgo, la recolección de sangre proveniente de donantes voluntarios y habituales, la tamización de todas las unidades donadas, la filtración de los componentes sanguíneos antes de la transfusión y la implementación de mejores prácticas de uso clínico de la sangre, incluida la disminución de transfusiones de sangre total. Además, las pruebas comerciales de tamización empleadas tienen mayor sensibilidad y especificidad. Todas estas medidas han permitido reducir el riesgo de distribuir unidades de sangre infectadas (23,30,31).

Estos hallazgos sugieren que el riesgo de adquirir la infección con *T. cruzi* por transfusión en Colombia podría ser inferior a 2 %, lo cual difiere de las

Cuadro 2. Resumen de factores de riesgo de infección por *Trypanosoma cruzi*

	Anticuerpos anti- <i>T. cruzi</i>					
	(+)	%	(-)	%	OR	OR/IC _{95%}
Grupos						
Anemia drepanocítica	1	7,1	13	92,9	3,26	0,35-29,9
Cánceres del sistema sanguíneo	5	2,3	212	97,7	1,52	0,32-7,75
Hemodiálisis	2	2,4	80	97,6	1,06	0,20-5,57
Pérdida rápida y abundante de sangre	1	1,3	77	98,7	-	-
Exposición a transfusión						
<1 año	7	2,8	244	97,2	0,30	-
>1 año	2	0,8	226	99,2	-	-

OR: odds ratio

estimaciones de estudios previos en los cuales dicho riesgo estaba entre 15 y 25 % (19). Los resultados se ven respaldados, además, con lo reportado en otro estudio en el que se estimaba que antes de 1994 podría haberse presentado el mayor número de infectados con *T. cruzi* por transfusión (1.426 pacientes), riesgo que fue disminuyendo gradualmente, y en el 2003 el número estimado de pacientes infectados ya era menor de un paciente por año (16).

Si se tiene en cuenta que la prevalencia de *T. cruzi* en donantes de sangre en Latinoamérica oscila entre 0,16 y 3,13 % (32), la situación podría ser diferente en otros países en donde no se hace rutinariamente la tamización serológica de donantes de sangre o reciben un número importante de inmigrantes provenientes de países endémicos para la enfermedad de Chagas (17).

Todos los donantes fueron transfundidos antes de la implementación total (100 %) de la tamización de *T. cruzi* en unidades donadas. Los factores de riesgo de infección por transfusiones, como el número de transfusiones, el número de unidades de sangre, y el tipo de componentes sanguíneos, no presentaron ninguna relación con la infección por *T. cruzi*.

En este estudio, no se encontró relación entre los factores de riesgo descritos y la presencia de *T. cruzi*, a diferencia de lo reportado en varios otros en torno a agentes infecciosos como los virus de las hepatitis C y B y el HIV, en los cuales estos factores constituyeron la principal fuente de transmisión (33). Se hallaron tres pacientes con infección por el virus de la hepatitis C y la presencia simultánea de anticuerpos anti-*T. cruzi*; sin embargo, estos datos deben analizarse detenidamente dado el bajo número de casos y a que podrían obedecer a reacción cruzada. Solamente un paciente recibió

plaquetas, lo cual se contrapone a algunos estudios en los cuales se ha encontrado una asociación entre la transfusión de plaquetas y la infección por *T. cruzi*, sin embargo, la mayoría de dichos reportes corresponde a lugares donde no se hace tamización rutinaria o esta no se ha implementado totalmente (34).

Entre las limitaciones del estudio cabe mencionar la representatividad de los pacientes incluidos en el estudio con respecto a la totalidad de las personas multitransfundidas en el país, aunque los hospitales incluidos son centros de atención de alta complejidad y referencia para el tratamiento de enfermedades como hemofilia, cáncer y talasemia, y donde se practica la hemo-diálisis y reciben pacientes provenientes de zonas endémicas para Chagas. Otra limitación sería los posibles sesgos de memoria con respecto a las ocasiones en que los pacientes recibieron las transfusiones. Por otra parte, las pruebas se hicieron en el Laboratorio Nacional de Referencia del Instituto Nacional de Salud, cuyo desempeño se evalúa de manera permanente con resultados excelentes, lo cual respalda la confiabilidad y validez de los resultados.

Algunos de estos pacientes podrían haber estado expuestos a factores de riesgo de transmisión de la infección por *T. cruzi* no determinados en este estudio, como son el lugar de nacimiento y la residencia en zonas endémicas durante periodos cuya duración puede estar sujeta a sesgos de memoria o de otro tipo, condición que podría llevar a sobreestimar la seroprevalencia de la infección, por lo cual la transmisión por transfusiones podría ser incluso más baja que la aquí se presenta.

Considerando que todos los pacientes analizados habían recibido las transfusiones antes de 2004, se recomienda mantener las estrategias de control

de la sangre destinada a la transfusión y hacer seguimiento a quienes recibieron múltiples transfusiones en los años posteriores.

Agradecimientos

Al grupo Epiblood Colombia, en cuyo estudio anterior, financiado con fondos de la Fundación Bill y Melinda Gates a través de la Organización Panamericana de la Salud, se recolectaron las muestras del grupo de pacientes analizado en este.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiación

Contrato de financiación RC-380 2011 celebrado entre Colciencias y la Unión Temporal Programa Nacional de Investigación para la Prevención, Control y Tratamiento Integral de la Enfermedad de Chagas en Colombia.

Referencias

- Organización Mundial de la Salud.** Control de la enfermedad de Chagas: informe de un comité de expertos de la OMS. Series de Informes Técnicos 811. Ginebra; WHO: 1991. Fecha de consulta: 25 de febrero de 2015. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/38610/1/924320811_spa.pdf
- Guhl F, Jaramillo C, Vallejo GA, Yockteng R, Cárdenas-Arroyo F, Fornaciari G, et al.** Isolation of *Trypanosoma cruzi* DNA in 4,000-year-old mummified tissue from north Chile. *Am J Phys Anthropol.* 1999;108:401-7. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8644\(199904\)108:4<401::AID-AJPA2>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8644(199904)108:4<401::AID-AJPA2>3.0.CO;2-P)
- Aufderheide A, Salo W, Madden M, Streitz J, Buikstra J, Guhl F, et al.** A 9000-year record of Chagas disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:2034-9. <https://doi.org/10.1073/pnas.0307312101>
- Pinto-Dias JC.** Tendencias sociales de la enfermedad de Chagas para las próximas décadas. *Salud Colectiva.* 2012;8:S39-48.
- Bravo J, Medici A.** Estimaciones indirectas de la prevalencia y mortalidad por enfermedad de Chagas, malaria y tuberculosis en Bolivia: dos aplicaciones a la evaluación de programas de salud. Centro Latinoamericano y Caribeño de Demografía (CELADE), Banco Interamericano de Desarrollo (BID). Fecha de consulta: 20 de febrero de 2015. Disponible en: http://www.cepal.org/publicaciones/xml/2/5432/LCG.2062_p5.pdf.
- Organización Panamericana de la Salud.** Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas. OPS/HDM/CD/425-06. Fecha de consulta: 16 de febrero de 2016. Disponible en: <http://www.bvsops.org.uy/pdf/chagas19.pdf>
- Bern C, Montgomery SP.** An estimate of the burden of Chagas disease in the United States. *Clin Infect Dis.* 2009;49:e52-4. <https://doi.org/10.1086/605091>
- Rassi A Jr, Rassi A, Marín-Neto JA.** Chagas disease. *Lancet.* 2010;375:1388-402. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60061-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60061-X)
- Silveira A.** Factores de riesgos implicados en la transmisión oral de la enfermedad de Chagas. En: Unidad Regional de Prevención y Control de Enfermedades Transmisibles-DPC/CD/CHA, Grupo Técnico Especializado en Inocuidad de Alimentos-DPC/VP/FOS. Informe final consulta técnica en epidemiología, prevención y manejo de la transmisión de la enfermedad de Chagas como enfermedad transmitida por alimentos (ETA). OPS/OMS. Fecha de consulta: 25 de noviembre de 2014. Disponible en: http://bvs1.panaftosa.org.br/local/file/textoc/informe_eta.pdf
- Werner B, Heitmann I, Jercic M, Jofré L, Muñoz P, Noemí I, et al.** Guías clínicas de la enfermedad de Chagas: Parte II. Enfermedad de Chagas en el adulto, la infancia y adolescencia. *Rev Chil Infect.* 2008;25:194-9. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182008000300009>
- Nicholls RS, Cucunubá ZM, Knudson A, Flórez AC, Montilla M, Puerta C, et al.** Enfermedad de Chagas aguda en Colombia, una entidad poco sospechada. Informe de 10 casos presentados en el periodo 2002 a 2005. *Biomédica.* 2007;27(Supl.1):8-177. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i1.244>
- Organización Panamericana de la Salud.** H-77 XII Reunión de la Comisión inter gubernamental de la iniciativa de los países de Centroamérica. C.H. (IPCA) para la interrupción de la transmisión vectorial, transfusional y atención médica de la enfermedad de Chagas/Honduras 616.9363. Fecha de consulta: 25 de noviembre de 2015. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=15382&Itemid=
- Storino R, Auger S, Caravello O, Urrutia MI, Sanmartino M, Jörg M.** Cardiopatía chagásica en pacientes de área endémica versus contagiados en forma ocasional. *Rev Saúde Pública.* 2002;36:755-8. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102002000700016>
- Flores-Chávez M, Fernández B, Puente S, Torres P, Rodríguez M, Monedero C, et al.** Transfusional Chagas disease: Parasitological and serological monitoring of an infected recipient and blood donor. *Clin Infect Dis.* 2008;46:44-7. <https://doi.org/10.1086/527448>
- Stimpert K, Montgomery S.** Physician awareness of Chagas disease, USA. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:871-2. <https://doi.org/10.3201/eid1605.091440>
- Beltrán M, Bermúdez M, Forero M, Ayala M, Rodríguez M.** Control de la enfermedad de Chagas transfusional en Colombia. Primer Taller Internacional sobre Control de la Enfermedad de Chagas. Bogotá, D.C.: Universidad de los Andes; 2005. p. 80-5.
- Wendel S.** Transfusion transmitted Chagas disease: Is it really under control? *Acta Trop.* 2010;115:28-34. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.12.006>
- Schmunis GA.** Prevention of transfusional *Trypanosoma cruzi* infection in Latin America. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1999;94:93-101. <https://doi.org/10.1590/S0074-0276199900700010>
- Cerisola J, Rabinovich A, Álvarez M, Di Corleto A, Pruneda J.** Enfermedad de Chagas y la transfusión de sangre. *Bol Of Sanit Panam.* 1972;63:203-21.

20. **Wendel S, Gonzaga A.** Chagas disease and blood transfusion: A new world problem? *Vox Sang.* 1993;64:1-12. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1993.tb02507.x>
21. **Moraes-Souza H, Bordin JO.** Strategies of prevention of transfusion-associated Chagas disease. *Transfus Med Rev.* 1996;10:161-70. [https://doi.org/10.1016/S0887-7963\(96\)80057-5](https://doi.org/10.1016/S0887-7963(96)80057-5)
22. **Behrend M, Kroeger A, Beltrán M, Restrepo M.** Control de la enfermedad de Chagas en bancos de sangre de Colombia. *Biomédica.* 2002;22:39-45. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22i1.1138>
23. **Schmunis GA, Cruz JR.** Safety of the blood supply in Latin America. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:12-29. <https://doi.org/10.1128/CMR.18.1.12-29.2005>
24. **Cruz R, Pérez-Rosales MD.** Availability, safety, and quality of blood for transfusion in the Americas. *Rev Panam Salud Pública.* 2003;13:103-10. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892003000200010>
25. **De Paula E V, Gonçalves NSL, Xueref S, Addas-Carvalho M, Gilli SC, Angerami RN, et al.** Prevalence of transfusion-transmitted Chagas disease among multitransfused patients in Brazil. *BMC Infect Dis.* 2008;8:5. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-8-5>
26. **Gamarra-Hernández G, Díaz J, León C, León S.** Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes tratados con diálisis crónica en Colombia. *Acta Méd Colomb.* 1998;23:50-7.
27. **Angeben A, Boix L, Buonfrate D, Gobbi F, Bisoffi Z, Pupella S, et al.** Chagas disease and transfusion medicine: A perspective from non-endemic countries. *Blood Transfus.* 2015;13:540-50. <http://doi.org/10.2450/2015.0040-15>
28. **Bautista L, Orostegui M.** Atención dental asociada a un brote de infección por VIH en pacientes en diálisis. *Rev Panam Salud Pública.* 1997;2:319-27. <https://doi.org/10.1590/S1020-49891997001100004>
29. **Mantilla CJ.** Responsabilidad estatal por contaminación VIH transfusional. *Revista Médico Legal.* 2005;27:36-9.
30. **Farrugia A.** The mantra of blood safety: Time for a new tune? *Vox Sang.* 2004;86:1-7. <https://doi.org/10.1111/j.0042-9007.2004.00386.x>
31. **World Health Organization.** Screening donated blood for transfusion-transmissible infections. Recommendations. 2009. Fecha de consulta: 25 de noviembre de 2014. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547888_eng.pdf?ua=1
32. **Organización Panamericana de la Salud.** Suministro de sangre para transfusiones en los países de Latinoamérica y del Caribe 2010 y 2011. Washington, DC: OPS; 2013. Fecha de consulta: 25 de noviembre de 2014. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_details&gid=22466&Itemid=270&lang=fr
33. **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:S33-8. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(05\)80032-0](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(05)80032-0)
34. **Kessler DA, Shi PA, Vecilla ST, Shaz BH.** Results of lookback for Chagas disease since the inception of donor screening at New York Blood Center. *Transfusion.* 2013;53:1083-7. <https://doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03856.x>

ARTÍCULO ORIGINAL

Perfiles de poliparasitismo intestinal en una comunidad de la Amazonia colombiana

Julián A. Fernández-Niño¹, Claudia I. Astudillo-García², Laura María Segura³, Natalia Gómez³,
Ángela Skantria Salazar³, Juan Hember Tabares³, Cristian Andrés Restrepo³,
Miguel Ángel Ruiz³, Myriam Consuelo López³, Patricia Reyes³

¹ Departamento de Salud Pública, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

² Escuela de Salud Pública de México, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México

³ Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá D.C., Colombia

Introducción. Las infecciones parasitarias y el poliparasitismo intestinal son muy prevalentes en las poblaciones más vulnerables de los países en desarrollo debido a la existencia de factores ambientales, biológicos y sociales determinantes en la transmisión de parásitos. La población entre uno y 15 años de edad es la más afectada por dicha situación.

Objetivo. Describir las prevalencias y los perfiles del poliparasitismo intestinal en la población de uno a 15 años de edad de comunidades indígenas de la Amazonia colombiana.

Materiales y métodos. Se hizo un muestreo no probabilístico de 300 niños entre uno y 15 años de edad, procedentes de varios asentamientos rurales y de la cabecera urbana de Puerto Nariño, Amazonas, quienes participaron voluntariamente en el estudio. Las muestras de materia fecal se analizaron mediante el método directo (solución salina al 0,85 % y lugol) y la técnica de Kato-Katz. Se determinaron los perfiles más prevalentes de poliparasitismo intestinal con el coeficiente kappa de Cohen y un intervalo de confianza de 95 %.

Resultados. La prevalencia de poliparasitismo, definida como la presencia de, por lo menos, dos parásitos intestinales patógenos, fue de 84 % (IC_{95%}: 79,35-87,96). Los casos con presencia de dos o tres agentes incluyeron los parásitos *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Blastocystis* sp., los ancilostomídeos *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, así como *Entamoeba histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii* del complejo *Entamoeba*, y fueron los de mayor prevalencia.

Conclusión. Se encontraron varios perfiles de poliparasitismo intestinal, aunque la mayoría de los casos involucraron menos de seis especies. Una mejor estimación de la prevalencia y los factores determinantes del poliparasitismo intestinal permitirían priorizar y orientar los recursos para su control.

Palabras clave: parasitosis intestinales; helmintiasis; coinfección; parásitos; comorbilidad; epidemiología; prevalencia; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3395>

Profiles of intestinal polyparasitism in a community of the Colombian Amazon region

Introduction: Intestinal parasite infections and polyparasitism are highly prevalent in the most vulnerable populations of developing countries due to environmental, biological and social determinants common in the transmission of parasites. Children between 1 and 15 years of age are the most affected population.

Objective: To describe the prevalence and profiles of intestinal polyparasitism in 1 to 15 year-old children from native communities in the Colombian Amazon region.

Materials and methods: We used a non-probability sampling of 300 children between 1 and 15 years of age from several rural settlements and the main urban area of Puerto Nariño, Amazonas, Colombia, who participated voluntarily in the study. We obtained fecal samples that were analyzed by the direct method (0.85% saline solution-lugol) and the Kato-Katz technique. The most prevalent polyparasitism profiles were identified using Cohen's kappa coefficient with a 95% confidence interval.

Results: The prevalence of polyparasitism, defined as the presence of at least two intestinal pathogenic parasites, was 84% (95 % CI: 79.35-87.96). Polyparasitism by two or three of the following parasites:

Contribución de los autores:

Myriam Consuelo López: diseño del estudio, coordinación de la investigación y del trabajo de campo

Julián A. Fernández-Niño y Claudia I. Astudillo-García: análisis estadísticos

Myriam Consuelo López, Julián A. Fernández-Niño, Claudia I. Astudillo-García y Patricia Reyes: redacción del manuscrito

Todos los autores contribuyeron al análisis y la interpretación de la información, la discusión y la aprobación final del manuscrito.

Ascaris lumbricoides, *Trichuris trichiura*, *Blastocystis* sp., *Ancylostoma duodenale* and *Necator americanus* from the Ancylostomatidae family, and *Entamoeba histolytica*, *E. dispar* and *E. moshkovskii* of the *Entamoeba* complex, had the highest prevalence.

Conclusion: Several intestinal polyparasitism profiles were found, although in most cases fewer than six parasites were involved. Better prevalence estimations and identification of determinant factors will allow to prioritize and direct resources to control these infections.

Key words: Intestinal diseases, parasitic; helminthiasis; coinfection; parasites; comorbidity; epidemiology; prevalence; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3395>

Las infecciones parasitarias intestinales siguen siendo muy prevalentes en las poblaciones más vulnerables de los países en desarrollo, especialmente en las áreas rurales, en las cuales los porcentajes de necesidades básicas insatisfechas son más altos (1,2). Las estimaciones más recientes han señalado que en el 2010 existían en el mundo más de 1.450 millones de personas infectadas con, por lo menos, una especie de nematodos intestinales, lo que se traduce en una pérdida anual de 5,18 millones de años de vida ajustados por discapacidad (2), siendo esta prevalencia mucho mayor si se consideran, además, los protozoos intestinales patógenos (1).

Se estima que alrededor de mil millones de niños viven en áreas donde la prevalencia de geohelminthos es superior a 20 %, y de ellas, 13 % se encuentra en Latinoamérica y el Caribe (3), lo cual se debe, principalmente, a las condiciones de pobreza, el saneamiento inadecuado, el hacinamiento, al hecho de darse en zonas rurales (4), así como a los bajos niveles de educación, la falta de acceso a los servicios de salud (1) y las deficiencias nutricionales (5). Estas infecciones, y en general las causadas por parásitos intestinales, son una importante causa de anemia, dolor abdominal, y diarrea (3) e, incluso, incidirían en la presencia de alteraciones del desarrollo cognitivo y en el desempeño escolar (6,7). La población en edad escolar es la más vulnerable y presenta las prevalencias más altas debido a varios factores, como la falta de hábitos higiénicos adecuados, el bajo nivel de escolaridad y, en general, la presencia de necesidades básicas insatisfechas (8,9).

Según la Encuesta Nacional de Parasitismo Intestinal en Población Escolar, 2012-2014 (10), en Colombia, el departamento de Amazonas presentó

la mayor prevalencia de *Ascaris lumbricoides* (58 %) y de ancilostomídeos (35,7 %), y ocupó la segunda posición con respecto a la prevalencia de *Trichuris trichiura* (50,0 %).

En la mayoría de las encuestas poblacionales en zonas indígenas del país (11), se han reportado, ante todo, las prevalencias de cada parásito por separado, así como sus principales factores de riesgo y, por ello, en pocos estudios se reportan la prevalencia de las infecciones simultáneas con varios parásitos y, mucho menos, los perfiles de interacción entre ellos, y pasan por alto la concurrencia de una o más especies de geohelminthos, fenómeno conocido como poliparasitismo, cuya prevalencia es elevada (12-14).

El poliparasitismo intestinal también se considera como la infección simultánea con varios helmintos gastrointestinales y protozoos (9), y es el resultado de la conjunción de factores determinantes ecológicos y medioambientales, de las rutas de infección, la exposición del huésped y la propensión, así como de factores conductuales y socioeconómicos que facilitan la concurrencia de diversos parásitos (2). Estas complejas interacciones dificultan su estudio y manejo clínico, pero también, plantean la posibilidad de diseñar estrategias integrales de control que actúen simultáneamente sobre los factores determinantes comunes a varias parasitosis.

La necesidad de un análisis detallado de los perfiles de poliparasitismo intestinal radica en los efectos clínicos que presenta la infestación simultánea, ya que se ha observado una mayor morbilidad comparada con la de la infestación con un solo parásito y, además, puede incrementar la propensión frente a otras infestaciones (15-17) y, en consecuencia, el efecto negativo en el estado nutricional y la morbilidad general (15,16) e, incluso, en las tasas de reinfestación y en la reacción inmunitaria después del tratamiento (12).

El poliparasitismo intestinal en niños es un fenómeno muy extendido (9). En un estudio de niños de ambientes rurales de Malasia, se reportó una

Correspondencia:

Myriam Consuelo López, Laboratorio de Parasitología, Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, Carrera 30 N° 45-03, edificio 471, oficina 302, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (+571) 316 5000, extensión 15033
mclopezp@unal.edu.co

Recibido: 08/06/16; aceptado: 06/11/16

prevalencia de 71,4 %, la cual fue significativamente más alta en los menores de 10 años cuyas madres tenían un bajo nivel de escolaridad y menos ingresos, y que no contaban con baño en el hogar, así como en niños que no se lavaban las manos antes de comer (17). En otro estudio en niños menores de 10 años de las comunidades indígenas misak, inga, kofán, nasa, quichua y yanacona residentes en Cali, Colombia, 52,1 % de ellos presentó poliparasitismo intestinal (18), siendo esta prevalencia más alta que la reportada a nivel nacional para cualquier parásito patógeno tomado por separado.

Dado que las comunidades marginadas son las más expuestas a los factores determinantes comunes del poliparasitismo intestinal (2), en este estudio se planteó como objetivo describir su prevalencia y determinar sus principales perfiles en niños de las siguientes comunidades indígenas del municipio de Puerto Nariño, Amazonas: Puerto Nariño, San Juan del Socó, Villa Andrea y Nuevo Paraíso, ubicados en una región considerada endémica.

Materiales y métodos

Lugar de estudio y población

Se seleccionaron tres asentamientos rurales ubicados sobre la ribera del río Loretoyacu: San Juan del Socó, San José de Villa Andrea y Nuevo Paraíso, pertenecientes a la jurisdicción de la Asociación de Autoridades Indígenas del Resguardo Tikuna-

Cocama-Yagua (ATICOYA) de los municipios de Puerto Nariño y Leticia, así como la cabecera urbana del municipio de Puerto Nariño, ubicada sobre la ribera del mismo río, cerca de la desembocadura del río Amazonas.

El municipio de Puerto Nariño se ubica en el extremo suroriental de Colombia, en el sector denominado Trapecio Amazónico, y es el segundo municipio más poblado del departamento del Amazonas. Limita al noroccidente y el sur con la República del Perú y con el río Amazonas, al norte, con el corregimiento de Tarapacá y, al oriente, con el municipio de Leticia. Tiene una altitud entre 70 y 120 msnm, una precipitación promedio anual entre 2.600 y 3.000 mm, y una temperatura promedio de 26 °C. Su extensión aproximada es de 154'160.290 hectáreas, de las cuales 69 (0,044 %) corresponden al área urbana y, el resto, a la zona rural.

El municipio está conformado por 22 asentamientos humanos, de los cuales 21 corresponden al resguardo Tikuna, Cocama y Yagua, y el otro está ubicado en el casco urbano. La población asentada en el territorio pertenece mayoritariamente a los pueblos indígenas tikuna, cocama y yagua, con cerca de 5.620 personas, y se distribuye a lo largo del río Amazonas y de sus tributarios, los ríos Atacuarí, Boyahuasú, Loretoyacu y Amacayacu (19), según se aprecia en el mapa de la figura 1.

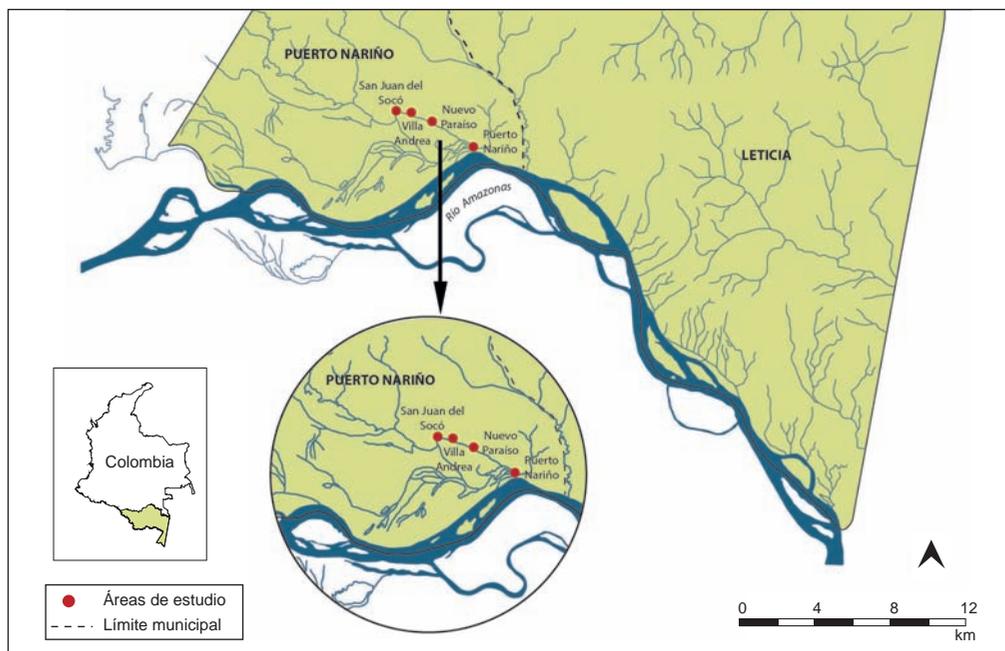


Figura 1. Mapa del área de estudio localizada en el Trapecio Amazónico de Colombia. Los puntos rojos en la figura corresponden a las áreas estudiadas.

Diseño de estudio

Se hizo un estudio de corte transversal descriptivo con un muestreo no probabilístico de la población entre uno y 15 años de edad en las distintas comunidades que decidieron participar voluntariamente. La convocatoria se presentó en un foro comunitario en el cual se explicó el objetivo del trabajo, y se invitó a las comunidades indígenas a participar en el estudio y a convidar a otros miembros de la comunidad de la misma edad.

Procedimiento de campo y laboratorio

Se recolectaron 300 muestras de materia fecal de quienes aceptaron participar en la investigación; la participación voluntaria y la edad fueron los criterios de inclusión. No se evaluó la presencia de síntomas en los pacientes y se excluyeron las personas que habían recibido medicamentos antiparasitarios en el último mes.

A los participantes se les dio un recipiente plástico, sin preservativos, para entregar las muestras. Estas se fijaron con solución de acetato de sodio-ácido acético-formalina (SAF) y se examinaron individualmente con microscopía de luz mediante el método de Kato-Katz (20,21). Se registró el sexo, la edad y la zona de procedencia de cada participante. Dadas las condiciones logísticas para el trabajo de campo, no se pudieron medir otras variables. Las muestras fueron analizadas por un investigador experto que no conocía la identidad de los niños.

Análisis estadístico

Las variables cualitativas se expresaron como proporciones y, las cuantitativas, como medidas de tendencia central (media y mediana) y de dispersión (desviación estándar y rango intercuartílico). Las prevalencias de poliparasitismo, definido como dos o más parásitos patógenos, por sexo y grupo de edad se compararon usando la prueba exacta de Fisher, y el número de parásitos con las mismas variables, mediante las pruebas no paramétricas de la U de Mann Whithney y de Kruskal-Wallis. En esta última, se aplicó la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples (22).

Se elaboró una matriz de correlación tetracórica (23,24), específicamente diseñada para evaluar la correlación entre reactivos dicotómicos. Los parásitos patógenos que presentaron al menos una correlación estadísticamente significativa con algún otro, se utilizaron para la posterior construcción de los perfiles de díadas y tríadas. Se evaluó el porcentaje de concordancia y el coeficiente kappa de

todos estos perfiles, comparando las concordancias de infección simultánea observadas con las esperadas por azar. Para el caso de las tríadas, se usó un coeficiente kappa para concordancias múltiples.

Por último, se estimó la prevalencia de cada díada o tríada construida con sus respectivos intervalos de confianza de 95 % (IC_{95%}). Los cuartetos, los quintetos y otras conjunciones superiores tuvieron prevalencias menores de 0,5 %, por lo cual no se analizaron. En todos los análisis se empleó el programa Stata 13™ (Stata Corp LP, College Station, TX, USA).

Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, el cual se rige por la Resolución N° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia (25), y los principios de la Asamblea Médica Mundial expuestos en su Declaración de Helsinki de 1964 (26). Se consideró que la presente investigación se ajustaba a los estándares de buenas prácticas clínicas y que se habían tomado las medidas adecuadas para la protección de los sujetos humanos. Asimismo, se obtuvo el consentimiento informado firmado por los padres o tutores de los menores, y se solicitó el permiso de los representantes de las comunidades indígenas.

Los participantes en el estudio no recibieron ningún incentivo económico y todos recibieron tratamiento de acuerdo con los resultados del laboratorio y según los esquemas vigentes en el país (27).

Resultados

Se analizaron 300 muestras de igual número de participantes, con una mediana de edad de siete años y un rango intercuartílico de cuatro a 11 años; 51,2 % (n=152) de los participantes era de sexo femenino. La distribución por comunidad fue la siguiente: Puerto Nariño, 49,3 % (n=148); San Juan del Socó, 26 % (n=78); Villa Andrea, 14,3 % (n=43), y Nuevo Paraíso, 10,3 % (n=31).

La prevalencia de parasitosis múltiple, definida como la presencia de, por lo menos, dos parásitos intestinales patógenos, fue de 84 % (IC_{95%} 79,35-87,96). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el número de parásitos patógenos por sexo (U de Mann Whithney: $p>0,10$), ni tampoco en la prevalencia de poliparasitismo entre niños y niñas (prueba exacta de Fisher: $p>0,10$), pero sí se encontraron diferencias estadísticamente

significativas en el número de parásitos patógenos por grupos de edad y en la prevalencia de poli-parasitismo (prueba exacta de Fisher: $p < 0,10$). En el análisis de Kruskal-Wallis para comparaciones múltiples con corrección de Bonferroni, las diferencias se dieron específicamente entre los menores y los mayores de cinco años (Kruskal-Wallis para cada par: $p < 0,01$) de forma constante en ambos sexos. En la figura 2 se presenta la distribución del número de parásitos intestinales por sexo y grupo de edad.

En el cuadro 1 se presenta la matriz de correlación tetracórica de los 15 parásitos; aquellas concordancias estadísticamente significativas, cuyo resultado fue mayor que el esperado por azar y, por ello, se consideraron en la construcción de los perfiles, aparecen marcadas con asterisco.

En el cuadro 2 se presentan las díadas con significación estadística en la matriz de correlación; se observa que la infección concomitante más frecuente fue la producida por *A. lumbricoides* y *T. trichiura*, con 34,7 % (IC_{95%} 29,5-40,3) del total de la muestra, así como la producida por *T. trichiura* y *Blastocystis* sp., con 22,3 % (IC_{95%} 17,9 -27,4).

Por último, en el cuadro 3 se presentan las tríadas de parásitos patógenos, entra las cuales las más prevalentes fueron las compuestas por *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y *Blastocystis* sp., con 13,7 % (IC_{95%} 10,2-18,1), la de *A. lumbricoides*,

T. trichiura y ancilostomídeos, con 13,0 % (IC_{95%} 10,0-17,3), y la de *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y el complejo *Entamoeba*, con 10,3 % (IC_{95%} 7,3-14,3).

La caracterización de los perfiles se repitió para niños y niñas, y no se encontraron diferencias en las prevalencias por perfil. Estos resultados, al igual que por grupos de edad, no se presentan dado que se incrementa sustancialmente el error estándar de las estimaciones.

Discusión

La prevalencia estimada de poliparasitismo, definida como la presencia de, por lo menos, dos parásitos intestinales patógenos, fue de 84,0 % sin diferencias estadísticamente significativas por sexo, aunque sí fue mayor en los niños de más de cinco años.

Los perfiles del poliparasitismo, presentados como díadas y tríadas, estuvieron conformados principalmente por las combinaciones de *A. lumbricoides*, *T. trichiura*, *Blastocystis* sp., ancilostomídeos y el complejo *Entamoeba*.

En otros estudios similares, por ejemplo el realizado por Muñoz-Antoli, et al. (28) en una muestra de 382 niños de edades entre los dos y los 15 años en dos municipios de Nicaragua, se reportó una prevalencia de poliparasitismo de 85,4 %, con mayores porcentajes en niñas, en el grupo de edad de seis a 11 años, y, sobre todo, en quienes vivían en zonas rurales. En otro estudio en 257 preescolares, escolares y adolescentes venezolanos en situación de pobreza, se reportó una prevalencia de 46 % (29), y en comunidades similares mexicanas fue de 66 % en una muestra de 260 niños en edad escolar (seis a 10 años) en el estado de Sinaloa y, de 54 %, en el estado de Oaxaca (30).

En otros estudios en comunidades indígenas en el país, se han encontrado altas prevalencias de poliparasitismo, como en el caso del resguardo indígena de Cañamomo-Lomapieta (83,2 %) en los municipios de Supía y Riosucio, departamento de Caldas (11). Este es uno de los resguardos más antiguos de Colombia; cuenta con una comunidad mayoritariamente indígena derivada históricamente de los vestigios de las minas ubicadas a lo largo del río Arma; a diferencia de la Amazonia, este resguardo tiene hoy una economía centrada en la agricultura, ya que las condiciones climáticas del lugar (temperatura media propia del bosque tropical andino y menor humedad relativa que el Amazonas) permiten sembrar el café y otros granos (11).

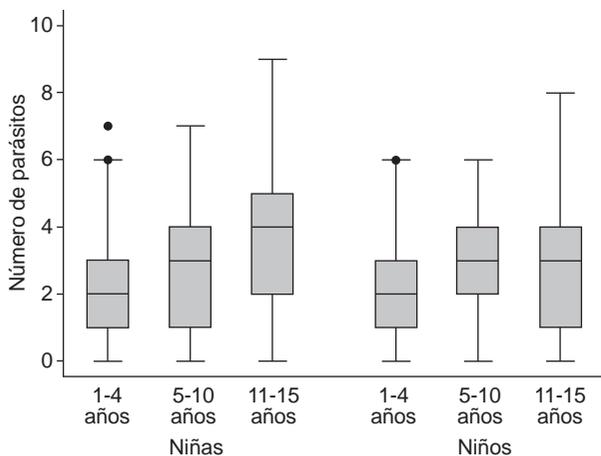


Figura 2. Distribución del número de parásitos patógenos en población de uno a 15 años de Puerto Nariño, Amazonas, Colombia, 2014.

No se encontraron diferencias significativas en el número de parásitos por sexo (U de Mann-Whitney: $p > 0,05$). Se encontraron diferencias por grupo de edad, y la prevalencia y el número de parásitos fueron mayores en los niños de ambos sexos de más de cinco años (U de Kruskal-Wallis: $p < 0,01$).

Cuadro 1. Matriz de correlación tetracórica entre parásitos intestinales en población de uno a 15 años de edad de Puerto Nariño, Amazonas, Colombia, 2014

Especies	<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Trichuris trichiura</i>	Ancilostomídeos**	<i>Hymenolepis nana</i>	<i>Taenia</i> sp.	<i>Chilomastix</i> sp.	<i>Giardia intestinalis</i>	Complejo <i>Entamoeba</i> ***	<i>Escherichia coli</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Iodamoeba bütschlii</i>	<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Blastocystis</i> sp.	<i>Cystoisospora belli</i>	<i>Myxobolus</i> sp.
<i>A. lumbricoides</i>	1,00														
<i>T. trichiura</i>	0,54*	1,00													
Ancilostomídeos**	0,45*	0,52*	1,00												
<i>H. nana</i>	0,37	1,00	0,00	1,00											
<i>Taenia</i> sp.	1,00	1,00	-1,00	-1,00	1,00										
<i>Chilomastix</i> sp.	0,07	0,44*	0,35*	0,47	-1,00	1,00									
<i>G. intestinalis</i>	-0,11	-0,12	-0,07	-0,02	-1,00	0,06	1,00								
Complejo <i>Entamoeba</i> ***	0,23*	0,27*	0,31*	-0,01	-1,00	0,44*	0,03	1,00							
<i>E. coli</i>	0,26*	0,33*	0,28*	-0,16	1,00	0,45*	0,11	0,57*	1,00						
<i>E. nana</i>	0,05	0,35*	0,28*	-1,00	1,00	0,28*	-0,11	0,33*	0,39*	1,00					
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	0,19	0,18	-0,13	-1,00	-1,00	0,48*	-1,00	0,48*	0,05	0,40*	1,00				
<i>E. hartmanni</i>	1,00	1,00	-1,00	-1,00	-1,00	0,37	-1,00	1,00*	0,00	0,49	0,59	1,00			
<i>Blastocystis</i> sp.	0,14	0,12	-0,02	-0,18	1,00	0,20	0,19	0,34*	0,39*	0,19	0,02	-1,00	1,00		
<i>C. belli</i>	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	-1,00	1,00	
<i>Myxobolus</i> sp.	0,06	-0,11	0,08	-1,00	-1,00	-1,00	0,17	-0,07	0,00	-1,00	-1,00	-1,00	0,08	-1,00	1,00

* p<0,05

Ancilostomídeos: *A. duodenale* y *N. americanus**Complejo *Entamoeba*: *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii***Cuadro 2.** Principales díadas de parásitos patógenos en población de entre uno y 15 años de edad de Puerto Nariño, Amazonas, Colombia, 2014

Díada	Casos observados	Casos esperados	Porcentaje de acuerdo observado	Porcentaje de acuerdo esperado	Kappa	p	Prevalencia	IC _{95%}
<i>Ascaris lumbricoides</i> + <i>Trichuris trichiura</i>	104	77,8	66,7	49,0	0,346	0,00	34,7	29,5-40,3
<i>T. trichiura</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	67	63	50,2	47,5	0,051	0,16	22,3	17,9-27,4
<i>A. lumbricoides</i> + <i>Blastocystis</i> sp.	53	47,6	55,2	51,5	0,076	0,09	17,7	13,7-22,4
<i>T. trichiura</i> y ancilostomídeos	50	34,2	55,2	44,6	0,192	0,00	16,7	12,8-21,3
<i>T. trichiura</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	45	37,1	50,2	44,9	0,096	0,01	15,0	11,4-19,5
<i>A. lumbricoides</i> y ancilostomídeos	41	25,8	63,6	53,4	0,219	0,00	13,7	10,2-18,1
<i>A. lumbricoides</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	35	28	57,9	53,2	0,101	0,02	11,7	8,5-15,8
Complejo <i>Entamoeba</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	35	22,7	66,3	58,1	0,197	0,00	11,7	8,5-15,8
<i>T. trichiura</i> y <i>Giardia intestinalis</i>	34	38,9	41,7	45,0	-0,060	0,91	11,3	8,2-15,5
<i>G. intestinalis</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	31	23,8	62,6	58,8	0,115	0,02	10,3	7,3-14,3
<i>A. lumbricoides</i> y <i>G. intestinalis</i>	25	29,3	50,2	53,1	-0,062	0,88	8,3	5,7-12,1
Ancilostomídeos y complejo <i>Entamoeba</i>	20	12,3	72,7	67,5	0,159	0,00	6,7	4,3-10,1
Ancilostomídeos y <i>Blastocystis</i> sp.	20	20,9	57,9	58,5	-0,014	0,61	6,7	4,3-10,1
<i>G. intestinalis</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	16	14	67,3	66,0	0,039	0,24	5,3	3,3- 8,5
Ancilostomídeos y <i>G. intestinalis</i>	11	12,9	65,7	66,9	-0,038	0,74	3,7	2,0- 6,5
<i>T. trichiura</i> e <i>Hymenolepis nana</i>	5	2,9	42,8	41,4	0,024	0,03	1,7	0,7- 3,9
<i>A. lumbricoides</i> e <i>H. nana</i>	4	2,2	56,6	55,4	0,027	0,05	1,3	0,5- 3,5
Ancilostomídeos e <i>H. nana</i>	1	1	79,5	79,5	0,001	0,49	0,3	0,05- 2,3
<i>H. nana</i> y <i>G. intestinalis</i>	1	1,1	76,8	76,8	-0,003	0,55	0,3	0,0- 2,3
<i>H. nana</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	1	1,1	77,8	77,8	-0,002	0,53	0,3	0,0- 2,3
<i>H. nana</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	1	1,8	62,9	63,5	-0,014	0,77	0,3	0,0- 2,3

p<0,05.

Ancilostomídeos: *A. duodenale* y *N. americanus**Complejo *Entamoeba*: *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii*

Al comparar estos resultados con los del presente estudio, los porcentajes de poliparasitismo en la población de uno a 15 años de las comunidades

del municipio de Puerto Nariño fueron ligeramente superiores, probablemente, debido a que las condiciones de saneamiento básico, la disponibilidad

Cuadro 3. Principales triadas de parásitos patógenos en población de uno a 15 años de edad de Puerto Nariño, Amazonas, Colombia, 2014

Triada	Casos observados	Casos esperados	Kappa	p	Prevalencia	IC _{95%}
<i>Ascaris lumbricoides</i> , <i>Trichuris trichiura</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	41	33,2	0,143	0,00	13,7	10,2-18,1
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> y ancilostomídeos	39	35,3	0,211	0,00	13,0	10,0-17,3
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	31	25	0,140	0,00	10,3	7,3-14,3
<i>T. trichiura</i> , complejo <i>Entamoeba</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	23	21,9	0,063	0,03	7,7	5,1-11,3
<i>A. lumbricoides</i> , complejo <i>Entamoeba</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	20	17,3	0,103	0,00	6,7	4,3-10,1
<i>T. trichiura</i> , ancilostomídeos y complejo <i>Entamoeba</i>	19	14,3	0,084	0,01	6,3	4,1- 9,7
<i>T. trichiura</i> , ancilostomídeos y <i>Blastocystis</i> sp.	18	12,5	0,035	0,15	6,0	3,8- 9,3
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> y <i>Giardia intestinalis</i>	17	12,9	0,032	0,17	5,7	3,5- 8,9
<i>T. trichiura</i> , <i>G. intestinalis</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	16	19,4	-0,018	0,71	5,3	3,2- 8,5
<i>A. lumbricoides</i> , ancilostomídeos y complejo <i>Entamoeba</i>	15	11,1	0,133	0,00	5,0	3,0- 8,1
<i>A. lumbricoides</i> , ancilostomídeos y <i>Blastocystis</i> sp.	15	9,9	0,076	0,01	5,0	3,0- 8,1
<i>A. lumbricoides</i> , <i>G. intestinalis</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	12	15,4	0,023	0,25	4,0	2,3- 6,9
<i>G. intestinalis</i> , complejo <i>Entamoeba</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	12	10,1	0,112	0,00	4,0	2,3- 6,9
Ancilostomídeos, complejo <i>Entamoeba</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	11	6,5	0,098	0,00	3,7	2,0- 6,5
<i>T. trichiura</i> , ancilostomídeos y <i>G. intestinalis</i>	10	5,7	-0,027	0,79	3,3	1,8- 6,1
<i>T. trichiura</i> , <i>G. intestinalis</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	10	11,4	-0,043	0,90	3,3	1,8- 6,1
<i>A. lumbricoides</i> , ancilostomídeos y <i>G. intestinalis</i>	8	4,2	0,019	0,29	2,7	1,3- 5,3
<i>A. lumbricoides</i> , <i>G. intestinalis</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	7	8,9	-0,002	0,53	2,3	1,1- 4,8
Ancilostomídeos, <i>G. intestinalis</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	5	5,1	0,052	0,06	1,7	0,7- 3,9
Ancilostomídeos, <i>G. intestinalis</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	5	5,8	0,012	0,36	1,7	0,7- 3,9
<i>A. lumbricoides</i> , <i>T. trichiura</i> e <i>Hymenolepis nana</i>	4	4	0,018	0,29	1,3	0,5- 3,5
<i>A. lumbricoides</i> , ancilostomídeos e <i>H. nana</i>	1	0,8	0,022	0,26	0,3	0,0- 0,2
<i>A. lumbricoides</i> , <i>H. nana</i> y <i>G. intestinalis</i>	1	0,4	-0,104	0,99	0,3	0,0- 2,3
<i>A. lumbricoides</i> , <i>H. nana</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	1	0,6	-0,031	0,83	0,3	0,0- 2,4
<i>A. lumbricoides</i> , <i>H. nana</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	1	0,5	-0,050	0,93	0,3	0,0- 2,4
<i>T. trichiura</i> , ancilostomídeos e <i>H. nana</i>	1	1	-0,043	0,90	0,3	0,0- 2,4
<i>T. trichiura</i> , <i>H. nana</i> y <i>G. intestinalis</i>	1	0,5	-0,157	1,00	0,3	0,0- 2,3
<i>T. trichiura</i> , <i>H. nana</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	1	0,7	-0,086	0,99	0,3	0,0- 2,3
<i>T. trichiura</i> , <i>Hymenolepis</i> sp. y <i>Blastocystis</i> sp.	1	0,6	-0,099	0,99	0,3	0,0- 2,3
Ancilostomídeos, <i>H. nana</i> y <i>G. intestinalis</i>	0	0,2	-0,051	0,94	0,0	NA
Ancilostomídeos, <i>H. nana</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	0	0,3	0,038	0,12	0,0	NA
Ancilostomídeos, <i>H. nana</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	0	0,2	-0,076	0,99	0,0	NA
<i>H. nana</i> , <i>G. intestinalis</i> y complejo <i>Entamoeba</i>	0	0,3	-0,018	0,71	0,0	NA
<i>H. nana</i> , <i>G. intestinalis</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	0	0,3	-0,018	0,70	0,0	NA
<i>H. nana</i> , complejo <i>Entamoeba</i> y <i>Blastocystis</i> sp.	1	0,3	0,019	0,29	0,0	0,0- 2,3

p<0,05

Ancilostomídeos: *A. duodenale* y *N. americanus**Complejo *Entamoeba*: *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii*

de agua apta para el consumo humano y los hábitos higiénicos son deficientes en comparación con las áreas urbanas, aunque, ciertamente, una gran limitación de este trabajo fue la falta de representatividad de la muestra al tratarse de un muestreo no probabilístico, lo cual impidió hacer comparaciones estadísticamente válidas.

Asimismo, en la Encuesta nacional de parasitismo en población escolar, Colombia, 2012-2014, la prevalencia global de geohelminths en la provincia geográfica de la Amazonia fue de 81,6 %, con un riesgo alto de infección. Los resultados del presente estudio concuerdan con los obtenidos en dicha encuesta, aunque esta no publicó un análisis explícito de la prevalencia del poliparasitismo (10).

A pesar de su alta prevalencia, pocos esfuerzos se han hecho para caracterizar específicamente los perfiles del poliparasitismo; este es el primer estudio que se hace en el país. Los perfiles más relevantes fueron, en su orden, los de *A. lumbricoides* y *T. trichiura*; *T. trichiura* y *Blastocystis* sp.; *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y *Blastocystis* sp.; *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y ancilostomídeos, y *A. lumbricoides*, *T. trichiura* y parásitos del complejo *Entamoeba*. Los perfiles se establecieron con base en las concordancias superiores a las esperadas por azar, de modo que reflejaran aquellas concurrencias que pudieran obedecer a comportamientos epidemiológicos, como las interacciones entre parásitos, o a factores determinantes concomitantes (31).

Si bien los nematodos *A. lumbricoides* y *T. trichiura* y los ancilostomídeos son los más prevalentes, poco se sabe sobre la dinámica poblacional de la infección simultánea con otro patógeno en niños, pues la mayoría de reportes se han hecho en muestras pequeñas (9). Asimismo, aunque las infecciones por *Blastocystis* sp. son frecuentes en adultos, poco se han documentado en niños, sobre todo en ambientes muy concurridos (32). Las infecciones causadas por el complejo *Entamoeba* siguen el mismo patrón, pero debe tenerse en cuenta que solo *E. histolytica* es patógena y que la determinación de su comportamiento epidemiológico es compleja debido a la ausencia de un examen de rutina que permita una discriminación correcta (33); además, es un factor de comorbilidad relacionado con la desnutrición en niños menores de seis años (9,10).

Por otro lado, estos perfiles son diferentes a los reportados en las comunidades indígenas misak, inga, kofán, nasa, quichua y yanacona (residentes en Cali, Colombia), entre quienes los más prevalentes fueron los compuestos por *Entamoeba coli* y el complejo de *E. histolytica* y *E. dispar*, y el de *G. intestinalis* y el complejo *E. histolytica* y *E. dispar* (18), o por los reportados por Alvarado, *et al.* (34), en cuyo estudio la prevalencia de *G. intestinalis* fue una de las más significativas, lo cual evidencia que aún no están del todo claras las diferencias reportadas en los perfiles de parasitosis intestinal (28), por lo cual deben explorarse más detalladamente en muestras representativas.

Las implicaciones prácticas del establecimiento de los perfiles más relevantes de concurrencia de parásitos intestinales patógenos incluyen, en primer lugar, el conocimiento de la dinámica de las infestaciones concomitantes con cada grupo de parásitos, lo cual permitiría entender las interacciones de un parásito con otro, así como con el medio ambiente, y desvelar las causas comunes con la presencia de ciertos grupos de parásitos; además, se podrían determinar los perfiles de mayor importancia en salud pública para entender mejor la ecología real de las infestaciones y planear las intervenciones más idóneas. En este sentido, cada perfil documentado en el presente trabajo requerirá de un análisis ecológico completo, ojalá con datos longitudinales.

Se requieren nuevos métodos para estudiar la interacción entre parásitos en sistemas naturales complejos y en distintos niveles: el individual, el poblacional y el comunitario (35). Asimismo, es

de suma importancia considerar el papel de la comorbilidad desde una perspectiva basada en el modelo de causas comunes (36), pues, como lo mencionan Lugstigman, *et al.*, “la distribución y la carga de las infecciones por helmintos no son simplemente un reflejo de circunstancias geográficas y ecológicas, sino también un reflejo del nivel de compromiso político y de la inversión en recursos humanos y financieros de los gobiernos nacionales para la prevención y el control de la helmintiasis” (2).

Desde una perspectiva clásica, como la adoptada por Hellard, *et al.*, en una revisión reciente sobre parasitosis múltiple, la determinación de la relación entre un parásito y otro distinto pasa por establecer y controlar las variables de confusión Z de cada asociación, de manera que pueda hablarse de “interacciones reales entre parásitos” (35). En un diagrama acíclico causal, estas son “causas comunes” de X y Y que no forman parte de la cadena de asociación causal (37). De este modo, las variables Z son problemas que deben controlarse en el diseño o mediante técnicas estadísticas.

Si se quiere entender completamente las interrelaciones entre X y Y (cualquier par o grupo de parásitos), como sería de interés en salud pública, debe considerarse que estas relaciones también involucran el efecto de sus factores determinantes comunes (31). Desde esta perspectiva, dichos factores no siempre serían un problema que deba ajustarse mediante técnicas estadísticas, sino que, de hecho, harían parte del problema de estudio. Así, el modelado de las relaciones entre redes causales usando métodos estadísticos como las ecuaciones estructurales, permitiría entender mejor la etiología del poliparasitismo. Establecidos los factores determinantes comunes, se podría, además, proponer estrategias de efecto múltiple que trasciendan las intervenciones basadas en una sola enfermedad. Por ello, en esta investigación primero se determinaron los perfiles de la parasitosis, para poder establecer eventualmente los factores determinantes comunes. En este orden de ideas, se requieren estimaciones confiables de esta condición basadas en marcos analíticos (3).

Entre las limitaciones del estudio debe mencionarse su diseño transversal, el cual impidió describir la dinámica de la infección y los cambios de la concurrencia en el tiempo; tampoco fue posible determinar la relación temporal entre los parásitos involucrados en cada perfil. Por otro lado, se empleó un muestreo no probabilístico debido a

las imposibilidades logísticas del área de estudio (gran dispersión de la comunidad, dificultades de acceso geográfico e inexistencia de un censo que sirviera de marco de la muestra), por lo cual no era sencillo determinar los conglomerados geográficos para hacer el muestreo ideal. Sin embargo, la participación fue de más de 80 % de la población censada en el grupo de edad y, dado que las condiciones de vida se suponen homogéneas, es razonable suponer que no se produjo una relación entre la participación voluntaria y la probabilidad de infección por parásitos intestinales. Por último, este fue un estudio descriptivo y, por lo tanto, no se analizaron los potenciales factores determinantes de la infección simultánea con varios parásitos, lo cual es una tarea pendiente.

En diversos estudios se ha reportado que las estrategias basadas en la desparasitación y la educación en la escuela pueden reducir la carga de este tipo de infección y sus efectos, principalmente la anemia (38) y el estado nutricional (6). En este marco, una adecuada evaluación del poliparasitismo y la determinación de los factores determinantes comunes permitirían proponer acciones integrales que trasciendan las intervenciones contra una sola enfermedad.

Agradecimientos

A las comunidades que participaron en el proyecto y a las organizaciones ATICOYA y CODEBA, por su colaboración; a Gerardo Vargas, por sus gestiones.

Conflicto de intereses

Los autores del presente manuscrito declaran no tener conflicto de intereses.

Financiación

Este estudio se financió con los recursos de la convocatoria de investigación 'traslacional' de la Facultad de Medicina de 2014, modalidad 1, Universidad Nacional de Colombia, código 22957.

Referencias

- Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, et al.** Soil-transmitted helminth infections: Ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*. 2006;367:1521-32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68653-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68653-4)
- Lustigman S, Prichard RK, Gazzinelli A, Grant WN, Boatman BA, McCarthy JS, et al.** A research agenda for helminth diseases of humans: The problem of helminthiasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6:e1582. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001582>
- Pullan RL, Smith JL, Jasrasaria R, Brooker SJ.** Global numbers of infection and disease burden of soil transmitted helminth infections in 2010. *Parasite Vector*. 2014;7:37. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-37>
- Hurlimann E, Yapi RB, Houngbedji CA, Schmidlin T, Kouadio BA, Silue KD, et al.** The epidemiology of polyparasitism and implications for morbidity in two rural communities of Côte d'Ivoire. *Parasite Vector*. 2014;7:81. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-81>
- Papier K, Williams GM, Luceres-Catubig R, Ahmed F, Olveda RM, McManus DP, et al.** Childhood malnutrition and parasitic helminth interactions. *Clin Infect Dis*. 2014;59:234-43. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu211>
- Taylor-Robinson DC, Maayan N, Soares-Weiser K, Donegan S, Garner P.** Deworming drugs for soil-transmitted intestinal worms in children: Effects on nutritional indicators, haemoglobin, and school performance. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;7:CD000371. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000371.pub6>
- Bundy DA, Kremer M, Bleakley H, Jukes MC, Miguel E.** Deworming and development: Asking the right questions, asking the questions right. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3:e362. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000362>
- Gonçalves AL, Belizario TL, Pimentel JB, Penatti MP, Pedroso RS.** Prevalence of intestinal parasites in preschool children in the region of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44:191-3.
- Harhay MO, Horton J, Oliario PL.** Epidemiology and control of human gastrointestinal parasites in children. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2010;8:219-34. <https://doi.org/10.1586/eri.09.119>
- Ministerio de Salud y Protección Social, Universidad de Antioquia.** Encuesta nacional de parasitismo intestinal en población escolar, 2012-2014. Medellín: Universidad de Antioquia. El Ministerio; 2015. p. 173.
- Cardona-Arias JA, Rivera-Palomino Y, Carmona-Fonseca J.** Salud indígena en el siglo XXI: parásitos intestinales, desnutrición, anemia y condiciones de vida en niños del resguardo indígena Cañamomo-Lomapieta, Caldas-Colombia. *Médica UIS*. 2014;27:29-39.
- Fleming FM, Brooker S, Geiger SM, Caldas IR, Correa-Oliveira R, Hotez PJ, et al.** Synergistic associations between hookworm and other helminth species in a rural community in Brazil. *Trop Med Int Health*. 2006;11:56-64. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2005.01541.x>
- Payne RJH, Turner L, Morgan ER.** Inappropriate measures of population health for parasitic disease? *Trends Parasitol*. 2009;25:393-5. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.05.013>
- Blackwell AD, Martin M, Kaplan H, Gurven M.** Antagonism between two intestinal parasites in humans: The importance of co-infection for infection risk and recovery dynamics. *Proc Biol Sci*. 2013;280:1671. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1671>
- Naing C, Whittaker MA, Nyunt-Wai V, Reid SA, Wong SF, Mak JW, et al.** Malaria and soil-transmitted intestinal helminth co-infection and its effect on anemia: A meta-analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2013;107:672-83. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trt086>
- Pullan R, Brooker S.** The health impact of polyparasitism in humans: Are we underestimating the burden of parasitic diseases? *Parasitology*. 2008;135:783-94. <https://doi.org/10.1017/S0031182008000346>

17. **Al-Delaimy AK, Al-Mekhlafi HM, Nasr NA, Sady H, Atroosh WM, Nashiry M, et al.** Epidemiology of intestinal polyparasitism among Orang Asli school children in rural Malaysia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e3074. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003074>
18. **Salcedo-Cifuentes M, Flórez O, Bermúdez A, Hernández L, Araújo C, Bolaños MV.** Intestinal parasitism prevalence amongst children from six indigenous communities residing in Cali, Colombia. *Rev Salud Pública (Bogotá).* 2012;14:156-68. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642012000100013>
19. **Gobierno Municipal de Puerto Nariño, Amazonas, Colombia.** Plan de desarrollo municipal 2012-2015. Fecha de consulta: 4 de noviembre de 2015. Disponible en: <http://cdim.esap.edu.co/BancoMedios/Documentos%20PDF/puertonari%C3%B1oamazonasplannedesarrollo2012-2015.pdf>
20. **López MC, Moncada LI, Ariza-Araújo Y, Fernández-Niño JA, Reyes P, Nicholls RS.** Evaluación de tres pruebas para el diagnóstico de geohelminthes en Colombia. *Biomédica.* 2013;33:128-36. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i1.633>
21. **Fernández-Niño JA, Ramírez DJ, López MC, Moncada LI, Reyes P, Heredia DR.** Agreement of the Kato-Katz test established by the WHO with samples fixed with sodium acetate analyzed at 6 months to diagnose intestinal geohelminthes. *Acta Trop.* 2015;146:42-4. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.03.004>
22. **Abdi H.** Bonferroni and Šidák corrections for multiple comparisons. Fecha de consulta: 10 de enero de 2016. Disponible en: <https://www.utdallas.edu/~herve/Abdi-Bonferroni2007-pretty.pdf>
23. **Brown MB.** Algorithm AS 116: The tetrachoric correlation and its asymptotic standard error. *Appl Stat-J Roy St C.* 1977;26:343-51. <https://doi.org/10.2307/2346985>
24. **Digby PG.** Approximating the tetrachoric correlation coefficient. *Biometrics.* 1983;39:753-7. <https://doi.org/10.2307/2531104>
25. **Ministerio de Salud.** Normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Fecha de consulta: 22 de julio de 2014. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/RESOLUCION-8430-DE-1993.PDF>
26. **World Medical Association Declaration of Helsinki.** Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310:2191-4. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
27. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Lineamiento de desparasitación antihelmíntica masiva, en el marco de la estrategia "Quimioterapia preventiva antihelmíntica de la OMS". Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social; 2013.
28. **Muñoz-Antoli C, Pavón A, Marcilla A, Toledo R, Esteban JG.** Prevalence and risk factors related to intestinal parasites among children in Department of Río San Juan, Nicaragua. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2014;108:774-82. <https://doi.org/10.1093/trstmh/tru160>
29. **Solano L, Acuña I, Barón MA, Morón-de Salim A, Sánchez A.** Influencia de las parasitosis intestinales y otros antecedentes infecciosos sobre el estado nutricional antropométrico de niños en situación de pobreza. *Parasitol Latinoam.* 2008;63:12-19. <https://doi.org/10.4067/S0717-77122008000100003>
30. **Quihui-Cota L, Valencia ME, Crompton DW, Phillips S, Hagan P, Diaz-Camacho SP, et al.** Prevalence and intensity of intestinal parasitic infections in relation to nutritional status in Mexican school children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004;98:653-9. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2003.12.017>
31. **Valencia CA, Fernández JA, Cucunubá ZM, Reyes P, López MC, Duque S.** Correlation between malaria incidence and prevalence of soil-transmitted helminths in Colombia: An ecologic evaluation. *Biomédica.* 2010;30:501-8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i4.288>
32. **Rebolla MF, Silva EM, Gómes JF, Falcao AX, Rebolla MV, Franco RM.** High prevalence of *Blastocystis* spp. infection in children and staff members attending public urban schools in São Paulo state, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2016;58:31. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946201658031>
33. **López MC, León CM, Fonseca J, Reyes P, Moncada L, Olivera MJ, et al.** Molecular epidemiology of *Entamoeba*: First description of *Entamoeba moshkovskii* in a rural area from Central Colombia. *PLoS ONE.* 2015;10:e0140302. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140302>
34. **Alvarado BE, Vásquez LR.** Determinantes sociales, prácticas de alimentación y consecuencias nutricionales del parasitismo intestinal en niños de 7 a 18 meses de edad en Guapi, Cauca. *Biomédica.* 2006;26:82-94. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1397>
35. **Hellard E, Fouchet D, Vavre F, Pontier D.** Parasite-parasite interactions in the wild: How to detect them? *Trends Parasitol.* 2015;31:640-52. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.07.005>
36. **Valderas JM, Starfield B, Sibbald B, Salisbury C, Roland M.** Defining comorbidity: Implications for understanding health and health services. *Ann Fam Med.* 2009;7:357-63. <https://doi.org/10.1370/afm.983>
37. **Hernán M, Robins J.** Causal inference. Boca Ratón, USA: Chapman & Hall/CRC; 2016. p. 83-92.
38. **Midzi N, Mtapuri-Zinyowera S, Mapingure MP, Sangweme D, Chirehwa MT, Brouwer KC, et al.** Consequences of polyparasitism on anaemia among primary school children in Zimbabwe. *Acta Trop.* 2010;115:103-11. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.02.010>

ARTÍCULO ORIGINAL

Efecto mutagénico y genotóxico, y expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2* inducidos por extractos antipalúdicos de plantas recolectadas en el Vaupés medio, Colombia

Claudia Viviana Barbosa^{1,2}, Carlos Enrique Muskus³, Luz Yaneth Orozco⁴, Adriana Pabón¹

¹ Grupo de Malaria, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Facultad de Ciencias de la Salud, Fundación Universitaria María Cano, Medellín, Colombia

³ Unidad de Biología Molecular y Computacional, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, PECET, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

⁴ Grupo de Gestión y Modelación Ambiental, GAIA, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Introducción. Dada la resistencia de *Plasmodium* a los medicamentos antipalúdicos, es necesario encontrar nuevas alternativas terapéuticas para su tratamiento y control. Con base en el saber indígena colombiano, se recopilaron extractos de plantas del Vaupés medio con potencial efecto antipalúdico.

Objetivo. Evaluar el efecto mutagénico y genotóxico, y la expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2*, inducidos por cuatro extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium* (R001, T002, T015 y T028).

Materiales y métodos. Se evaluó el potencial mutagénico de cuatro extractos etanólicos con efecto antiplasmódico utilizando el test de Ames y el efecto genotóxico, con un ensayo del cometa; asimismo, se analizó la expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2* en células HepG2.

Resultados. Los extractos no fueron mutágenos en la cepa TA98 de *Salmonella typhimurium* en presencia y ausencia de actividad metabólica de la fracción S9. En la cepa TA100, los extractos R001, T015 y T028 se comportaron como mutágenos débiles en presencia de S9, con índices mutagénicos de 1,58; 1,38; 1,53 y 1,61, respectivamente; T015 tuvo el mismo comportamiento en ausencia de S9, con un índice mutagénico de 1,36. En el ensayo del cometa, todos los extractos provocaron daño de categorías 1 o 2, con colas de cometas entre 36,7 y 51,48 μm de longitud; sin embargo, el índice de daño genético sugirió que los tratamientos afectaron la mayoría de las células. En los genes en estudio, los extractos R001 y T028 indujeron una sobreexpresión de 1,84 a 3,99 frente a las células sin tratar de los genes *Xiap* y *P53*.

Conclusiones. Los resultados evidenciaron que el extracto T002 fue el más seguro, ya que presentó actividad anti-*Plasmodium*, no fue citotóxico en las células HepG2, no fue mutágeno, causó daño de categoría 1 en el ADN y no modificó la expresión de los genes evaluados.

Palabras clave: malaria; resistencia a medicamentos; mutación; daño del ADN; apoptosis; estrés oxidativo.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3239>

Mutagenicity, genotoxicity and gene expression of *Rad51C*, *Xiap*, *P53* and *Nrf2* induced by antimalarial extracts of plants collected from the middle Vaupés region, Colombia

Introduction: Due to *Plasmodium* resistance to antimalarial drugs, it is important to find new therapeutic alternatives for malaria treatment and control. Based on the knowledge of Colombian indigenous communities, we collected extracts of plants with potential antimalarial effects from the middle Vaupés region.

Objective: To evaluate the mutagenic and genotoxic effects, as well as the gene expression of *Rad51C*, *Xiap*, *P53* and *Nrf2* induced by four ethanolic extracts with antimalarial activity (R001, T002, T015 and T028).

Materials and methods: We evaluated four ethanolic extracts with antimalarial activity using the Ames test to assess mutagenicity, and the comet assay on HepG2 cells to determine the genotoxicity. We also evaluated the expression of *Rad51C*, *Xiap*, *P53* and *Nrf2* from HepG2 cells stimulated with the four extracts.

Results: None of the four extracts was mutagenic in *Salmonella typhimurium* TA98 strain in the presence and absence of S9 metabolic activity. Extracts R001, T015 and T028 were weakly mutagenic on the

Contribución de los autores:

Claudia Viviana Barbosa: diseño de la investigación, pruebas experimentales, tabulación de los datos y análisis de los resultados

Carlos Enrique Muskus: asesoría en las pruebas de expresión génica y análisis de los resultados

Luz Yaneth Orozco: asesoría en el análisis de los resultados de los efectos mutagénico y genotóxicos

Adriana Pabón: asesoría en las pruebas de actividad antiplasmódica y análisis de los resultados

Todos los autores participaron en la redacción del artículo.

TA100 strain in the presence of S9, with mutagenic indexes (MI) of 1.58, 1.53 and 1.61, respectively. The T015 strain showed the same behavior without S9 with an MI of 1.36. The results of the comet assay showed that the four extracts produced category 1 or 2 damage, with comets between 36.7 and 51.48 μm in length. However, the genetic damage index suggested that most of the cells were affected by the treatments. Regarding gene expression, extracts R001 and T028 induced an overexpression of genes *Xiap* and *P53* with an 1.84 to 3.99 fold-change compared with untreated cells.

Conclusions: These results revealed that the T002 extract was the safest as it had antimalarial activity and was not cytotoxic on HepG2 cells. Moreover, it was not mutagenic and it only produced category 1 damage on the DNA. Also, the extract did not induce a change in the expression of the tested genes.

Key words: Malaria; drug resistance; mutation; DNA damage; apoptosis; oxidative stress.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3239>

La malaria, o paludismo, es la enfermedad parasitaria transmitida por vectores de mayor prevalencia e impacto en la salud pública a nivel mundial, con cerca de 200 millones de casos anualmente (1). Existe la necesidad de encontrar nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento de la malaria dada la resistencia progresiva del parásito a medicamentos como los derivados de las aminoquinolinas (cloroquina, amodiaquina) o de las artemisininas (2).

Una alternativa para desarrollar nuevos medicamentos antipalúdicos son las plantas, ya que constituyen una importante fuente de recursos terapéuticos que se utilizan para el tratamiento de diversas enfermedades infecciosas en muchos países en desarrollo (3,4) y se calcula que 80 % de las personas en el mundo utilizan remedios naturales para el tratamiento de sus dolencias (3). Además, muchos de los medicamentos utilizados en el mundo son moléculas derivadas de las plantas mediante semisíntesis; entre ellos, se encuentran los derivados de la artemisinina, como el artesunato, el artemeter y el artemeter, obtenidos de la planta *Artemisia annua*, así como la quinina de diferentes especies del género *Chinchona*, los cuales se utilizan como antipalúdicos (5,6).

En esta búsqueda de nuevas moléculas para el tratamiento de enfermedades, la etnobotánica ha permitido estudiar cómo las comunidades de una región en particular utilizan las plantas autóctonas como alimento, como medicina y para otros usos (3). Las comunidades indígenas de Colombia no son ajenas a estas prácticas; tal es el caso de aquellas asentadas en el departamento del Vaupés (3).

En este sentido, antes de este estudio, en el Grupo de Malaria de la Universidad de Antioquia se evaluó la actividad antiplasmódica y citotóxica *in vitro* de los extractos acuosos y etanólicos preparados a partir de 35 plantas consideradas antipalúdicas por los médicos tradicionales de la región del Vaupés medio, y se encontró que 5 % de 72 extractos etanólicos presentó una significativa actividad anti-*Plasmodium* (<5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) y 83 % de ellos no fueron tóxicos (7). Estos resultados demuestran la importancia del uso tradicional que las comunidades ancestrales de la Amazonia dan a las plantas, lo cual contribuiría a solucionar un problema de salud pública como la malaria en todo el mundo.

Sin embargo, la obtención de un medicamento para el tratamiento de la malaria a partir de plantas del departamento del Vaupés requiere una serie de estudios que garanticen su eficacia y su seguridad, mediante pruebas farmacológicas y toxicológicas *in vitro* e *in vivo* (8,9). En ese contexto, se evaluó el potencial mutagénico en cepas de *Salmonella typhimurium* (test de Ames), el genotóxico (ensayo cometa) y la expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2* en células HepG2 tratadas con cuatro extractos etanólicos preparados a partir de las plantas reportadas como antipalúdicos por los médicos tradicionales de la región del Vaupés y que presentaron una actividad antiplasmódica promisoriosa *in vitro*.

Materiales y métodos

Obtención y selección de los extractos etanólicos

A partir del estudio de Pabón, *et al.* (7), se seleccionaron los extractos etanólicos R001, T002, T015 y T028 de las hojas, los tallos, las raíces y las cortezas de plantas pertenecientes a los géneros *Citrus* sp., *Matisia* sp., *Psidium* sp. y *Rudgea* sp. Estos extractos presentaron una actividad antiplasmódica prometedora *in vitro*, con una concentración inhibitoria (CI_{50}) de 1,65 a 10,62 $\mu\text{g}/\text{ml}$, una concentración citotóxica 50 (CI_{50}) de 65 a 10,62 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Correspondencia:

Claudia Viviana Barbosa, Fundación Universitaria María Cano, Calle 56 N° 41-90, Medellín, Colombia
Teléfono: (574) 402 5500; fax: (574) 254 5957
claudiavivianabarbosamorales@fumc.edu.co

Recibido: 22/03/16; aceptado: 12/11/16

ml y un índice de selectividad de más de 2, lo cual indica que son selectivos para el parásito, según lo reportan varios autores (7,10,11) (cuadro 1).

Cultivos celulares

En el test de Ames se utilizaron bacterias de *S. typhimurium*, específicamente las cepas TA 98 y TA 100, en las cuales se produce la reversión de His⁻ a His⁺ por pérdida o ganancia de bases y por sustitución de un par de bases, respectivamente. Se cultivaron en caldo nutritivo durante 16 a 18 horas, hasta obtener una concentración de 2×10^9 bacterias/ml para hacer la prueba (8).

En el ensayo cometa y en los ensayos de expresión génica, se utilizó la línea celular HepG2 mantenida en el Grupo de Malaria de la Universidad de Antioquia. Estas células se cultivaron en medio DMEM-F12 con suplemento de 10 % de suero fetal bovino (Invitrogen) y 1 % de penicilina y estreptomina (10.000 U/ml, Invitrogen) y se mantuvieron en atmósfera húmeda con 5 % de CO₂ a 37 °C (7).

Test de Ames

El efecto mutagénico de los cuatro extractos etanólicos seleccionados, se evaluó con el test de Ames en las cepas de *Salmonella typhimurium* TA98 y TA100, usando el protocolo descrito por Maron y Ames, y modificado por Flückiger-Isler en el 2006 (8,12). Los ensayos se hicieron con enzimas micro-sómicas (S9) de Moltax y sin estas.

Se utilizaron como controles negativos el DMSO en una concentración final de 2,38 % y agua destilada. Como controles positivos directos (sin S9), se usaron óxido de 4-nitroquinolina (4NQO) para la cepa TA 98 y azida de sodio para la cepa TA 100, ambos en una concentración de 5 µg/ml, y como control positivo indirecto (con S9), 10 µg/ml de 2 aminofluoreno (2AF) para ambas cepas.

Se evaluaron dosis de 25, 22, 85, 3, 1,5 y 18, 12 µg/ml de los extractos R001, T002, T015 y T028, respectivamente, las cuales no fueron tóxicas en las cepas de *S. typhimurium*. Para clasificar los extractos como mutágenos, se tuvo en cuenta el respectivo índice mutagénico, el cual indica las veces que la cantidad de colonias revertantes presentes en el control negativo es superada. Para calcularlo, se tuvieron en cuenta los criterios de Flückiger-Isler establecidos en el 2012 (13), según los cuales los ensayos en los que se obtenga un índice mutagénico de 1,5 a 2,5 en el control indican que la sustancia probada tiene poco efecto mutagénico positivo y que el de las sustancias con resultados superiores a 3 es elevado.

Cuadro 1. Actividad antiplasmódica y citotóxica *in vitro* de los extractos etanólicos de plantas antipalúdicas del Vaupés medio

Extracto	CI ₅₀ anti- <i>Plasmodium</i>	CC ₅₀ ± DE citotóxica	IS
R001	9,28 ± 0,16	36,94 ± 0,84	3,98
T002	5,46 ± 1,77	148,05 ± 7,42	27,12
T015	10,62 ± 1,02	102,90 ± 10,89	9,69
T028	1,65 ± 0,61	37,62 ± 1,97	22,80

CI₅₀: concentración inhibitoria 50 (obtenida en la cepa 3D7 de *P. falciparum* mediante el método radioisotópico); CC₅₀: concentración citotóxica 50 en células HepG2; DE: desviación estándar; IS: índice de selectividad. Los resultados de actividad y toxicidad de los extractos se expresaron en µg/ml.

Ensayo cometa

Para garantizar que los resultados observados fueran por causa de efectos genotóxicos y no de procesos citotóxicos que también involucran rupturas del ADN, fue necesario asegurar que la viabilidad de las células HepG2 fuera superior a 70 ± 5 % después del tratamiento, para evitar, así, los falsos positivos (14). Por esta razón, se determinó la viabilidad de cada muestra mediante exclusión con azul de tripano.

Se siguió el protocolo publicado por Singh, *et al.*, en 1988 (15) con las modificaciones de Flückiger, *et al.* en el 2006 (8,16).

En esta prueba se hicieron dos experimentos independientes por duplicado utilizando solución tampón PBS (*Phosphate Buffered Saline*) como control negativo, 100 mM de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) como control positivo (16) y DMSO (dimetil-sulfóxido) al 1 % como control de solvente.

Para las lecturas, las placas se colorearon con bromuro de etidio en una concentración de 2 µl/ml y se utilizó un microscopio de fluorescencia marca Boeco con filtro verde y amplificación de 20X.

Se analizaron 50 células seleccionadas al azar por lámina, para un total de 100 células por experimento y 200 por muestra. Los resultados se expresaron como longitud de cola del cometa en micrómetros (µm) y el resultado de cada electroforesis se consideró solo si los controles positivos mostraban resultados positivos.

Para conocer la magnitud del daño genético causado por cada extracto, se reportó el porcentaje de células afectadas, incluidas todas las células con valores bajos, moderados, elevados y extremos de daño en el ADN (clasificación 0 a 4) en el ensayo cometa. Los resultados de los ensayos cometa se clasificaron empleando una escala arbitraria de

cinco categorías según el porcentaje de ADN en la cola: 0, cuando no había daño (<5 %); 1, cuando este era bajo (5-20 %); 2, cuando era moderado (20-40 %); 3, elevado (40-80 %), o 4, extremo (>80 %) (17). Los cometas sin cabeza, también llamados “nubes”, no se incluyeron en el análisis.

El daño en el ADN se cuantificó mediante la clasificación visual de nucleoides en cinco clases de cometas según la intensidad y la longitud de la cola de 0 (sin la cola) a 4 (casi todo el ADN en la cola) (17,18). La puntuación total, expresada como índice de daño genético (IDG), se calculó multiplicando el porcentaje medio de nucleoides en cada clase por el factor correspondiente, con la siguiente fórmula:

$$\text{IDG} = [(n_0 * 0) + (n_1 * 1) + (n_2 * 2) + (n_3 * 3) + (n_4 * 4)] / \text{total de células},$$

donde n_0 corresponde al número de células con un nivel de daño 0; n_1 , al número con un nivel de daño 1; n_2 , al número con un nivel de daño 2; n_3 , al número con un nivel de daño 3, y n_4 , al número de células con un nivel de daño 4.

Los resultados se expresaron como unidades arbitrarias en una escala de 0 a 400 por 100 nucleoides anotados, según lo descrito por Guilherme, *et al.*, en el 2010 (17).

Extracción de ARN y reacción en cadena cuantitativa de la polimerasa, q-PCR

Antes de la extracción de ARN, las células HepG2 se trataron durante 24 horas con los cuatro extractos etanólicos, y como controles positivos se emplearon las sustancias genotóxicas óxido de 4-nitroquinolina (4NQO), benzo(a)pireno (B(a)P), y etopósido, y el inductor de estrés oxidativo *tert*-butil hidroperóxido (t-BuOOH) (9,19-24).

Se utilizaron las concentraciones anti-*Plasmodium* IC₅₀ de los extractos, las cuales no presentaron efecto citotóxico. El ARN total (ARNt) de las células tratadas se obtuvo por el método de trizol, según el protocolo del proveedor (Sigma-Aldrich, Invitrogen, Burlington, ON, Canadá) (25,26), y su concentración se determinó con NanoDrop® en el rango de 162,8 a 266,0 ng/μl; su calidad se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 y a 100 voltios durante 45 minutos. Posteriormente, se hizo la transcripción inversa utilizando el estuche QuantiTect Reverse Transcription® de Qiagen.

Para el desarrollo de la reacción en cadena cuantitativa de la polimerasa (q-PCR), se diseñaron iniciadores específicos de los genes *Rad51C*

(*forward* GATGTGCAGATACCAGAATG y *reverse* CTATAAGCTGAAGGTGCTGA), *Xiap* (*forward* GTG TACCTGCAGACATCAAT y *reverse* TGATGCTGA AACAGGACTAC), *P53* (*forward* CCTATGGAAACT ACTTCCTG y *reverse* GAGCTTCATCTGGACCTG), *Nrf2* (*forward* CCAGCAGGACATGGATTT y *reverse* ATACTCTTTCCGTCGCTGACT) y para el gen normalizador *GADPH* (*forward* GGTGTGAACCATG AGAAGTA y *reverse* CCACGATACCAAAGTTGTC) utilizando el programa Primer3plus (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>).

La tendencia a formar bucles, homodímeros y heterodímeros se determinó con el programa Oligo Analyzer (<https://www.idtdna.com/calc/analyzer>). La especificidad del reconocimiento de los iniciadores de la secuencia blanco se verificó mediante *BLAST* (*Basic Local Alignment Search Tool*) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>).

La reacción de amplificación se hizo con el estuche Quantifast SYBR Green PCR® siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las siguientes fueron las condiciones que se tuvieron en cuenta en la q-PCR: 95 °C durante cinco minutos para permitir la activación de la polimerasa, seguidos de 35 ciclos a 95 °C durante 10 segundos para la desnaturalización del ADN, a 56 °C durante 50 segundos para el alineamiento de los cebadores a las cadenas de ADN y a 72 °C durante 15 segundos para la extensión final de las cadenas. Para determinar la expresión del gen en estudio, se hizo una cuantificación relativa con el método $2^{-\Delta\Delta ct}$, el cual es un modelo matemático que calcula el número de veces que se amplifica una muestra experimental con respecto a una muestra de control (no tratada) (27).

Análisis estadístico

En las pruebas del efecto mutagénico y genotóxico utilizadas para hacer las comparaciones múltiples, se hizo un análisis de varianza (ANOVA o Kruskal-Wallis para datos no paramétricos) con el paquete estadístico SPSS®, versión 19, mediante una prueba de homogeneidad *post hoc* con un alfa de 0,05.

En el caso del efecto mutagénico, se compararon los promedios de colonias revertantes de los tratamientos comparados con el control negativo (DMSO) y la activación metabólica.

En cuanto al efecto genotóxico, se comparó el promedio de la longitud de cola de los cometas en los diferentes tratamientos con el control negativo DMSO al 1 %.

En cuanto a la expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2*, después de la cuantificación relativa con el método $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$, se compararon las medias con una significación menor de 0,05, utilizando el programa estadístico SPSS®.

Resultados

La actividad anti-*Plasmodium* de los extractos R001, T002, T015 y T028 fluctuó entre 1,65 y 10,62 $\mu\text{g/ml}$. En cuanto al efecto citotóxico, su rango fluctuó entre 36,94 y 148,05 $\mu\text{g/ml}$. El extracto T028 demostró la mayor actividad ($1,65 \pm 0,61 \mu\text{g/ml}$) y un efecto citotóxico de $37,62 \pm 1,97 \mu\text{g/ml}$. Los extractos T002 y T015 no se consideraron citotóxicos, con concentraciones (CC_{50}) de $148,05 \pm 7,42$ y $102,90 \pm 10,89 \mu\text{g/ml}$, respectivamente (cuadro 1).

Efecto mutagénico de los extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium* en cepas de *Salmonella typhimurium*

Los extractos evaluados presentaron un índice mutagénico menor de 1,5 en la cepa TA98 con la fracción S9 y sin ella, es decir, no fueron mutágenos. Estos resultados se confirmaron mediante el análisis de varianza ($p > 0,05$) y la prueba *post hoc* ($p > 0,05$), en las cuales no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el número de colonias revertantes obtenido en el control negativo (DMSO) y los tratamientos (cuadro 2, figura 1A).

Sin embargo, en la cepa TA100 se encontró que los extractos R001, T015 y T028 en presencia de S9 presentaron un índice mutagénico mayor de 1,5, lo cual indica que en estas condiciones se comportaron como mutágenos indirectos débiles ($p < 0,05$ con respecto al control negativo).

El extracto T015 presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al control negativo en ausencia de S9, con un índice mutagénico de 1,36 y un valor de p de 0,005, lo cual indicaba la presencia de metabolitos que actuaban como mutágenos directos (cuadro 2, figura 1B).

El extracto T002 presentó un índice mutagénico menor de 1,5, es decir, no registró efecto mutagénico (cuadro 2, figuras 1A y B).

Efecto genotóxico de los extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium* en la línea celular HepG2

La comparación de los resultados sobre el efecto genotóxico de los extractos y el del control negativo DMSO, se catalogaron como genotóxicos (prueba de Tukey con un valor de $p < 0,05$), así: R001 produjo daño de tipo 2, y T002, T015 y T028, de tipo 1, pues presentaban, en promedio, de 20 a 40 % y de 5 a 20% de ADN en las colas de los cometas.

Los índices de daño genético de los cuatro extractos estuvieron muy por encima del control negativo, en un rango de 299 a 399. El porcentaje de células dañadas después de una hora de exposición a los extractos fue mayor de 75 % (de 80 núcleos contados, 60 presentaron fragmentación del ADN) y de 0 % en el control negativo.

Es importante anotar que la viabilidad después del tratamiento, medida con el método de exclusión de azul de tripano, fue mayor de 95 % en todos los tratamientos, con lo cual se garantizó que no se probaran dosis letales (cuadro 3 y figura 2).

Cuadro 2. Efecto mutagénico de los extractos etanólicos con actividad antiplasmódica *in vitro* en *Salmonella typhimurium* obtenidos de plantas utilizadas por los curanderos de la región del Vaupés medio

Tratamiento	Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	CEPAS <i>Salmonella typhimurium</i>											
		TA98						TA100					
		+			S9-			S9+			S9-		
		\pm DE	IM	p	\pm DE	IM	p	\pm DE	IM	p	\pm DE	IM	p
DMSO	23,8	35,5 \pm 4,93		34	\pm 5,9		84,5 \pm 3,42			90	\pm 1,83		
NaN ₃	5									1,542	\pm 34,76	16,8	0,000
4NQO	5			1,538	\pm 34,51	38,56	0,000						
2AF	500	907,5 \pm 12,47	22,44	0,000			1,382,5 \pm 54,82	15,73	0,000				
R001	25,22	35,5 \pm 1,3	0,88	1,000	35,75 \pm 4,34	0,90	1,000	138,5 \pm 7	1,58	*0,002	96,8 \pm 7,76	1,05	0,67
T002	85,3	35,5 \pm 2,06	0,79	0,996	32,75 \pm 5,31	0,82	1,000	121 \pm 3,16	1,38	0,11	106,3 \pm 6,34	1,16	0,67
T015	1,5	35,5 \pm 8,05	0,82	1,000	42 \pm 5,47	1,05	0,997	34,75 \pm 2,75	1,53	*0,005	125 \pm 7,17	1,36	*0,005
T028	18,12	35,5 \pm 3,1	0,85	1,000	34 \pm 8,38	0,86	1,000	141,5 \pm 5,07	1,61	*0,001	97 \pm 34,76	1,06	0,99

DMSO: dimetil sulfóxido (control negativo); NaN₃: azida de sodio; 4NQO: óxido de 4-nitroquinolina; 2AF:2 aminofluoreno (controles positivos) Extractos etanólicos R001, T002, T015 y T028; promedio de colonias revertantes de *S. typhimurium* his⁻ a his⁺; DE: desviación estándar; IM: índice mutagénico; -S9: ausencia de actividad metabólica; +S9: presencia de actividad metabólica, $p < 0,005$, significación al comparar los tratamientos con DMSO; *: diferencia significativa

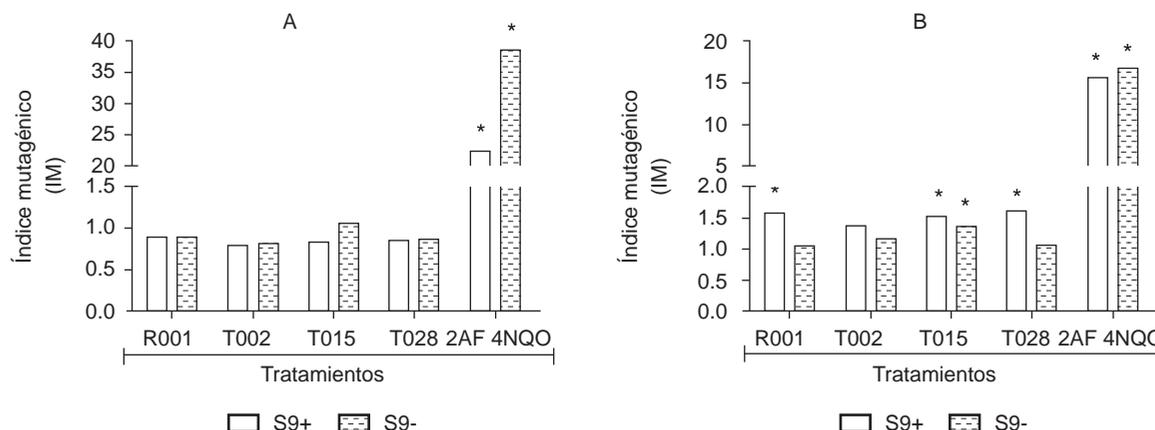


Figura 1. Índices mutagénicos de los extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium in vitro* en la cepa TA98 (A) y TA100 (B) de *Salmonella typhimurium* con la fracción S9 y sin ella
*: diferencia significativa con respecto al control negativo, p<0,005

Cuadro 3. Efecto genotóxico de extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium* en células HepG2 preparados a partir de plantas usadas como antipalúdicos en el Vaupés medio

Tratamiento		Promedio de $\mu\text{m} \pm \text{DE}$	Categoría de daño	Células dañadas (%)	IDG	Viabilidad después del tratamiento (%)
Sustancia	Concentración					
DMSO	1,00 %	21,25 \pm 4,13	0	0	32	99
H ₂ O ₂	100 μM	71,85 \pm 14,2	4	100	399	93
R001	25,22 $\mu\text{g/ml}$	51,48 \pm 13,4	2	100	373	97
T002	85,3 $\mu\text{g/ml}$	39,54 \pm 10,7	1	100	343	97
T015	1,5 $\mu\text{g/ml}$	36,4 \pm 8,4	1	81,3	299	96
T028	18,12 $\mu\text{g/ml}$	36,7 \pm 6,8	1	79	328	98

DMSO: dimetil sulfóxido (control negativo); H₂O₂: peróxido de hidrógeno (control positivo); DE: desviación estándar; categoría de daño según porcentaje de ADN en la cola: 0, sin daño (<5 %); 1, bajo nivel de daño (5-20 %); 2, daño moderado (20-40 %); 3, daño elevado (40-80 %) o 4, daño extremo (>80 %); IDG: índice de daño genético; p:<0,005, significación al comparar los tratamientos con DMSO

Expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2* en la línea celular HepG2 expuesta a compuestos mutagénicos, genotóxicos y a extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium*

En los ensayos de expresión génica en la línea celular HepG2, el control endógeno *GADPH* no se afectó con el tratamiento de las células expuestas a los compuestos químicos empleados como controles de los efectos mutagénico y genotóxico (4NQO, B(a) P, etopósido, t-BuOOH), ni a los extractos etanólicos (R001, T002, T015 y T028). Además, la eficiencia de amplificación fue similar a la de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2*, en los cuales estuvo en un rango de 92 a 99 %.

La sobreexpresión fue estadísticamente significativa en el gen *Rad51C* cuando las células se trataron con t-BuOOH, con una diferencia de expresión de 12,83 veces. En el gen *Xiap*, se observó sobreexpresión de 9,66, 23,79, 2,99 y 3,11 con los tratamientos B(a) P, t-BuOOH, R001 y T028, respectivamente. En el

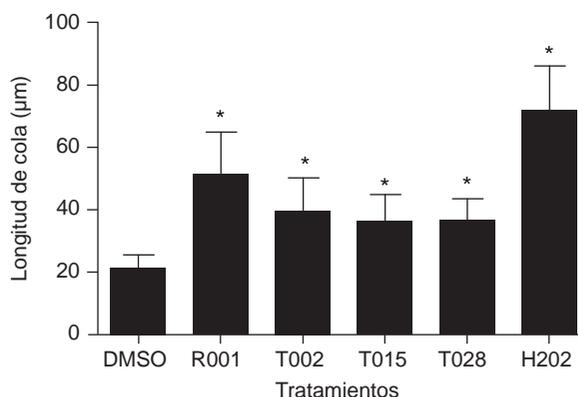


Figura 2. Longitud promedio de cometas (μm) en células HepG2 expuestas a extractos etanólicos con actividad anti-*Plasmodium*
*: p<0,05, diferencia significativa al comparar los tratamientos con el control negativo; DMSO: dimetil sulfóxido; H₂O₂: peróxido de hidrógeno

caso del gen *P53*, la sobreexpresión fue de 4,48, 1,84 y 3,91 veces con los tratamientos t-BuOOH, R001 y T028, respectivamente. Por último, el gen

Nrf2 solo se sobreexpresó 10,89 veces cont-BuOOH. Estos valores de sobreexpresión se compararon con la expresión de los genes analizados en células sin tratamiento, partiendo de una expresión basal de 1 ($p < 0,05$) (figura 3).

Discusión

Los datos de actividad anti-*Plasmodium* y del efecto citotóxico de los extractos R001, T002, T015 y T028 preparados a partir de las plantas utilizadas

por los indígenas de la región del Vaupés medio para tratar la malaria, evidenciaron su selectividad por *P. falciparum* y no por las células del huésped.

Estos resultados sugieren la presencia de metabolitos que podrían jugar un papel importante en la interacción con los parásitos y el medio ambiente (28). Sin embargo, se requieren otras pruebas para evaluar su efecto citotóxico *in vitro*, como las de hemólisis o de reducción de rezasurina, entre otras

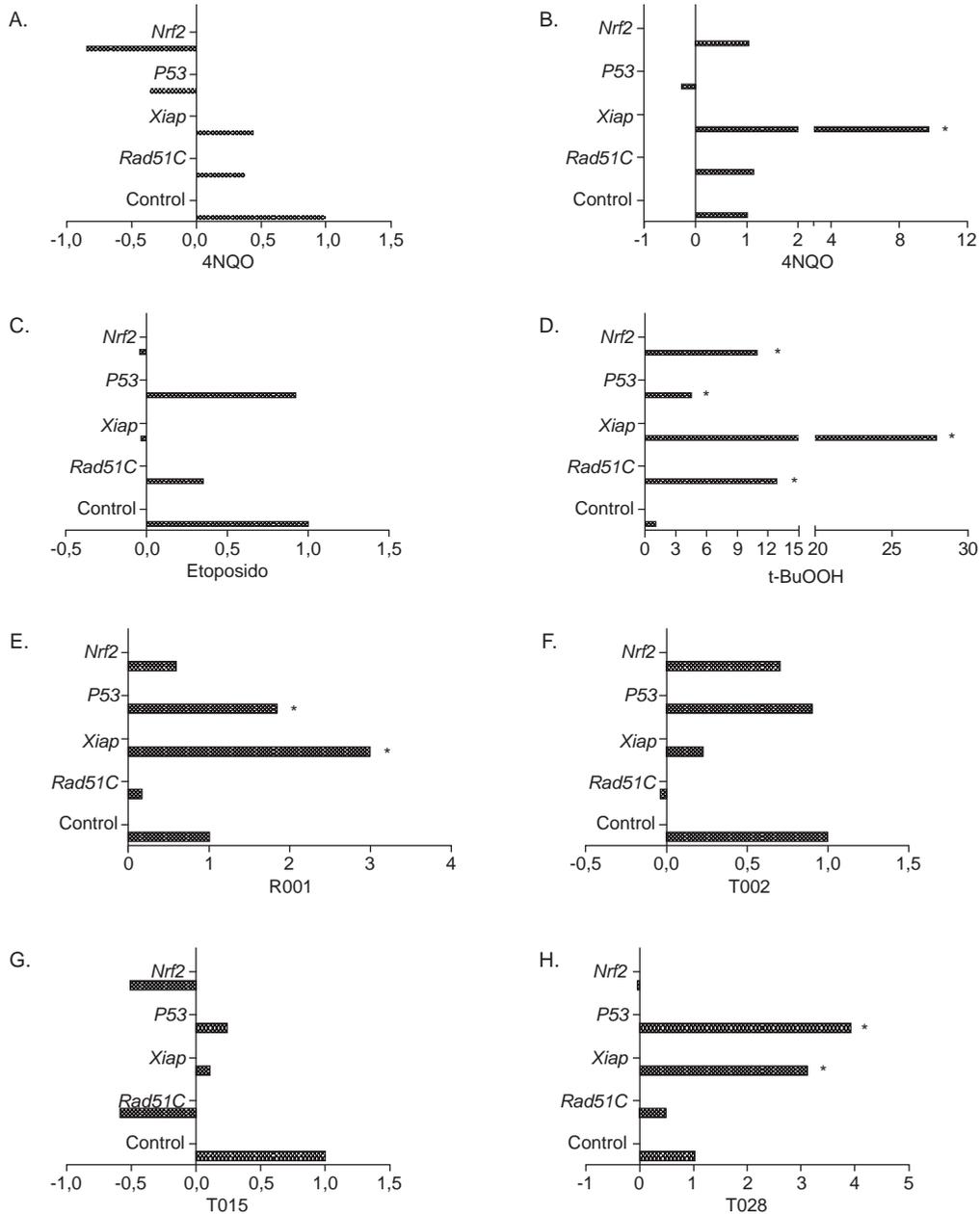


Figura 3. Diferencia de expresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2* en células HepG2 tratadas con 4NQO (A), B(a)P (B), etopósido (C), t-BuOOH (D) y con los extractos anti-*Plasmodium* R001 (E), T002 (F), T015 (G) y T028 (H) *: $p < 0,05$, diferencia significativa al comparar los tratamientos con el control negativo

(29), con el fin de conocer si los extractos alteran otras vías metabólicas y, de esta manera, poder sugerirlos como materia prima en la elaboración de una fórmula farmacéutica segura y efectiva contra la malaria.

En la evaluación del efecto mutagénico de los extractos en estudio, se encontró que no causaron mutaciones por pérdida o ganancia de bases detectadas en la cepa TA98 con la fracción S9 y sin ella. En el estudio de García, *et al.*, se registraron resultados similares en el 2013, con extractos estandarizados de *Solanium nudum* con actividad anti-*Plasmodium* promisorio (10).

Cuando se evaluó el efecto mutagénico en la cepa TA100 con S9, los extractos R001, T015 y T028 se comportaron como mutágenos débiles al presentar un índice mutagénico entre 1, 5 y 2,5, lo cual indica que causan mutaciones por sustitución de pares de bases y que se trata de promutágenos que requieren ser metabolizados por las enzimas de fase I antes de interactuar con la molécula de ADN y producir la mutación (30).

En la misma cepa, pero sin S9, se obtuvo un resultado positivo débil con el extracto T015. Los resultados de este tratamiento con la fracción S9 y sin ella indican que T015 puede contener moléculas que se comportan como mutágenos directos e indirectos.

Es importante resaltar que el test de Ames se utiliza ampliamente y es una de las pruebas recomendadas por la *Environmental Protection Agency* (EPA) de los Estados Unidos para evaluar el riesgo mutagénico de contaminantes ambientales y sustancias para consumo humano, entre otros (31-33). Sin embargo, se debe tener en cuenta que se trata de un modelo bacteriano, por lo cual no es posible extrapolar estos resultados a células u organismos eucariotas.

En cuanto al efecto genotóxico de los extractos seleccionados en la línea celular HepG2, se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar los resultados con los del control negativo (DMSO al 0,5%). Con base en las categorías de daño establecidas por Guilherme, *et al.* (17), los extractos se clasificaron así: R001 produjo daño de tipo 2, y T002, T015 y T028, de tipo 1, es decir, pueden causar rupturas en el ADN de cadena sencilla y doble (32). Sin embargo, es importante resaltar que los índices de daño genético superaron el control negativo entre nueve y 12 veces, lo cual significa que la mayoría de las células se vio afectada por los tratamientos, aunque el daño fuera mínimo (32,34).

Los resultados del efecto genotóxico se correlacionaron con los resultados de la evaluación del efecto mutagénico, ya que la mutación se fija después de que ocurre el daño en el ADN (33). No obstante, se debe tener en cuenta que los sistemas utilizados en ambas pruebas fueron diferentes, ya que el efecto mutagénico se evaluó en células procariontas y, el genotóxico, en eucariotas.

El ensayo cometa es otra de las pruebas recomendadas por la EPA para evaluar la seguridad toxicológica de diversos compuestos de uso humano (31). Esta técnica se ha utilizado en la evaluación genotóxica de extractos con actividad biológica frente a microorganismos como *P. falciparum* y *Mycobacterium tuberculosis*, entre otros (33).

En este estudio también se evaluó el comportamiento de los extractos con actividad anti-*Plasmodium* en algunos procesos celulares, como la recombinación homóloga, la inhibición de la apoptosis, la regulación del ciclo celular y la desintoxicación enzimática, para lo cual se escogieron los siguientes genes:

- 1) el gen *Rad51C*, perteneciente a la familia de genes *Rad51* (9) y considerado óptimo para evaluar el efecto genotóxico, pues está presente en los seres humanos y varias de las proteínas codificadas por esta familia tienen un papel crucial en los procesos de reparación del ADN por recombinación homóloga (34);
- 2) el gen *Xiap*, el cual hace parte de la familia de genes que codifican las proteínas inhibitoras de la apoptosis (AIP) (35,36); la proteína codificada por este gen ha sido la mejor caracterizada en cuanto a su función inhibitora de las caspasas 3, 7 y 9 (35,36);
- 3) el gen supresor de tumores *P53*, que codifica una proteína fundamental en la reacción al daño en el ADN producido por agentes físicos, como la radiación, o químicos, como la exposición a fármacos, por ejemplo el etopósido, y que también protege la célula de daños producidos por la activación de oncogenes (9,37), y
- 4) el gen *Nrf2*, el cual codifica para una proteína que participa en la desintoxicación celular activando enzimas de fase II (38,39), y actúa como factor de transcripción de proteínas encargadas del equilibrio redox de oxidorreducción (40).

En este contexto, en las pruebas de q-PCR con el ARNm de las células HepG2, se obtuvieron resultados estadísticamente significativos en la expresión de los genes en estudio expuestos a diferentes tratamientos. Estos resultados se discutieron a la

luz del estudio de Westerink, *et al.* (9), quienes desarrollaron un sistema de genes reporteros de luciferasa en células HepG2 utilizando las regiones promotoras de los genes *Rad51C*, *CST3*, *P53* y *Nrf2*, con el cual se probaron 22 compuestos mutagénicos y genotóxicos, algunos de los cuales fueron utilizados en el presente trabajo.

En el estudio de Westerink, *et al.*, se consideró que había una reacción genotóxica positiva si los tratamientos superaban en 1,5 veces la luminiscencia del control negativo. Bajo este criterio, el t-BUOOH utilizado en este estudio en una concentración de 0,5 μM , provocó la sobreexpresión de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2* con una diferencia de expresión frente al control de 12,83, 23,79, 4,48 y 10,98, respectivamente, lo cual podría deberse a que este compuesto es un potente agente oxidante que induce estrés oxidativo en diferentes órganos de animales, y ello provoca un aumento significativo en la producción de especies reactivas del oxígeno que causan daño oxidativo en las macromoléculas intracelulares (41).

Esto respalda los resultados del presente estudio, ya que al aumentar los niveles intracelulares de las especies reactivas del oxígeno, estos podrían inducir la sobreexpresión de *Nrf2*, el cual juega un papel importante como factor de transcripción de enzimas clave en la desintoxicación celular y en el equilibrio de oxidorreducción; esto ayuda a la célula a contrarrestar los efectos negativos de las especies reactivas del oxígeno (42).

En el estudio de Westerink, *et al.*, se obtuvieron resultados positivos en los ensayos de genes reporteros, con una inducción de luminiscencia en *Nrf2* 19 veces mayor que en el control al usar otro inductor de las especies reactivas del oxígeno como el H_2O_2 en una concentración de 1 μM (9). Por otro lado, la sobreexpresión de *P53*, *Rad51C* y *Xiap* podría explicarse por la incapacidad celular para reducir los niveles de estas especies, los cuales interactuarían con el ADN causando rupturas en la doble cadena (43). En tal contexto, el gen *P53* detendría el ciclo celular para permitir la activación de los sistemas de reparación, así como el gen *Rad51C*, molécula clave en la reparación del ciclo celular de células mitóticas por recombinación homóloga en el punto de control S/G (34). En el caso del gen *Xiap*, que también se sobreexpresó al usar el tratamiento con t-BUOOH, la explicación podría ser que, pese al daño causado por las especies reactivas del oxígeno, la célula evadiría la muerte celular, lo cual

tendría relación con los resultados de viabilidad (85 %) después del tratamiento obtenidos al tratar las células.

En concordancia con estos resultados, Westerink, *et al.*, encontraron una inducción de luminiscencia dos veces mayor que en el control, en ensayos de genes reporteros en *Rad51C*, *P53* y el *CST3*, este último con funciones biológicas similares a las del *Xiap*, ya que ambos suprimen la apoptosis al inhibir la caspasa 3 (9,38). El gen *Xiap* también se sobreexpresó como reacción al tratamiento con B(a)P, compuesto perteneciente a la familia de los hidrocarburos aromáticos policíclicos. La exposición humana a este compuesto de cinco anillos se produce principalmente por el consumo de tabaco, la inhalación de aire contaminado y la ingestión de alimentos o agua contaminados por efluentes de combustión.

El B(a)P es conocido por ser citotóxico, y por tener propiedades mutagénicas y carcinógenas, y está clasificado como un carcinógeno humano por la *International Agency for Research on Cancer* (IARC) (44). La sobreexpresión de *Xiap* con este tratamiento podría indicar que, pese a los daños causados, la célula evade la muerte celular dependiente de caspasas. En su estudio, Westerink, *et al.*, encontraron que B(a)P produjo una inducción de luminiscencia del *CST3* cuatro a cinco veces mayor que el control debida a la capacidad del producto de este gen para inhibir la caspasa 3, lo cual podría relacionarse con el resultado de este estudio, dado que el *Xiap* también es inhibidor de la caspasa 3 (9,38).

Las células tratadas con los extractos R001 y T028 sobreexpresaron los genes *Xiap* y *P53*, resultados que se relacionan con las categorías de daño de las células en el ensayo del efecto genotóxico (2 y 1, respectivamente), y pueden deberse a eventos celulares descritos anteriormente. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que se desconoce el mecanismo de acción de los extractos y, hasta no aislar el metabolito responsable de estos resultados y dilucidar su estructura química, no se podrán involucrar en los procesos de control del ciclo celular, la reparación del ADN, la inhibición de la apoptosis, la desintoxicación celular o el equilibrio de oxidorreducción.

Según los resultados del estudio, debe tenerse en cuenta que las concentraciones de los extractos evaluadas en las pruebas de los efectos mutagénico y genotóxico en HepG2 fueron las CC_{50} , en tanto que las CI_{50} anti-*Plasmodium* utilizadas en la

expresión del gen *Xiap* fueron 3,98, 27,12, 9,69 y 22,8 veces menores en R001, T002, T015 y T028, respectivamente, que las CC_{50} obtenidas en los ensayos de evaluación del efecto citotóxico.

En este sentido, y dado que el efecto mutagénico fue débil y el daño genotóxico fue de categorías 1 y 2, puede inferirse que los compuestos mutagénicos y genotóxicos y los extractos anti-*Plasmodium* sin sobreexpresión de los genes evaluados, pudieron deberse a que el protocolo experimental no tuvo en cuenta el tiempo de reparación de las células HepG2, ni las fases del ciclo celular, ni otros genes específicos de estas fases, como las ciclinas G1, S y M (45), o que participan en vías de reparación diferentes a la recombinación homóloga, como la reparación por escisión de nucleótidos y fusión no homóloga de extremos (46). Por consiguiente, se requiere un protocolo experimental que tenga en cuenta estos aspectos, además de evaluar la expresión de los genes seleccionados en diferentes intervalos de tiempo y con las mismas concentraciones de las sustancias en las diferentes pruebas para, así, garantizar su inocuidad. De esta manera se haría un aporte al desarrollo de nuevos antipalúdicos y se avalaría la utilidad de medir la expresión génica al evaluar la seguridad toxicológica.

También, cabe resaltar que en este trabajo las pruebas fueron *in vitro* y que los ensayos *in vivo* son necesarios en la fase preclínica del desarrollo de medicamentos, con el fin de garantizar la seguridad toxicológica de los extractos anti-*Plasmodium*.

Es importante anotar que la sobreexpresión del gen *Xiap* en las células HepG2 tratadas con t-BUOOH sugiere que este compuesto puede utilizarse como control positivo en la q-PCR cuando se evalúe la seguridad toxicológica de sustancias por inhibición de la apoptosis.

Puede concluirse que, con la metodología utilizada, el extracto T002 fue el de mayor actividad anti-*Plasmodium* (CI_{50} :5,46 μ g/ml) en la cepa 3D7 de *P. falciparum*, y que, en principio, no fue citotóxico en la línea celular HepG2 (CC_{50} :148,05 μ g/ml, es decir, 27,12 veces más alta que la CI_{50} antiplasmódica), y tampoco fue mutágeno cuando la concentración fue de 148,05 μ g/ml. Con esta misma concentración causó daño de tipo 1 en el ADN y no indujo una expresión estadísticamente significativa de los genes *Rad51C*, *Xiap*, *P53* y *Nrf2*. Por tal razón, es importante continuar el estudio de este extracto para desarrollar un medicamento antipalúdico seguro.

Agradecimientos

Los autores desean dar un especial agradecimiento a Otoniel Ramírez, indígena cubeo que realizó el trabajo etnobotánico en las comunidades indígenas del Vaupés para la selección de las plantas con actividad antipalúdica; a Isabel Cristina Ortiz, por el asesoramiento en las pruebas de los efectos mutagénico y genotóxico; y a Gustavo Adolfo Blandón, investigador del grupo PECET, por su acompañamiento en todo lo relacionado con la PCR en tiempo real.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan no haber tenido ningún conflicto de intereses en ninguna de las fases de este estudio.

Financiación

Este trabajo fue financiado por Colciencias (código 1115-489-25104 RC 506-2009) y por la Universidad de Antioquia a través de la estrategia de sostenibilidad, 2014-2015.

Referencias

1. **World Health Organisation.** World malaria report, 2014. Fecha de consulta: 14 de junio de 2016. Disponible en: http://www.who.int/malaria/publications/world_malaria_report_2014/report/en/
2. **Gligorijevic B, Purdy K, Elliott DA, Cooper RA, Roepe PD.** Stage independent chloroquine resistance and chloroquine toxicity revealed via spinning disk confocal microscopy. *Mol Biochem Parasitol.* 2008;159:7-23. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2007.12.014>
3. **Ramírez MO, Cardona NF, Pabón VA, Blair TS.** Etnobotánica de las plantas antimaláricas del Vaupés Medio: recuperación del saber médico tradicional. *Actu Biol.* 2012; 34:154.
4. **Dike IP, Obembe OO, Adebisi FE.** Ethnobotanical survey for potential anti-malarial plants in south-western Nigeria. *J Ethnopharmacol.* 2012;144:618-26. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.10.002>
5. **Murambiwa P, Masola B, Govender T, Mukaratirwa S, Musabayane CT.** Anti-malarial drug formulations and novel delivery systems: A review. *Acta Trop.* 2011;118:71-9. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.03.005>
6. **Oksman-Caldentey K-M, Inzé D.** Plant cell factories in the post-genomic era: New ways to produce designer secondary metabolites. *Trends Plant Sci.* 2004;9:433-40. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.07.006>
7. **Pabón A, Ramírez O, Ríos A, López E, de Las Salas B, Cardona F, et al.** Antiplasmodial and cytotoxic activity of raw plant extracts as reported by knowledgeable indigenous people of the Amazon region (Vaupés Medio in Colombia). *Planta Med.* 2016;82:717-22. <https://doi.org/10.1055/s-0042-104283>

8. **S. Flückiger-Isler MK.** The Ames MPFTM 98/100 assay: Novel mutagenicity testing in liquid microplate format using *S. typhimurium* TA98 and TA100. *Gewerbestrass*; Xenometrix; 2006.
9. **Westerink WM, Stevenson JC, Horbach GJ, Schoonen WG.** The development of RAD51C, Cystatin A, p53 and Nrf2 luciferase-reporter assays in metabolically competent HepG2 cells for the assessment of mechanism-based genotoxicity and of oxidative stress in the early research phase of drug development. *Mutat Res.* 2010;696:21-40. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2009.12.007>
10. **García-Huertas P, Pabón A, Arias C, Blair S.** Evaluación del efecto citotóxico y del daño genético de extractos estandarizados de *Solanum nudum* con actividad anti-plasmoidal. *Biomédica.* 2013;33:78-87. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i1.838>
11. **Mayence A, Vanden-Eynde JJ, Kaiser M, Brun R, Yarlett N, Huang TL.** Bis(oxyphenylene)benzimidazoles: A novel class of anti-*Plasmodium falciparum* agents. *Bioorg Med Chem.* 2011;19:7493-500. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.10.039>
12. **Maron DM, Ames BN.** Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res.* 1983;113:173-215. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(83\)90010-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(83)90010-9)
13. **Flückiger-Isler S, Kamber M.** Direct comparison of the Ames microplate format (MPF) test in liquid medium with the standard Ames pre-incubation assay on agar plates by use of equivocal to weakly positive test compounds. *Mutat Res.* 2012;747:36-45. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2012.03.014>
14. **Platel A, Gervais V, Sajot N, Nesslany F, Marzin D, Claude N.** Study of gene expression profiles in TK6 human cells exposed to DNA-oxidizing agents. *Mutat Res.* 2010;689:21-49. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2010.04.004>
15. **Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL.** A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 1988;175:184-91. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
16. **Zúñiga-Venegas LA, Creus-Capdevila A, Marcos-Dauder R.** Optimizaciones metodológicas del ensayo del cometa y su aplicación en biomonitorización humana. *Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona;* 2009.
17. **Guilherme S, Gaivão I, Santos MA, Pacheco M.** European eel (*Anguilla anguilla*) genotoxic and pro-oxidant responses following short-term exposure to Roundup--a glyphosate-based herbicide. *Mutagenesis.* 2010;25:523-30. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq038>
18. **Rodrigues CD, Hannus M, Prudêncio M, Martin C, Gonçalves LA, Portugal S, et al.** Host scavenger receptor SR-BI plays a dual role in the establishment of malaria parasite liver infection. *Cell Host Microbe.* 2008;4:271-82. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2008.07.012>
19. **Verma N, Pink M, Rettenmeier AW, Schmitz-Spanke S.** Benzo[a]pyrene-mediated toxicity in primary pig bladder epithelial cells: A proteomic approach. *J Proteomics.* 2013; 85:53-64. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2013.04.016>
20. **Chen M, Gu H, Ye Y, Lin B, Sun L, Deng W, et al.** Protective effects of hesperidin against oxidative stress of tert-butyl hydroperoxide in human hepatocytes. *Food Chem Toxicol.* 2010;48:2980-7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.037>
21. **Minicucci EM, Ribeiro DA, da Silva GN, Pardini MI, Montovani JC, Salvadori DM.** The role of the TP53 gene during rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *Exp Toxicol Pathol.* 2011;63:483-9. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2010.03.009>
22. **Amiri F, Zarnani A-H, Zand H, Koohdani F, Jeddi-Tehrani M, Vafa M.** Synergistic anti-proliferative effect of resveratrol and etoposide on human hepatocellular and colon cancer cell lines. *Eur J Pharmacol.* 2013;718:34-40. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.09.020>
23. **Mukherjee A, Misra S, Howlett NG, Karmakar P.** Multi-nucleation regulated by the Akt/PTEN signaling pathway is a survival strategy for HepG2 cells. *Mutat Res.* 2013;755:135-40. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.06.009>
24. **Murugaiyan J, Rockstroh M, Wagner J, Baumann S, Schorsch K, Trump S, et al.** Benzo[a]pyrene affects Jurkat T cells in the activated state via the antioxidant response element dependent Nrf2 pathway leading to decreased IL-2 secretion and redirecting glutamine metabolism. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013;269:307-16. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.03.032>
25. **Das PJ, Paria N, Gustafson-Seabury A, Vishnoi M, Chaki SP, Love CC, et al.** Total RNA isolation from stallion sperm and testis biopsies. *Theriogenology.* 2010;74:1099-106. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.04.023>
26. **Viegas O, Žegura B, Pezdric M, Novak M, Ferreira IM, Pinho O, et al.** Protective effects of xanthohumol against the genotoxicity of heterocyclic aromatic amines MeIQx and PhIP in bacteria and in human hepatoma (HepG2) cells. *Food Chem Toxicol.* 2012;50:949-55. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.031>
27. **Stephenson FH.** Calculations for molecular biology and biotechnology. A guide to mathematics in the laboratory. Second edition. London: Academic Press; 2010. p. 458.
28. **Koch A, Tamez P, Pezzuto J, Soejarto D.** Evaluation of plants used for antimalarial treatment by the Maasai of Kenya. *J Ethnopharmacol.* 2005;101:95-9. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.03.011>
29. **Ahir BK, Pratten MK.** Developmental cardiotoxicity effects of four commonly used antiepileptic drugs in embryonic chick heart micromass culture and embryonic stem cell culture systems. *Toxicol In Vitro.* 2014;28:948-60. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.04.001>
30. **Darwish W, Ikenaka Y, Eldaly E, Ishizuka M.** Mutagenic activation and detoxification of benzo[a]pyrene in vitro by hepatic cytochrome P450 1A1 and phase II enzymes in three meat-producing animals. *Food Chem Toxicol.* 2010;48: 2526-31. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.026>
31. **Zeiger E.** Historical perspective on the development of the genetic toxicity test battery in the United States. *Environ Mol Mutagen.* 2010;51:781-91. <https://doi.org/10.1002/em.20602>
32. **Rodrigues S, Antunes SC, Correia AT, Nunes B.** Acute and chronic effects of erythromycin exposure on oxidative stress and genotoxicity parameters of *Oncorhynchus mykiss*. *Sci Total Environ.* 2016;545-546:591-600. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.10.138>
33. **Madikizela B, Ndhala AR, Finnie JF, van Staden J.** Anti-mycobacterial, anti-inflammatory and genotoxicity evaluation

- of plants used for the treatment of tuberculosis and related symptoms in South Africa. *J Ethnopharmacol.* 2014;153:386-91. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.034>
34. **Renglin-Lindh A, Schultz N, Saleh-Gohari N, Helleday T.** RAD51C (RAD51L2) is involved in maintaining centrosome number in mitosis. *Cytogenet Genome Res.* 2007;116:38-45. <https://doi.org/10.1159/000097416>
 35. **de Almagro MC, Vucic D.** The inhibitor of apoptosis (IAP) proteins are critical regulators of signaling pathways and targets for anti-cancer therapy. *Exp Oncol.* 2012;34:200-11.
 36. **Sun M, Meares G, Song L, Jope RS.** XIAP associates with GSK3 and inhibits the promotion of intrinsic apoptotic signaling by GSK3. *Cell Signal.* 2009;21:1857-65. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2009.08.002>
 37. **Boehme K, Dietz Y, Hewitt P, Mueller SO.** Activation of P53 in HepG2 cells as surrogate to detect mutagens and promutagens in vitro. *Toxicol Lett.* 2010;198:272-81. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2010.07.007>
 38. **Bryan HK, Olayanju A, Goldring CE, Park BK.** The Nrf2 cell defence pathway: Keap1-dependent and -independent mechanisms of regulation. *Biochem Pharmacol.* 2013;85:705-17. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.11.016>
 39. **Klaassen CD, Reisman SA.** Nrf2 the rescue: Effects of the antioxidative/electrophilic response on the liver. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2010;244:57-65. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.01.013>
 40. **Stępkowski TM, Kruszewski MK.** Molecular cross-talk between the NRF2/KEAP1 signaling pathway, autophagy, and apoptosis. *Free Radic Biol Med.* 2011;50:1186-95. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.033>
 41. **Roy A, Sil PC.** Taurine protects murine hepatocytes against oxidative stress-induced apoptosis by tert-butyl hydroperoxide via PI3K/Akt and mitochondrial-dependent pathways. *Food Chem.* 2012;131:1086-96. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.057>
 42. **Jayakumar S, Pal D, Sandur SK.** Nrf2 facilitates repair of radiation induced DNA damage through homologous recombination repair pathway in a ROS independent manner in cancer cells. *Mutat Res.* 2015;779:33-45. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2015.06.007>
 43. **Slamenova D, Kozics K, Hunakova L, Melusova M, Navarova J, Horvathova E.** Comparison of biological processes induced in HepG2 cells by tert-butyl hydroperoxide (t-BHP) and hydroperoxide (H2O2): The influence of carvacrol. *Mutat Res.* 2013;757:15-22. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2013.03.014>
 44. **International Agency for Research on Cancer -IARC.** Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. *IARC Monogr.* 2010;92:35-773.
 45. **Cheng T, Scadden DT.** Cell cycle regulators in stem cells. In: Lanza R, Atala A, editors. *Essentials of Stem Cell Biology.* Third edition. Boston: Academic Press; 2014. p. 95-106. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409503-8.00008-1>
 46. **Tyson JJ, Novák B.** Irreversible transitions, bistability and checkpoint controls in the eukaryotic cell cycle: A systems-level understanding. In: Walhout AJM, Vidal M, Dekker J, editors. *Handbook of Systems Biology.* San Diego: Elsevier; 2013. p. 265-85. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385944-0.00014-9>

ORIGINAL ARTICLE

Molecular characterization of non-vaccine *Streptococcus pneumoniae* serotypes 11A, 15 B/C and 23A recovered from invasive isolates in Colombia

Paola Andrea Palacios, Carolina Duarte, Olga Sanabria, Jaime Moreno

Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Introduction: A total of 192 invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates, from serotypes 11A, 15B/C and 23A (not included in the conjugated vaccines), were collected in Colombia between 1994 and 2014 as part of the activities of the Network surveillance system for the causative agents of pneumonia and meningitis (SIREVA II).

Objective: To determine the molecular characteristics of invasive *S. pneumoniae* isolates from serotypes 11A, 15B/C and 23A in Colombia from 1994 to 2014.

Materials and methods: The molecular characterization of the isolates was carried out through Pulse-Field Gel Electrophoresis (PFGE) and Multilocus Sequence Typing (MLST).

Results: Serotype 11A showed one clonal group represented by ST62. Serotype 15B/C was composed of three groups associated with Netherlands^{15B}-37 ST199 (28.75%), ST8495 (18.75%), and SLV (Single-Locus Variant) of ST193 (21.25%). Isolates from serotype 23A were gathered in three clonal groups, with 70.21% closely related to ST42, 17.02% to Colombia^{23F}-ST338, and 6.38% to Netherlands^{15B}-37 ST199.

Conclusion: Clones Colombia^{23F}-ST338 and Netherlands^{15B}-ST199 covered more serotypes than those previously found by other authors, including serotype 23A. These analyses reveal the importance of capsular switching in the spreading of successful clones among non-vaccine serotypes causing invasive pneumococcal disease.

Key words: Vaccines, conjugate; pneumonia; meningitis; pneumococcal infections; multilocus sequence typing; electrophoresis, gel, pulsed-field.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3223>

Caracterización molecular de los serotipos no vacunales 11A, 15 B/C y 23A de *Streptococcus pneumoniae* recuperados de aislamientos invasivos en Colombia

Introducción. En Colombia se recolectaron 192 aislamientos invasivos de *Streptococcus pneumoniae* de los serotipos 11A, 15B/C y 23A (no incluidos en las vacunas conjugadas) entre 1994 y 2014, como parte de las actividades del Sistema de Redes de Vigilancia de los Agentes Responsables de Neumonías y Meningitis Bacterianas (SIREVA II).

Objetivo. Determinar las características moleculares de aislamientos invasivos de los serotipos 11A, 15B/C y 23A de *S. pneumoniae* recolectados en Colombia entre 1994 y 2014.

Materiales y métodos. La caracterización molecular de los aislamientos se hizo mediante electroforesis en gel de campo pulsado (*Pulse-Field Gel Electrophoresis*, PFGE) y por tipificación de secuencias multilocus (*Multilocus Sequence Typing*, MLST).

Resultados. El serotipo 11A mostró un grupo clonal representado por el ST62, en tanto que el serotipo 15B/C se distribuyó en tres grupos asociados con los clones Netherlands^{15B}-37 ST199 (28,75 %), ST8495 (18,75 %) y SLV (variante en un solo locus) de ST193 (21,25 %). Los aislamientos con serotipo 23A se agruparon en tres grupos clonales; 70,21 % de ellos estaban estrechamente relacionados con el ST42, 17,02 % con el Colombia^{23F}-ST338, y 6,38 % con el Netherlands^{15B}-37 ST199.

Conclusión. Los clones Colombia^{23F}-ST338 y Netherlands^{15B}-ST199 encontrados en este estudio abarcaron más serotipos de los reportados previamente por otros autores, incluido el serotipo 23A. Estos análisis revelan la importancia de la conmutación (*switching*) capsular en la expansión de clones exitosos entre los serotipos no vacunales como causa de enfermedad invasiva neumocócica.

Palabras clave: vacunas conjugadas; neumonía; meningitis; infecciones neumocócicas; tipificación de secuencias multilocus; electroforesis en gel de campo pulsado.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3223>

Author's contributions:

Paola Andrea Palacios, Carolina Duarte, Olga Sanabria and Jaime Moreno: Research design

Paola Andrea Palacios: Research and writing of the paper

All authors read and approved the final paper.

Streptococcus pneumoniae is an important cause of morbidity and mortality in diseases such as otitis, pneumonia, sepsis, and meningitis (1). Many of the 96 serotypes of *S. pneumoniae* rarely cause serious illnesses, but a small number of them cause the great majority of invasive pneumococcal diseases (IPD) (2,3). In the context of surveillance, serotypes recovered from IPDs have been used to guide the development of the pneumococcal conjugate vaccines (PCV) for prevention of infections in developed countries. However, *S. pneumoniae* population biology is not well understood, and neither is the relative disease potential of different serotypes (4).

In Colombia, the seven-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7) was added to the childhood immunization program in 2009, covering serotypes 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F and 23F. Subsequently, in 2010, the PCV10, which includes the seven serotypes of PCV7 and serotypes 1, 5 and 7F, was introduced (5). The benefits of introducing PCVs have been demonstrated by the high efficacy against vaccine serotypes (VT) in invasive diseases and in carriage (6). However, the main concern after their implementation has been the increase of the non-vaccine serotypes (NVT) in IPD cases, as reported in several studies and updated information from surveillance programs (7,8).

This concern can be attributed to "serotype replacement", defined by the expansion of preexisting NVT pneumococci as a response to vaccine pressure (9), and to "serotype switching", a change of serotype in a single clone by alteration or exchange of its cps locus (10). Additionally, these effects are not completely independent because capsular switch variants can subsequently expand within a population (11).

Long-term surveillance has become essential to understand induced changes in NVT carriage and disease, to evaluate the safety and effectiveness of pneumococcal vaccines (12), and to identify the prevalent serotypes causing invasive diseases. Surveillance programs results suggest that the prevalence of pneumococci of various serotypes not included in the conjugated vaccines is rapidly increasing worldwide (e.g., 11, 12, 15, 22F, 23A, 23B, 33F, 24, 34, and 35B) (13,14).

Corresponding author:

Jaime Moreno, Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud, Avenida calle 26 N° 51-20, Bogotá, D.C., Colombia
Telephone: (571) 220 7700, extension 1420; telefax: (571) 220 7700, extension 1421
jmoreno@ins.gov.co

Received: 30/03/16; accepted: 15/11/16

This study focused on the non-PCV13 serotypes 11A, 23A, 15B/C, that have dominated in carriage after vaccine introduction among other NVTs (15). The surveillance on these serotypes in IPD isolates is crucial given that they can act as the main source for pneumococcal transmission, influencing the significant increase of non-PCV13 strains in invasive diseases (15).

In fact, an important increase of these serotypes in IPD cases has been reported in England (11A and 23A) (16), the United States (15B/C and 23A) (17-19), Spain (23A) (20) Denmark (15B) (21), and Israel (15B) (22) after the introduction of the PCV13.

The analysis of information obtained from patients and isolates has become an important tool to understand the dynamics of NVT before and after vaccine introduction in a population. In Colombia, the surveillance of capsular types and antibiotic resistance from IPD started in 1994, through the SIREVA II program coordinated by the Pan American Health Organization (PAHO) (23). The main objective of this study was the molecular characterization by PFGE and MLST of invasive 11A, 15B/C and 23A non vaccine serotypes recovered between 1994 and 2014 in Colombia.

Materials and methods

Bacterial isolates and patient data

We recovered 192 invasive isolates of serotypes 11A (n=65), 15B/C (n=80) and 23A (n=47) from children and adults, which are kept at the *Grupo de Microbiología* from the *Instituto Nacional de Salud* strain collection as part of the SIREVA II surveillance activities from 1994 to 2014. Currently this surveillance covers 27 regions of the country (5). An IPD case was defined as the isolation of *S. pneumoniae* from a normally sterile body site such as blood, cerebrospinal fluid or other normally sterile body fluid (5).

Isolate typing was carried out by the Quellung reaction using antisera from the Statens Serum Institut (Copenhagen, Denmark), while antimicrobial susceptibility to penicillin (P), ceftriaxone (CRO), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), chloramphenicol (CLO), tetracycline (TET), erythromycin (E) and vancomycin (V) was determined by the broth microdilution method following the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines. The nonmeningeal breakpoints were interpreted according to these guidelines too (24,25).

Pulsed-field gel electrophoresis

Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) was performed on all isolates following Vela, *et al.*, protocol (26). Genomic DNA was digested with *Sma* I (Promega). Strain R6 and λ ladder marker (New England Biolabs) were used as molecular weight standards. *Streptococcus pneumoniae* clones were included in the PFGE analyses to verify their clonal relation with the isolates (Netherlands^{15B}-37, Tennessee^{23F}-4, Colombia^{23F}-26, S. Africa^{19A} -13, Hungary^{19A} -6, Spain^{9V} -3, Spain^{23F} -1, Spain^{6B} -2). Band patterns from each isolate were analyzed with the GelCompare software in order to obtain the dendrograms.

Multilocus sequence typing

Multi-Locus Sequence Typing (MLST) was carried out as described previously (27), and nine isolates were selected according to the results obtained by PFGE. For each clonal group, one isolate was chosen in order to determine the sequence type. PCR products were sequenced on each strand and genetic profiles were analyzed using the software available at the pneumococcal MLST website (<http://spneumoniae.mlst.net>).

Results

Bacterial isolates and patient data

From 1994 to 2014 the frequency of invasive isolates from serotypes 11A, 15B/C, and 23A changed from 1.9% to 9.5% (figure 1). The isolates were recovered from less than 2-year-old patients (20.83%), 2 to 4 years old (8.33%), 5 to 14 years old (10.93%), 15 to 50 years old (28.12%), and more than 50 years old (26.04%). No particular behavior or population preference was found among the three serotypes in the different age groups. The age information was not available in 5.7% of the cases. The main clinical condition caused by the three NVTs was meningitis, followed by bacteremia and pneumonia, as detailed in table 1.

Sixty two percent of the three NVT isolates showed susceptibility to all the antibiotics tested. Trimethoprim/sulfamethoxazole resistance was mainly observed in isolates from serotypes 11A and 15B/C, while tetracycline resistance predominated in serotypes 15B/C and 23A (as described in table 2). Most of the isolates that presented erythromycin resistance belonged to the serotype 23A (table 2). All erythromycin-resistant isolates within the serotype 23A were also resistant to tetracycline. Multidrug resistance to three or more classes of antibiotics

was observed in 3.1% of all the isolates: 11A: P + CLO + SXT + TE (n=1), 15B/C: P + CE + SXT (n=1) and 23A: P + TE + SXT (n=1), CLO + SXT + E + TE (n=1), P + E + TE (n=2).

Molecular characterization

PFGE results indicated that the different serotypes expressing the same sequence type also shared the same clonal group. Band patterns in dendrograms were very similar. For example, in the 23A PFGE analysis, we found not only serotype 23A isolates within the ST199 clonal group, but also serotypes 15C and 19A. However, the antibiotic resistance profile inside the clonal groups is not the same for all the isolates, and in the case of the ST199 it can vary from antibiotic susceptibility (15C) to penicillin and erythromycin resistance (19A).

PFGE results also revealed that 89.23% of 11A isolates were closely related in only one clonal group. This group was associated with the ST62, while 10.8% of the isolates were genetically unrelated. Serotype 15B/C presented three clonal groups, and 28.75% of these isolates were related to the

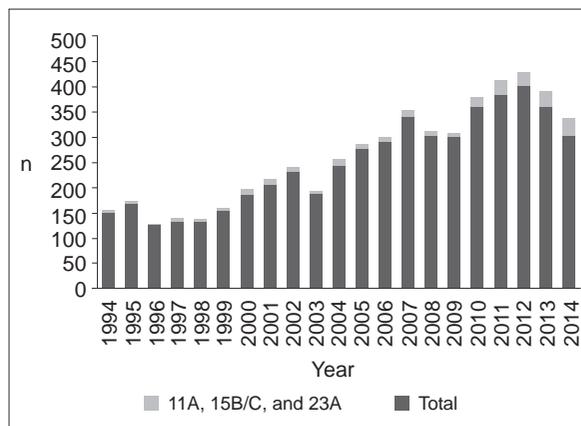


Figure 1. Annual frequency of invasive *S. pneumoniae* isolates from non-vaccine serotypes 11A, 15B/C and 23A, compared with the frequency of total invasive isolates recovered in Colombia from 1994 to 2014 (<http://www.ins.gov.co>)

Table 1. Distribution by diagnosis of invasive *S. pneumoniae* isolates, serotypes 11A, 15B/C and 23A, during study period

Diagnosis	11A		15B/C		23A	
	n	%	n	%	n	%
Meningitis	16	24.6	36	44.4	16	34.8
Bacteremia	16	24.6	16	19.7	10	21.7
Pneumonia	11	16.9	11	13.5	10	21.7
Not available	22	33.8	17	22.2	11	21.7
Total	65		80		47	

Table 2. Resistance of *S. pneumoniae* isolates from non-vaccine serotypes 11A, 15B/C and 23A (1994-2014 invasive pneumococcal diseases surveillance)

Antibiotic	Number of isolates					
	11A		15B/C		23A	
	n	%	n	%	n	%
Trimethoprim/sulfamethoxazole	13	20.0	14	17.3	2	4.3
Tetracycline	8	12.3	17	21.1	24	52.2
Penicillin	2	3	7	8.6	6	13.0
Chloramphenicol	2	3	0	0	1	2.2
Erythromycin	2	3	0	0	8	17.4
Ceftriaxone	0	0	1	1.2	0	0
Non-antibiotic resistance	46	70.7	51	62.9	22	47.8

Netherlands^{15B}-37 ST199, 21.25% to the single-locus variant of ST193, 18.75% to the ST8495, and 31.25% were genetically unrelated. Serotype 23A presented three clonal groups, and the largest group gathered 70.2% of the isolates associated with the ST42 (the double locus variant of Tennessee^{23F}-4 clone), while 17.02% of isolates from this serotype were closely related to the Colombia^{23F}-ST338, 6.38 % to the Netherlands^{15B}-37 ST199, and 6.38% were genetically unrelated.

Antibiotic resistance profiles per clonal group showed similarities among isolates. Nevertheless, susceptible and resistant isolates to one, two or more antibiotics were found in the same clonal group in the three NVT analyses.

Discussion

The widespread use of conjugate vaccines has been very effective in reducing IPD cases. However, disease increase caused by NVT (“serotype replacement”) has subsequently offset some of these reductions (7,8).

NVT surveillance is an issue of concern given its relation with invasive diseases affecting less than two-year-old children, i.e., the most vulnerable population (28). Nevertheless, in this study 20.8% of isolates came from less than 2-year-old children, and 26.0% from more than 50-year-old adults. In this case, the less invasive serotypes, acting as “opportunistic pathogens”, would be expected to preferentially cause disease in older patients with higher levels of comorbidity. These associations can be considered to predict which pneumococcal vaccine would be recommended according to the population group (29).

PFGE results for serotype 11A revealed a clonal behavior related to ST62 erythromycin resistance, as reported by other authors (30,31). Despite its

characteristic erythromycin resistant profile, only 3% of this group of isolates showed resistance to this antibiotic during the susceptibility test (table 2).

Aguinalalde, *et al.*, reported that serotype 11A, ST62 invasive isolates are more resistant to phagocytosis than other 11A clones. Therefore, the isolates that are more resistant to neutrophil clearance will have an advantage and persist in the nasopharynx to facilitate its clonal expansion (31). This divergence could have implications for decision-makers making product choices for adult pneumococcal vaccination programs.

The carriage prevalence of this NVT has been reported after the PCV introduction in Hungary (32), Colombia (33), and from invasive diseases in Spain (20) and the United States (30). Even when this serotype is associated with asymptomatic carriage, its importance resides on the significant mortality caused by invasive diseases (30).

Harboe, *et al.*, showed that highly encapsulated and frequently carried serotypes such as 11A might have high mortality rates in healthy people. These rates can be comparable to those of serotypes 19F and 6B, which were successful in the pre-vaccine era (34).

PFGE analyses of serotype 15B/C established that the Netherlands^{15B}-37 ST199 clone comprised the major clonal group of the dendrogram. This sequence type has been found and reported in other serotypes, including 19A, 14 and 15B/C (35). In the United States, it is known as a penicillin susceptible invasive type for serotype 15B/C and an intermediately penicillin resistant type for serotype 19A (36). This clonal complex is successful at population level for its adaptation in carriage, otitis media, and invasive disease. Therefore, the 15B/C isolates can disseminate as the 19A ones and cause pneumococcal diseases (17,37).

The single-locus variant (SLV) of ST193 (Greece²¹⁻³⁰), the second most frequent in this study for 15B/C isolates, has been previously associated with serotypes 21 (38) and 19A (38), and with serogroup 15 (37). According to the MLST database, they have been found in the United States, Germany, Italy, and the Kingdom of Saudi Arabia, and they are distributed at least in eight different serotypes (39). During a study of antimicrobial resistance in *S. pneumoniae* in Finland, the ST193 predominated among the telithromycin resistant isolates, which were serotyped as 19A (40).

One of the serotype 23A clonal groups was represented by the double locus variant of Tennessee^{23F-4} clone, known as the ST42. Little information is available about this sequence type, although it is considered the founder of the clonal complex CC42, between the serotypes 23A and 23F (41). Our results indicated that most of the isolates associated with this sequence type showed antibiotic susceptibility or tetracycline resistance.

All the 23A erythromycin-resistant isolates were resistant to tetracycline, and most of them were related to the ST338. In this sense, Ramos, *et al.*, observed that 53.4% of the Colombian erythromycin-resistant isolates presented tetracycline resistance (42). The sequence type ST338 in Colombia has been associated with serotype 19A and 23F (33), and it was originally reported from penicillin-non susceptible invasive isolates in Colombia, Brazil and Iceland between 1989 and 1996 (42,43). However, in this study only three isolates showed penicillin resistance.

Given that this successful clone covers more than one serotype, it would be important to monitor the development of resistant isolates through SIREVA II surveillance, as done in other countries with the successful clone ST199 (44). This ST199 corresponds to the Netherlands^{15B-37} clone mentioned above, with serotype 15B/C occurring in different capsular types.

Our results suggest that the ST199 now covers the 23A capsular type with three isolates from 2011, 2012 and 2014, as expected from any successful clone. This is only one example of a successful clonal complex that can “camouflage” through capsular switching in NVTs to cause IPD as a response to vaccine pressure.

Here we recovered information from the sequence types ST199 and ST338 that cover more than two serotypes through capsular switching. In some

cases, they can act like the predominant clone, probably due to their successful mechanisms for causing invasive diseases through pneumococci replacement (8).

Continuous surveillance of IPD based on susceptibility analyses, PFGE, MLST, Whole-Genome Sequencing, and other techniques, will allow us to follow the dynamics of these clones over time. However, we need to study pneumococcal virulence factors in prevalent clones in order to obtain more information regarding the spread of successful clones like the Colombia^{23F}-ST338 and the Netherlands^{15B}-ST199 among NVTs.

Acknowledgments

This study was financed by the Colombian *Departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación* (Colciencias).

Conflicts of interest

The authors declare that they have no competing interests.

References

1. **Rosen JB, Thomas AR, Lexau CA, Reingold A, Hadler JL, Harrison LH, et al.** Geographic variation in invasive pneumococcal disease following pneumococcal conjugate vaccine introduction in the United States. *Clin Infect Dis.* 2011;53:137-43. <https://doi.org/10.1093/cid/cir326>
2. **Hausdorff WP, Bryant J, Paradiso PR, Siber GR.** Which pneumococcal serogroups cause the most invasive disease: Implications for conjugate vaccine formulation and use, part 1. *Clin Infect Dis.* 2000;30:100-21. <https://doi.org/10.1086/313608>
3. **Park IH, Geno KA, Yu J, Oliver MB, Kim K-H, Nahm MH.** Genetic, biochemical, and serological characterization of a new pneumococcal serotype, 6H, and generation of a pneumococcal strain producing three different capsular repeat units. *Clin Vaccine Immunol.* 2015;22:313-8. <https://doi.org/10.1128/CVI.00647-14>
4. **Brueggemann AB, Griffiths DT, Meats E, Peto T, Crook DW, Spratt BG.** Clonal relationships between invasive and carriage *Streptococcus pneumoniae* and serotype and clone specific differences in invasive disease potential. *J Infect Dis.* 2003;187:1424-32. <https://doi.org/10.1086/374624>
5. **Parra EL, Ramos V, Sanabria O, Moreno J.** Serotype and genotype distribution among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in Colombia, 2005-2010. *PLoS One.* 2014;9:e84993. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084993>
6. **Muñoz-Almagro C, Jordan I, Gene A, Latorre C, García-García JJ, Pallares R.** Emergence of invasive pneumococcal disease caused by nonvaccine serotypes in the era of 7-valent conjugate vaccine. *Clin Infect Dis.* 2008;46:174-82. <https://doi.org/10.1086/524660>
7. **Muller-Graf CD, Whatmore AM, King SJ, Trzcinski K, Pickerill AP, Doherty N, et al.** Population biology of

- Streptococcus pneumoniae* isolated from oropharyngeal carriage and invasive disease. Microbiology. 1999;145:3283-93. <https://doi.org/10.1099/00221287-145-11-3283>
8. **Weinberger DM, Malley R, Lipsitch M.** Serotype replacement in disease after pneumococcal vaccination. A discussion of the evidence. *Lancet*. 2011;378:1962-73. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62225-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62225-8)
 9. **Hanage WP.** Serotype replacement in invasive pneumococcal disease: Where do we go from here? *J Infect Dis*. 2007;196:1282-4. <https://doi.org/10.1086/521630>
 10. **Beall BW, Gertz RE, Hulkower RL, Whitney CG, Moore MR, Brueggemann AB.** Shifting genetic structure of invasive serotype 19A pneumococci in the United States. *J Infect Dis*. 2011;203:1360-8. <https://doi.org/10.1093/infdis/jir052>
 11. **Wyres KL, Lambertsen LM, Croucher NJ, McGee L, von Gottberg A, Liñares J, et al.** Pneumococcal capsular switching: A historical perspective. *J Infect Dis*. 2012;207:439-49. <https://doi.org/10.1093/infdis/jis703>
 12. **Esposito S, Principi N.** Impacts of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children. *J Immunol Res*. 2015; 2015:591580. <https://doi.org/10.1155/2015/591580>
 13. **Ardanuy C, Marimón JM, Calatayud L, Giménez M, Alonso M, Grau I, et al.** Epidemiology of invasive pneumococcal disease in older people in Spain (2007-2009): Implications for future vaccination strategies. *PLoS One*. 2012;7:e43619. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043619>
 14. **Kaplan SL, Barson WJ, Lin PL, Romero JR, Bradley JS, Tan TQ, et al.** Early trends for invasive pneumococcal infections in children after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatr Infect Dis J*. 2013;32:203-7. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e318275614b>
 15. **Galanis I, Lindstrand A, Darenberg J, Browall S, Nannapaneni P, Sjöström K, et al.** Effects of PCV7 and PCV13 on invasive pneumococcal disease and carriage in Stockholm, Sweden. *Eur Respir J*. 2016;47:1208-18. <https://doi.org/10.1183/13993003.01451-2015>
 16. **Moore CE, Paul J, Foster D, Mahar SA, Griffiths D, Knox K, et al.** Reduction of invasive pneumococcal disease 3 years after the introduction of the 13-valent conjugate vaccine in the Oxfordshire Region of England. *J Infect Dis*. 2014;210:1001-11. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu213>
 17. **Thomas JC, Figueira M, Fennie KP, Laufer AS, Kong Y, Pichichero ME, et al.** *Streptococcus pneumoniae* clonal complex 199: Genetic diversity and tissue-specific virulence. *PLoS One*. 2011;6:e18649. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018649>
 18. **Richter SS, Diekema DJ, Heilmann KP, Dohrn CL, Riahi F, Doern GV.** Changes in pneumococcal serotypes and antimicrobial resistance after introduction of the 13-valent conjugate vaccine in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58:6484-9. <https://doi.org/10.1128/AAC.03344-14>
 19. **Mendes RE, Costello AJ, Jacobs MR, Biek D, Critchley IA, Jones RN.** Serotype distribution and antimicrobial susceptibility of USA *Streptococcus pneumoniae* isolates collected prior to and post introduction of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2014;80:19-25. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.05.020>
 20. **Guevara M, Ezpeleta C, Gil-Setas A, Torroba L, Beristain X, Aguinaga A, et al.** Reduced incidence of invasive pneumococcal disease after introduction of the 13-valent conjugate vaccine in Navarre, Spain, 2001-2013. *Vaccine*. 2014;32:2553-62. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.054>
 21. **Harboe ZB, Dalby T, Weinberger DM, Benfield T, Mølbak K, Slotved HC, et al.** Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in invasive pneumococcal disease incidence and mortality. *Clin Infect Dis*. 2014;59:1066-73. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu524>
 22. **Ben-Shimol S, Greenberg D, Givon-Lavi N, Schlesinger Y, Somekh E, Aviner S, et al.** Early impact of sequential introduction of 7-valent and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on IPD in Israeli children <5 years: An active prospective nationwide surveillance. *Vaccine*. 2014; 32:3452-9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.065>
 23. **Di Fabio JL, Castañeda E, Agudelo CI, De la Hoz F, Hortal M, Camou T, et al.** Evolution of *Streptococcus pneumoniae* serotypes and penicillin susceptibility in Latin America, Sireva-Vigía Group, 1993-1999. PAHO Sireva-Vigía Study Group. Pan American Health Organization. *Pediatr Infect Dis J*. 2001;20:959-67.
 24. **Clinical Laboratory Standards Institute.** Disk diffusion. Supplemental tables. In: CLSI. M07-A9. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Ninth edition. Wayne, PA: CLSI; 2014.
 25. **Clinical Laboratory Standards Institute.** MIC testing. Supplemental tables. In: CLSI. M02-A11. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Eleventh edition. Wayne, PA: CLSI; 2014.
 26. **Vela MC, Fonseca N, Di Fabio JL, Castañeda E.** Presence of international multiresistant clones of *Streptococcus pneumoniae* in Colombia. *Microb Drug Resist*. 2001;7:153-64. <https://doi.org/10.1089/10766290152045020>
 27. **Enright MC, Spratt BG.** A multilocus sequence typing scheme for *Streptococcus pneumoniae*: Identification of clones associated with serious invasive disease. *Microbiology*. 1998;144:3049-60. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-11-3049>
 28. **Fletcher M, Laufer D, McIntosh E, Cimino C, Malinoski F.** Controlling invasive pneumococcal disease: Is vaccination of at-risk groups sufficient? *Int J Clin Pract*. 2006;60:450-6. <https://doi.org/10.1111/j.1368-5031.2006.00858.x>
 29. **Grabenstein JD, Musey LK.** Differences in serious clinical outcomes of infection caused by specific pneumococcal serotypes among adults. *Vaccine*. 2014;32:2399-405. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.02.096>
 30. **Camilli R, Bonnal RJ, Del Grosso M, Iacono M, Corti G, Rizzi E, et al.** Complete genome sequence of a serotype 11A, ST62 *Streptococcus pneumoniae* invasive isolate. *BMC Microbiol*. 2011;11:25. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-25>
 31. **Aguinagalde L, Corsini B, Domenech A, Domenech M, Cámara J, Ardanuy C, et al.** Emergence of amoxicillin-resistant variants of Spain^{9V}-ST156 pneumococci expressing serotype 11A correlates with their ability to evade the host immune response. *PLoS One*. 2015;10:e0137565. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137565>

32. **Tóthpál A, Kardos S, Laub K, Nagy K, Tirczka T, van der Linden M, et al.** Radical serotype rearrangement of carried pneumococci in the first 3 years after intensive vaccination started in Hungary. *Eur J Pediatr.* 2015;174:373-81. <https://doi.org/10.1007/s00431-014-2408-1>
33. **Parra EL, De La Hoz F, Díaz PL, Sanabria O, Realpe ME, Moreno J.** Changes in *Streptococcus pneumoniae* serotype distribution in invasive disease and nasopharyngeal carriage after the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine introduction in Bogotá, Colombia. *Vaccine.* 2013;31:4033-8. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.04.074>
34. **Harboe ZB, Thomsen RW, Riis A, Valentiner-Branth P, Christensen JJ, Lambertsen L, et al.** Pneumococcal serotypes and mortality following invasive pneumococcal disease: A population-based cohort study. *PLoS Med.* 2009;6:e1000081. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000081>
35. **Temime L, Boelle PY, Opatowski L, Guillemot D.** Impact of capsular switch on invasive pneumococcal disease incidence in a vaccinated population. *PLoS One.* 2008;3:e3244. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003244>
36. **Laufer AS, Thomas JC, Figueira M, Gent JF, Pelton SI, Pettigrew MM.** Capacity of serotype 19A and 15B/C *Streptococcus pneumoniae* isolates for experimental otitis media: Implications for the conjugate vaccine. *Vaccine.* 2010;28:2450-7. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.12.078>
37. **Ho PL, Chiu SS, Law PY, Chan EL, Lai EL, Chow KH.** Increase in the nasopharyngeal carriage of non-vaccine serogroup 15 *Streptococcus pneumoniae* after introduction of children pneumococcal conjugate vaccination in Hong Kong. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2015;81:145-8. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.11.006>
38. **Dagan R, Givon-Lavi N, Leibovitz E, Greenberg D, Porat N.** Introduction and proliferation of multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A clones that cause acute otitis media in an unvaccinated population. *J Infect Dis.* 2009;199:776-85. <https://doi.org/10.1086/597044>
39. **Gherardi G, Fallico L, Del Grosso M, Bonanni F, D'Ambrosio F, Manganelli R, et al.** Antibiotic-resistant invasive pneumococcal clones in Italy. *J Clin Microbiol.* 2007;45:306-12. <https://doi.org/10.1128/JCM.01229-06>
40. **Rantala M.** Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae* in Finland with special reference to macrolides and telithromycin. Date of entry: 30 de octubre, 2015. Available at: <https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/18982/antimicr.pdf;sequence=2>
41. **Tocheva AS, Jefferies JMC, Christodoulides M, Fausta SN, Clarke SC.** Distribution of carried pneumococcal clones in UK children following the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine: A 3-year cross-sectional population based analysis. *Vaccine.* 2013;31:3187-90. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.04.075>
42. **Ramos V, Duarte C, Díaz A, Moreno J.** Elementos genéticos móviles asociados con resistencia a eritromicina en aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* en Colombia. *Biomédica.* 2014;34:209-16. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1684>
43. **Sá-Leão R, Tomasz A, Sanches IS, Brito-Avô A, Vilhelmsson SE, Kristinsson KG, et al.** Carriage of internationally spread clones of *Streptococcus pneumoniae* with unusual drug resistance patterns in children attending day care centers in Lisbon, Portugal. *J Infect Dis.* 2000;182:1153-60. <https://doi.org/10.1086/315813>
44. **Gertz RE, McEllistrem DJ, Boxrud Z, Li V, Sakota TA, Thompson RR, et al.** Clonal distribution of invasive pneumococcal isolates from children and selected adults in the United States prior to 7-valent conjugate vaccine introduction. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4194-216. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.9.4194-216.2003>

ARTÍCULO ORIGINAL

Precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente

Nelson José Alvis-Zakzuk^{1,2}, María de los Ángeles Carrasquilla^{1,4}, Verónica Jhajaira Gómez³, Jaime Robledo³, Nelson Rafael Alvis-Guzmán^{1,5}, José Mauricio Hernández³

¹ Grupo de Investigación en Economía de la Salud, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

² Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ Corporación para Investigaciones Biológicas, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

⁴ ALZAK Foundation, Cartagena, Colombia

⁵ Grupo de Investigación en Gestión Hospitalaria y Políticas de Salud, Universidad de la Costa, Barranquilla, Colombia

Introducción. La tuberculosis multirresistente (TB-MDR) y la extremadamente resistente (TB-XDR) constituyen un problema de salud pública a nivel mundial. Su detección oportuna permitiría reducir la carga de la enfermedad y su impacto económico en los sistemas de salud.

Objetivo. Revisar sistemáticamente la información relacionada con la precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente y la extremadamente resistente.

Materiales y métodos. Se hizo una revisión sistemática de la literatura, según los lineamientos de Cochrane, de los estudios en población inmunocompetente relacionados con la precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente y la extremadamente resistente. La búsqueda de los estudios publicados a partir del 2007 se hizo en Medline y Embase. La precisión diagnóstica de las pruebas se estableció con base en los valores máximos y mínimos de sensibilidad y especificidad, y en los valores predictivos positivos y negativos.

Resultados. Se detectaron ocho estudios sobre la precisión diagnóstica de la prueba GeneXpert MTB/RIF[®], 12 sobre la de GenoType MTBDRplus[®] y 13 sobre la de GenoType MTBDRsl[®]. La especificidad de GeneXpert MTB/RIF[®] osciló entre 91 y 100 % y su sensibilidad, entre 33,3 y 100 %. La sensibilidad de GenoType MTBDRplus[®] varió entre 82 y 100 %, en tanto que la sensibilidad y la especificidad de GenoType MTBDRsl fluctuaron entre 56 y 100 % y 21 y 100 %, respectivamente.

Conclusión. Según los estudios consultados, los tres métodos de diagnóstico evaluados presentaban una adecuada eficacia diagnóstica para detectar la tuberculosis multirresistente y la extremadamente resistente.

Palabras clave: tuberculosis; tuberculosis extensivamente resistente a drogas; tuberculosis resistente a múltiples medicamentos; sensibilidad y especificidad; revisión.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3437>

Diagnostic accuracy of three technologies for the diagnosis of multi-drug resistant tuberculosis

Introduction: Multi-drug resistant (MDR-TB) and extensively drug-resistant (XDR-TB) tuberculosis are a global public health problem. Their timely detection might reduce the burden of the disease and the economic impact on health systems worldwide.

Objective: To conduct a literature review of the diagnostic accuracy of three molecular tests to detect multi-drug resistant and extensively drug-resistant tuberculosis.

Materials and methods: A systematic literature review following Cochrane methodology was carried out to study the diagnostic accuracy of three molecular tests to detect MDR-TB and XDR-TB in previous studies among immunocompetent population. Articles indexed in Medline and Embase were reviewed starting in 2007. Diagnostic accuracy was reported by sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values of each test.

Results: In total, 8, 12 and 13 studies were included to assess the diagnostic accuracy of GeneXpert MTB/RIF[®], GenoType MTBDRplus[®] and GenoType MTBDRsl[®], respectively. The specificity of GeneXpert MTB/RIF[®] ranged between 91 and 100%, and its sensitivity between 33.3 and 100%. The sensitivity of

Contribución de los autores:

Nelson José Alvis-Zakzuk, Nelson Rafael Alvis-Guzmán y José Mauricio Hernández: estructuración del manuscrito, aportes a resultados y discusión

María de los Ángeles Carrasquilla: discusión sobre la metodología y análisis de la información

Verónica Jhajaira Gómez y Jaime Robledo: redacción del manuscrito y discusión de los resultados

Todos los autores participaron en la selección de los estudios publicados.

GenoType® MTBDRplus® ranged between 88 and 100%. The sensitivity and specificity of GenoType MTBDRs® to evaluate drug resistance ranged between 56 and 100% and 21 and 100%, respectively.

Conclusion: The three diagnostic tests evaluated have shown an adequate diagnostic accuracy to detect MDR and XDR tuberculosis.

Key words: Tuberculosis; extensively drug-resistant tuberculosis; tuberculosis, multidrug-resistant; sensitivity and specificity; review.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3437>

La tuberculosis es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium tuberculosis* que compromete principalmente los pulmones, pero puede afectar otros órganos y tejidos (1). La infección suele ser asintomática en personas sanas, pues su sistema inmunológico las protege de la bacteria. Actualmente, la tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas con mayor morbilidad y mortalidad en el mundo (2,3). Aproximadamente, un tercio de la población mundial está infectada con el bacilo que la causa (4) y en 22 países de ingreso medio y bajo se acumula cerca del 80 % de los casos en el mundo (5).

Aunque la enfermedad es tratable, el mal uso y el poco cumplimiento del tratamiento antibiótico han generado resistencia, lo cual ha dado lugar a la aparición de la tuberculosis multirresistente, considerada hoy como un problema de salud pública a nivel mundial (6,7). La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que entre 2011 y 2015 más de dos millones de personas desarrollaron la enfermedad multirresistente (8).

Aunque la morbilidad de la tuberculosis ha decrecido en los últimos años, la incidencia y la prevalencia de la forma multirresistente se han incrementado (8,9). Sus patrones de transmisión varían según las diferencias geográficas, el desarrollo socio-económico de los territorios y las epidemias de la enfermedad en áreas y poblaciones específicas (10). La OMS estima que anualmente aparecen 650.000 casos de tuberculosis multirresistente (al menos a isoniacida y rifampicina, que son los medicamentos de primera línea más eficaces), y casi 50 % de ellos se registran en India, China y Rusia (6).

En algunos casos, la resistencia a los fármacos puede provocar la aparición de tuberculosis extremadamente resistente (11). Se estima que cerca

de 9,6 % de los casos de tuberculosis multirresistente también son extremadamente resistentes (8). Según datos de la OMS para el 2014, el 3,3 % de los nuevos casos de tuberculosis y el 20 % de los casos previamente tratados, correspondían a tuberculosis multirresistente, en tanto que 190.000 personas murieron.

Uno de los principales obstáculos para detener la aparición de la resistencia a los medicamentos es la falta de acceso a pruebas diagnósticas. Se estima que solo 58 % de los pacientes previamente tratados y 12 % de los pacientes nuevos, han tenido acceso a una prueba que permita detectar la resistencia a medicamentos (12). La detección oportuna de la tuberculosis multirresistente y de la extremadamente resistente permitiría un tratamiento más efectivo y, por lo tanto, reduciría la carga de la enfermedad, y su impacto social y económico en los sistemas de salud (13).

En 2008, la OMS validó el uso del ensayo GenoType MTBDRplus® (GTPlus) (Life Science, Nehren, Alemania, V1.0) para la detección rápida y simultánea del complejo *M. tuberculosis*, y la resistencia a rifampicina e isoniacida a partir de cultivos o muestras clínicas pulmonares con baciloscopia positiva (14,15). La prueba se basa en una reacción en cadena de la polimerasa múltiple (PCR múltiple), la cual genera diversos productos de amplificación (sondas) que reconocen las mutaciones génicas más frecuentes asociadas con la resistencia a isoniacida y rifampicina mediante hibridación inversa; los resultados se obtienen en ocho horas (16-18).

En 2009, la compañía Hain Life Science introdujo la prueba comercial GenoType MTBDRs® (GTSL) para detectar la resistencia a medicamentos de segunda línea contra la tuberculosis. La prueba detecta las mutaciones más comunes en los genes *gyrA*, *rrs* y *embB*, relacionadas con la resistencia a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y etambutol (19,20).

En 2010, la OMS autorizó el uso de la prueba Gene Xpert MTB/RIF® (GX) (Cepheid, Inc., CA, USA) en países endémicos (21). Este es un método

Correspondencia:

Nelson José Alvis-Zakzuk, Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Avenida Calle 26 N° 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: 3002209164
alviszakzuk@gmail.com

Recibido: 02/08/16; aceptado: 15/11/16

molecular automatizado que integra la extracción de ADN, la amplificación genómica por PCR en tiempo real, la detección semicuantitativa y la detección de la resistencia a la rifampicina debida a mutaciones en el gen *rpoB*, con lo cual el diagnóstico de tuberculosis y la detección de resistencia a este medicamento se obtienen en dos horas (22).

Según los lineamientos de la OMS para el 2015, las pruebas de diagnóstico molecular deben utilizarse en donde haya alta incidencia de tuberculosis, en pacientes con infección simultánea con HIV y cuando exista gran sospecha de tuberculosis multirresistente. Estas pruebas tienen la ventaja de brindar resultados rápidos, comparadas con los métodos tradicionales de cultivo, con los cuales se requieren, en promedio, cuatro semanas para obtener un resultado. Sin embargo, se recomienda que se haga una prueba fenotípica para confirmar el resultado de la prueba molecular (23).

En Colombia, se notificaron 12.720 casos de tuberculosis en 2014, es decir, una incidencia de 26 por 100.000 habitantes (24). Según la última encuesta publicada sobre prevalencia de tuberculosis multirresistente en 2005, la incidencia era de 2,38 % en los casos nuevos y de 31,44 % en los previamente tratados (25). En 2013, el Instituto Nacional de Salud reportó cerca de 378 casos de tuberculosis multirresistente, lo cual evidenció un significativo aumento en la incidencia de la resistencia a los fármacos antituberculosos (26).

En este contexto, se hizo una revisión sistemática de la literatura científica para establecer la precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares (GTPlus, GTSL y GX) de detección de tuberculosis multirresistente y tuberculosis extremadamente resistente en estudios en población inmunocompetente.

Materiales y métodos

Búsqueda electrónica y criterios de selección

Se buscaron en las bases de datos de Medline de PubMed y en Embase los estudios publicados desde el 2007, por ser este el año de inicio del uso de las pruebas moleculares, y hasta el 15 de diciembre de 2014. En el anexo 1, disponible en <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3437>, se resumen los algoritmos de búsqueda utilizados en la revisión.

En la selección de los estudios, se incluyeron los ensayos clínicos aleatorios y los estudios observacionales que evaluaron las pruebas GTPlus, GTSL y GX, ya fuera por separado o en conjunto,

o que las hubieran comparado con los estándares de referencia para el diagnóstico de tuberculosis multirresistente o tuberculosis extremadamente resistente en población adulta sin diagnóstico de infección por HIV. Solo se incluyeron los estudios con acceso al texto completo.

Definición de tuberculosis multirresistente y tuberculosis extremadamente resistente

La tuberculosis multirresistente se define como la causada por un organismo resistente, por lo menos, a los dos medicamentos más utilizados en el tratamiento de esa enfermedad (isoniacida y rifampicina) (27) y la tuberculosis extremadamente resistente, como aquella con resistencia a isoniacida y rifampicina, a una fluoroquinolona (levofloxacina, moxifloxacina u ofloxacina) o, por lo menos, a uno de tres aminoglucósidos inyectables (amikacina, kanamicina o capreomicina) (27).

Selección de estudios

Después de la búsqueda inicial para excluir duplicados, dos revisores exploraron de forma independiente los títulos y los resúmenes de los artículos para detectar los estudios elegibles con acceso al texto completo. Las discrepancias fueron resueltas por otros dos revisores. Los estudios se etiquetaron tomando como referencia el apellido del autor y el año de publicación.

Selección de variables y reporte de datos

Las variables de análisis fueron la temporalidad del estudio (prospectivo, retrospectivo), el año de publicación, el país y la clasificación del ingreso según el Banco Mundial (28), el tipo de selección de los participantes (consecutiva, por conveniencia, aleatoria) y las medidas de precisión diagnóstica (sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos). Los datos se almacenaron y se procesaron en Microsoft Excel® 2013.

La precisión diagnóstica de las pruebas se determinó con base en los valores máximos y mínimos de sensibilidad y especificidad, y los valores predictivos positivos y negativos.

Resultados

Estudios incluidos en las revisiones sistemáticas

El flujograma de inclusión y exclusión de estudios se describe en la figura 1.

Capacidad diagnóstica de GTPlus, GTSL y GX

GeneXpert MTB/RIF® (GX). Con los algoritmos de búsqueda se encontraron 826 artículos (240

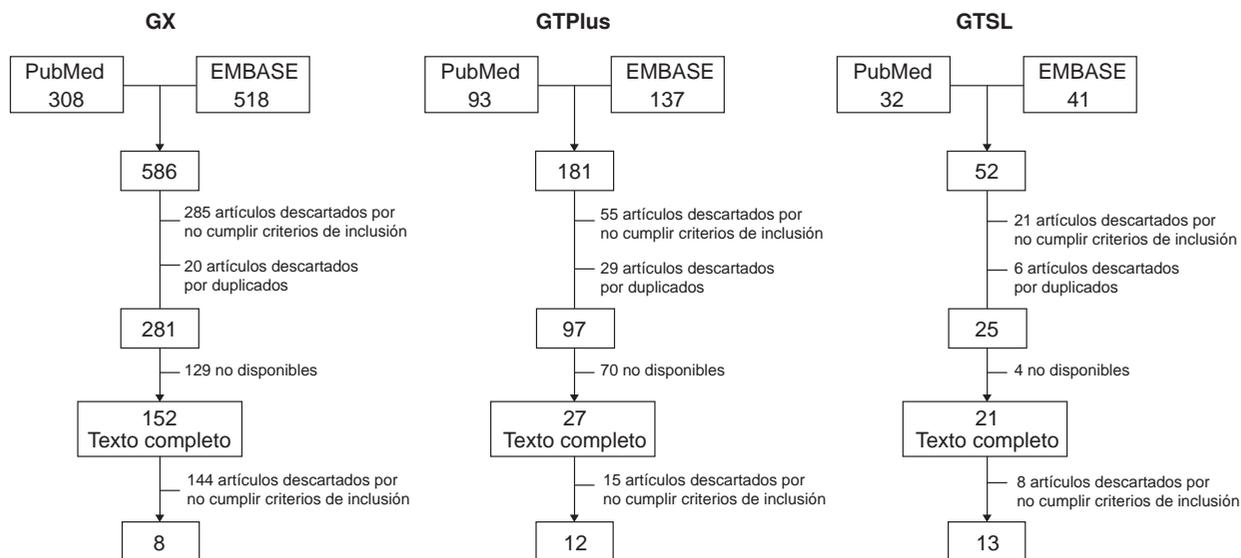


Figura 1. Flujograma de las revisiones sistemáticas

duplicados). Se revisaron los títulos y los resúmenes de los 586 restantes y, finalmente, se escogieron 281. De estos, 152 tenían el texto completo, y ocho (22,27,29-34) cumplían con los criterios de inclusión para la evaluación de la tuberculosis multirresistente. De los ocho incluidos, dos eran estudios multicéntricos (22,29) para evaluar la tuberculosis multirresistente en cinco países cada uno, y otro era una revisión sistemática (34) de la cual se extrajo la información de 12 estudios para evaluar la prueba GX en diversos países del mundo.

Se analizaron en total 28 estudios en sendos países, de los cuales 12 (42,9 %) se realizaron en países de ingreso alto (27,30,31,35-43), diez (35,7 %) en países de ingreso medio alto (22,29,33,44,45), cuatro (14,3 %) en países de ingreso medio bajo (22,29,32), y dos (7,1 %) en países de ingreso bajo (29,46). Veinte estudios (71,4 %) eran prospectivos, cuatro (14,3 %) eran retrospectivos y cuatro (14,3 %) combinaban el diseño retrospectivo y el prospectivo. Según el tamaño de la muestra, el estudio con la muestra más pequeña fue el de Malbruny (39) y el de la muestra más grande, el de Hanrahan (44) (cuadro 1).

Con respecto al estándar de referencia para la tuberculosis multirresistente en los estudios de evaluación de la prueba GX, el más utilizado fue el *Mycobacteria Growth Indicator Tube* (MGIT960), empleado como referencia en la mitad de los estudios (22,29-32,35,38-41,44,46). El segundo más frecuente fue el medio de Löwenstein-Jensen (32,1 %), utilizado en nueve estudios (22,29,33,37,

42). En otros estudios se utilizó el agar Middlebrook 7H10 (45), el BACTEC 460TB (36), la secuenciación de genes (43) y la prueba de sonda o hibridación en fase sólida (*Line-Probe Assay*, LPA) (29).

La especificidad de la prueba osciló entre 91 y 100 %, y la sensibilidad, entre 33,3 y 100 %. La precisión diagnóstica de esta prueba se resume en el cuadro 2.

GenoType MTBDRplus[®] (GTPlus). Se detectaron 181 artículos (49 duplicados), y se escogieron finalmente los 97 que se ajustaban a los criterios de inclusión. De estos, 27 tenían el texto completo y 12 cumplían con los criterios de inclusión para la evaluación de la tuberculosis multirresistente y de la extremadamente resistente.

De los 12 estudios incluidos, la mitad se llevó a cabo en países de ingreso medio alto (17,50,60-63), tres, en países de ingreso alto (64-66), y los restantes, en países de ingreso medio bajo (67-69), según la clasificación de ingresos del Banco Mundial.

En cuanto al tamaño de la muestra, el estudio de Causee (64) tuvo el menor número de participantes y el de Dorman (62), el mayor (cuadro 3).

En más de la mitad de los estudios se utilizaron el MGIT960 (62,64-66) y el medio de Löwenstein-Jensen (60,63,67) como estándares de referencia. En el 50 % de los estudios se reclutó a los pacientes o se seleccionaron las muestras de forma aleatoria (17,50,64,67-69), en el 33 %, de forma consecutiva (60,62,63,66), y en el resto no se reportó esta información (cuadro 3).

Cuadro 1. Estudios que cumplieron con los criterios de inclusión en la revisión sistemática de las pruebas GX y GTSL

Autor principal, año y referencia	País de estudio	Recolección de datos	Selección de los participantes	Tamaño de la muestra
GX				
Boehme i (2010) (22)	Perú	Prospectivo	Consecutiva	310
Boehme j (2010) (22)	Azerbaián	Prospectivo	Consecutiva	216
Boehme k (2010) (22)	Sudáfrica (Ciudad del Cabo)	Prospectivo	Consecutiva	332
Boehme L (2010) (22)	Sudáfrica (Durban)	Prospectivo	Consecutiva	216
Boehme m (2010) (22)	India	Prospectivo	Consecutiva	222
Boehme a (2011) (29)	Perú	Prospectivo	Consecutiva	185
Boehme b (2011) (29)	Azerbaián	Prospectivo	Consecutiva	211
Boehme c (2011) (29)	Sudáfrica	Prospectivo	Consecutiva	188
Boehme d (2011) (29)	Uganda	Prospectivo	Consecutiva	116
Boehme f (2011) (29)	India	Prospectivo	Consecutiva	103
Boehme g (2011) (29)	Filipinas	Prospectivo	Consecutiva	275
Bowles (2011) (30)	Holanda	Mixto	No reporta	89
Hanif (2011) (36)	Kuwait	Prospectivo	Consecutiva	206
Ioannidis (2011) (37)	Grecia	Mixto	Conveniencia	66
Malbruny (2011) (39)	Francia	Mixto	Conveniencia	58
Marlowe (2011) (40)	Estados Unidos	Mixto	Conveniencia y consecutiva	216
Miller (2011) (41)	Estados Unidos	Retrospectivo	Conveniencia	89
Rachow (2011) (46)	Tanzania	Retrospectivo	Consecutiva	172
Teo (2011) (43)	Singapur	Prospectivo	Consecutiva	106
Zeka (2011) (45)	Turquía	Prospectivo	Consecutiva	103
Safianowska (2012)(42)	Polonia	Prospectivo	Consecutiva	145
Williamson (2012) (35)	Nueva Zelanda	Prospectivo	Consecutiva	89
Hanrahan (2013) (44)	Sudáfrica	Prospectivo	Consecutiva	551
Kurbatova (2013) (38)	Rusia	Prospectivo	Consecutiva	238
Ou (2015) (33)	China	Prospectivo	Consecutiva	298
JaeHuh (2014) (31)	Corea del Sur	Retrospectivo	Consecutiva	98
Bunsow (2014) (27)	España	Retrospectivo	No reporta	81
Myneedu (2014) (32)	India	Prospectivo	No reporta	134
GTSL				
Ajbani (2012) (47)	India	Prospectivo	Consecutiva	170
Barnard (2012) (48)	Sudáfrica	Prospectivo	Conveniencia	657
Brossier (2010) (49)	Francia	Prospectivo	No reporta	49
Ferro (2013) (50)	Colombia	Prospectivo	Aleatoria	228
Hillemann (2009)(51)	Alemania	Prospectivo	Aleatoria	63
Huang (2011) (52)	China	Prospectivo	Consecutiva	234
Ignatyeva (2012) (53)	Estonia	Prospectivo	Consecutiva	800
Jin (2013) (54)	China	Prospectivo	Consecutiva	262
Kontsevaya (2011) (55)	Rusia	Prospectivo	Consecutiva	51
Lacoma (2012) (56)	España	Retrospectivo	Conveniencia	54
López-Roa (2012) (57)	España	Prospectivo	Conveniencia	26
Said (2012) (58)	Sudáfrica	Prospectivo	Consecutiva	342
Tukvadze (2014) (59)	Georgia	Prospectivo	Consecutiva	159

En el cuadro 4 se presenta el resumen de los valores mínimos y máximos reportados en los 12 estudios incluidos. Estos valores correspondían a la especificidad y la sensibilidad de la prueba GTPlus para detectar la resistencia a isoniácida y rifampicina, así como la multirresistencia general, y se presentan según los diferentes estándares de comparación utilizados en los estudios.

La sensibilidad de la GTPlus para evaluar la resistencia a la rifampicina varió entre 92 y 100 %, y la especificidad frente a la isoniácida fue mayor (60

a 100 %), es decir, hubo estudios en los que la especificidad de la prueba fue de 60 %, como en el caso del estudio de Maschmann (61).

Los valores predictivos positivos y negativos de la GTPlus reportados en los estudios seleccionados se presentan de forma detallada y agrupada en valores máximos y mínimos en el cuadro 4.

GenoType MTBDRSL® (GTSL). Se encontraron 52 artículos después de la revisión por títulos y resúmenes. Se seleccionaron 25, de los cuales 21 estaban disponibles en texto completo. Se incluyeron

Cuadro 2. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos de la prueba GX en comparación con el estándar de referencia

Estándar de referencia	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
	Mínimo-máximo	Mínimo-máximo	Mínimo-máximo	Mínimo-máximo
Agar Middlebrook 7H10 BD	100-100	100-100	nd	nd
BACTEC 460TB	100-100	nd	nd	nd
Secuenciación de genes	100-100	100-100	nd	nd
LPA	98-98	90-90	77-77	99-99
Medio de Löwenstein-Jensen	91-100	33-100	52-96	94-98
Medio de Löwenstein-Jensen y MGIT 960	96-96	100-100	nd	nd
MGIT 960	95-100	50-100	86-98	98-99
Total para GX	91-100	33-100	54-98	94-99

nd: información no disponible; LPA: ensayo de sonda o hibridación en fase sólida (*Line-Probe Assay*)

Cuadro 3. Estudios incluidos para evaluar la prueba molecular GTPlus

Autor, año de publicación y referencia	País de estudio	Clasificación del ingreso según el Banco Mundial	Selección de participantes	Estándar de referencia	Tamaño de la muestra
Asencios (2012) (17)	Perú	Ingreso medio alto	Aleatoria	Método de las proporciones	195
Buyankhishig (2012) (67)	Mongolia	Ingreso medio bajo	Aleatoria	Medio de Lowenstein-Jensen	150
Causse (2008) (64)	España	Ingreso alto	Aleatoria	MGIT 960	59
Chen (2014) (60)	China	Ingreso medio alto	Consecutiva	Medio de Lowenstein-Jensen	427
Chryssanthou (2012) (65)	Suecia	Ingreso alto	No reporta	MGIT 960	604
Maschmann (2013) (61)	Brasil	Ingreso medio alto	No reporta	Método fenotípico para detección de sensibilidad a los medicamentos	112
Dorman (2012) (62)	Sudáfrica	Ingreso medio alto	Consecutiva	MGIT 960	529
Qais Farooqi (2012) (68)	Pakistán	Ingreso medio bajo	Aleatoria	Método de las proporciones	108
Ferro (2013) (50)	Colombia	Ingreso medio alto	Aleatoria	Método de las proporciones múltiples	228
Huyen (2010) (69)	Vietnam	Ingreso medio bajo	Aleatoria	Método fenotípico para detección de sensibilidad a los medicamentos	111
Jin (2012) (63)	China	Ingreso medio alto	Consecutiva	Medio de Lowenstein-Jensen y secuenciación de genes	237
J. Lyu (2013) (66)	Corea	Ingreso alto	Consecutiva	MGIT 960	428

13 estudios, seis (46,2 %) realizados en países de ingreso medio bajo (47,52–55,59), cuatro (30,8 %) en países de ingreso alto (49,51,56,57) y tres (23,1 %) en países de ingreso medio-alto (48,50,58). Se destacó el hecho de que no se encontraron estudios en países de ingreso bajo. Los países con más estudios de esta prueba fueron China, España y Sudáfrica, con dos estudios cada uno.

En un poco más de la mitad de los estudios (53,8 %) se utilizó el reclutamiento de pacientes o la selección de muestras de forma consecutiva (47,52–55,58,59), en tres (23,1 %), por conveniencia (48,56,57), en dos (15,4 %), de manera aleatoria, y en uno no se reportó esta información. Solo un estudio fue de tipo retrospectivo (56), en el resto se utilizó un diseño de recolección de datos prospectivo (cuadro 1). Según el número de participantes, en el

estudio de López-Roa (57) se reclutaron 26, y en el de Ignatyeva (53), en Estonia, la muestra fue de 800 (cuadro 1).

En los estudios incluidos para evaluar la precisión diagnóstica de la GTSL se estimaron la especificidad, la sensibilidad, y los valores predictivos positivos y negativos de diferentes tratamientos utilizados para combatir la tuberculosis extremadamente resistente. En ellos, el medicamento en el cual hubo menor precisión diagnóstica fue el etambutol, puesto que hubo estudios como el de Said (58) en los que la especificidad y la sensibilidad, así como los valores predictivos positivos, registraron valores bajos comparados con los de los demás medicamentos. De otra parte, en el estudio de Said (58), la prueba presentó una baja sensibilidad para la capreomicina, comparada con otros medicamentos. La sensibilidad

y los valores predictivos positivos presentaron un mayor rango entre los valores mínimos y máximos (cuadro 5).

Discusión

La implementación de una nueva tecnología diagnóstica debe garantizar, como mínimo, el aumento de la proporción de casos oportunamente diagnosticados, lo cual puede facilitar la reducción de la carga de la enfermedad y el aumento de los pacientes curados (70).

En la novena reunión del Comité Técnico Asesor para el Control de la Tuberculosis de la OMS, se recomendó que los países deberían fortalecer la capacidad instalada de sus laboratorios para hacer diagnósticos oportunos de la tuberculosis multirresistente. Se reconoció que las pruebas

moleculares presentan considerables ventajas para dicho diagnóstico debido a su gran sensibilidad y especificidad, su capacidad para entregar resultados rápidamente y su bioseguridad (71).

En el presente estudio se describió la precisión diagnóstica de las pruebas GX, GTSL y GTPlus, utilizadas en muchos países por su efectividad para detectar la tuberculosis multirresistente y la extremadamente resistente.

El uso de pruebas moleculares para confirmar la presencia de la tuberculosis multirresistente o la extremadamente resistente de forma rápida, es muy importante, especialmente en países con alta frecuencia de tuberculosis resistente a medicamentos. Aunque en Colombia la frecuencia de casos de tuberculosis multirresistente y extremadamente

Cuadro 4. Valores máximos y mínimos de sensibilidad y especificidad, y valores predictivos positivos y negativos de la prueba molecular GTPlus

Estándar de referencia	Sensibilidad			Especificidad			Valores predictivos positivos			Valores predictivos negativo		
	INH	MDR	RIF	INH	MDR	RIF	INH	MDR	RIF	INH	MDR	RIF
	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx	Min-máx
Método de las proporciones	96-100	97-98	97-99	97-98	95-97	96-100	-	-	-	-	-	-
Método de las proporciones múltiples	100-100	98-98	98-98	95-95	93-93	96-96	100-100	98-98	98-98	93-93	91-91	95-95
Medio de Löwenstein-Jensen	95-100	97-100	93-100	75-100	70-77	86-100	86-100	81-100	75-100	62-100	72-94	86-100
MGIT 960	87-98	95-99	97-100	62-100	91-100	86-100	93-93	94-94	93-93	99-99	99-99	100-100
Método fenotípico para detección de sensibilidad a medicamentos	100-100	100-100	94-100	60-93	59-89	82-93	100-100	100-100	96-100	42-93	76-90	86-93
Secuenciación de genes	100-100	100-100	92-100	91-100	89-91	92-99	100-100	100-100	96-100	89-100	91-96	95-99
Total	87-100	95-100	92-100	60-100	59-100	82-100	86-100	81-100	75-100	42-100	72-99	86-100

INH: isoniazida; MDR: tuberculosis multirresistente; RIF: rifampicina

Cuadro 5. Valores mínimos y máximos de sensibilidad y especificidad, y valores predictivos positivos y negativos reportados en los estudios incluidos para la prueba molecular GTSL

Medicamento	Sensibilidad	Especificidad	Valores predictivos positivos	Valores predictivos negativos
	Mínimo-máximo	Mínimo-máximo	Mínimo-máximo	Mínimo-máximo
Amikacina	96-100	75-100	94-100	94-100
Capreomicina	94-100	21-91	63-100	62-98
Ciprofloxacina	100-100	88-88	100-100	98-98
Etambutol	56-100	29-85	19-100	43-88
Kanamicina	58-100	25-100	64-100	60-100
Moxifloxacina	89-89	100-100	27-27	100-100
Ofloxacina	91-100	70-91	79-96	81-99
Fluoroquinolonas	85-100	33-92	93-100	83-94
Total	56-100	21-100	19-100	43-100

resistente no sea alta, se debe conocer la precisión diagnóstica de estos métodos para estimar su costo-efectividad e incorporar los en los correspondientes esquemas o guías de manejo.

En la presente revisión se constató que la aplicación de estas tres pruebas fue eficaz para el diagnóstico de la tuberculosis multirresistente y de la extremadamente resistente en la mayoría de los estudios evaluados. La sensibilidad de la prueba GX fluctuó entre 33 y 100 %, y la especificidad, entre 91 y 100 %; la sensibilidad de la GTPlus estuvo entre 59 y 100 %, y la especificidad, entre 87 y 100 % para la detección de resistencia a isoniacida y rifampicina, así como de multirresistencia, en tanto que en la GTLS fluctuaron entre 21 y 100 % y 56 y 100 %, respectivamente.

El objetivo de la presente revisión sistemática no se limitó a analizar la precisión diagnóstica de las pruebas moleculares, pues también se describieron las características de los estudios. La mayoría de ellos se hicieron en países de ingreso alto y medio alto, lo cual evidencia la falta de investigación en esta área en países pobres.

La selección de la mejor prueba diagnóstica de la tuberculosis en un país no puede depender únicamente de su efectividad y su costo. Se deben tener en cuenta, asimismo, los datos epidemiológicos existentes, el modelo de provisión de servicios de salud, el recurso humano disponible y la infraestructura de los servicios de atención (72). La existencia de estudios hechos en Colombia es un buen antecedente para precisar el alcance diagnóstico de estas pruebas y orientar su uso en nuestro medio (50).

Entre las fortalezas del presente estudio, se destaca la exhaustiva estrategia de búsqueda que permitió obtener resultados afinados. Otra fortaleza fue la participación de varios autores en las etapas de revisión y extracción de los datos de los estudios, pues ello permitió resolver por consenso las discrepancias. Además, la revisión sobre la precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares resulta un aporte importante al estudio de la resistencia a los fármacos para la tuberculosis, especialmente cuando la evaluación de las pruebas médicas está rezagada con respecto a la evaluación de los tratamientos (73).

En la presente revisión no se hizo el metaanálisis de los resultados de los estudios. Sin embargo, en las tres pruebas evaluadas, los valores mínimos de especificidad y sensibilidad eran valores extremos,

los cuales no reflejaban la distribución de las estimaciones en la mayoría de los casos. Ello pudo deberse a las características de la población con tuberculosis o tuberculosis multirresistente y a la complejidad de la casuística, o a aspectos metodológicos específicos de cada uno de los estudios, lo cual tiene un efecto más patente en la sensibilidad de los procedimientos diagnósticos. Por ejemplo, en las pruebas GX, la sensibilidad mínima encontrada fue de 33 %, pero en el estudio con la siguiente sensibilidad mínima, esta fue de 75 %, lo cual permitiría especular que este valor fue atípico, ya que los rangos de sensibilidad suelen oscilar entre 75 y 100 %.

Otra posible limitación de la revisión fue que no se hizo búsqueda de la literatura gris, ya que se consideró que, al no ser evaluada por pares, la mayoría de tales estudios no era adecuada para incluirlos en una revisión sistemática de calidad.

En conclusión, según los estudios revisados, los tres métodos de diagnóstico evaluados (GTPlus, GTSL y GX) presentaban un perfil diagnóstico adecuado para detectar la tuberculosis multirresistente y la extremadamente resistente, así como la resistencia a medicamentos de segunda línea en el caso de la GTSL. Sin embargo, es importante tener presente que la implementación de las pruebas GTPlus y GTSL requiere de un laboratorio con equipamiento especial y personal capacitado, y que su rendimiento está determinado, entre otros factores, por la incidencia de la enfermedad. En Colombia, los laboratorios de la red pública y de la privada ya procesan muestras utilizando estas tres pruebas, pero todavía no existen datos concluyentes sobre su desempeño.

Conflicto de intereses

No existen conflictos de intereses.

Financiación

Esta investigación es producto de un proyecto financiado por Colciencias (código 221356934391), por la Corporación para Investigaciones Biológicas y por la Universidad Pontificia Bolivariana de Medellín.

Referencias

1. **Organización Mundial de la Salud.** Tuberculosis. Nota descriptiva No. 104. 2016. Fecha de consulta: 1 de marzo de 2016. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/es/>
2. **Steingart KR, Sohn H, Schiller I, Kloda LA, Boehme CC, Pai M, et al.** Xpert® MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane database Syst Rev.* 2013;1:CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub2>

3. **Murray CJ, Ortblad KF, Guinovart C, Lim SS, Wolock TM, Roberts DA, et al.** Global, regional, and national incidence and mortality for HIV, tuberculosis, and malaria during 1990–2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384:1005-70. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60844-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60844-8)
4. **Organización Mundial de la Salud.** Temas de salud. Tuberculosis 2015. Fecha de consulta: 17 de febrero de 2015. Disponible en: <http://www.who.int/topics/tuberculosis/es/>
5. **Lynch JB.** Multidrug-resistant tuberculosis. *Med Clin North Am*. 2013;97:553-79. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2013.03.012>
6. **Moonan PK, Teeter LD, Salcedo K, Ghosh S, Ahuja SD, Flood J, et al.** Transmission of multidrug-resistant tuberculosis in the USA: A cross-sectional study. *Lancet Infect Dis*. 2013;13:777-84. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70128-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70128-2)
7. **Caminero JA.** Multidrug-resistant tuberculosis: Epidemiology, risk factors and case finding. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2010;14:382-90.
8. **Mishra R, Shukla P, Huang W, Hu N.** Gene mutations in *Mycobacterium tuberculosis*: Multidrug-resistant TB as an emerging global public health crisis. *Tuberculosis*. 2015;95:1-5. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2014.08.012>
9. **World Health Organization.** Global tuberculosis control 2008, surveillance, planning, financing. WHO/HTM/TB/2008.393. Geneva: WHO; 2008.
10. **Xu B, Hu Y, Zhao Q, Wang W, Jiang W, Zhao G.** Molecular epidemiology of TB –Its impact on multidrug-resistant tuberculosis control in China. *Int J Mycobacteriol*. 2015;4:134. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2014.09.003>
11. **Migliori GB, Richardson MD, Sotgiu G, Lange C.** Multidrug-resistant and extensively drug-resistant tuberculosis in the West Europe and United States: Epidemiology, surveillance, and control. *Clin Chest Med*. 2009;30:637-65. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2009.08.015>
12. **World Health Organization.** Global tuberculosis report 2015. WHO/HTM/TB/2015.22. Geneva: WHO; 2015.
13. **Organización Mundial de la Salud.** Estrategia “Alto a la tuberculosis”, 2015. Fecha de consulta: 19 de febrero de 2015. Disponible en: http://www.who.int/tb/strategy/stop_tb_strategy/es/
14. **Bwanga F, Hoffner S, Haile M, Joloba ML, Blumberg H, Burman W, et al.** Direct susceptibility testing for multi drug resistant tuberculosis: A meta-analysis. *BMC Infect Dis*. 2009;9:67. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-9-67>
15. **World Health Organization.** Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB). Geneva: WHO; 2008.
16. **Hain Lifescience.** GenoType MTBDRplus. Fecha de consulta: 8 de noviembre de 2016. Disponible en: <http://www.hain-lifescience.de/en/products/microbiology/mycobacteria/tuberculosis/genotype-mtbdplus.html>
17. **Asencios L, Galarza M, Quispe N, Vásquez L, Leo E, Valencia E, et al.** Molecular test Genotype® MTBDRplus, an alternative to rapid detection of multidrug resistance tuberculosis. *Rev Perú Med Exp Salud Pública*. 2012;29:92-8. <https://doi.org/10.1590/S1726-46342012000100014>
18. **Raizada N, Sachdeva KS, Chauhan DS, Malhotra B, Reddy K, Dave P V., et al.** A multi-site validation in India of the line probe assay for the rapid diagnosis of multi-drug resistant tuberculosis directly from sputum specimens. *PLoS One*. 2014;9:e88626. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088626>
19. **World Health Organization.** The use of molecular line probe assay for the detection of resistance to second-line anti-tuberculosis drugs. 2013. Fecha de consulta: 8 de noviembre de 2016. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78099/1/WHO_HTM_TB_2013.01.eng.pdf?ua=1
20. **Felkel M, Exner R, Schleucher R, Lay H, Autenrieth IB, Kempf VA, et al.** Evaluation of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility in clinical specimens from Nigeria using genotype MTBDRplus and MTBDRsl assays. *Eur J Microbiol Immunol*. 2013;3:252-7. <https://doi.org/10.1556/EuJMI.3.2013.4.3>
21. **World Health Organization.** WHO endorses new rapid tuberculosis test. Fecha de consulta: 8 de noviembre de 2016. Disponible en: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2010/tb_test_20101208/en/
22. **Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, Shenai S, Krapp F, et al.** Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med*. 2010;363:1005-15. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0907847>
23. **World Health Organization.** Implementing tuberculosis diagnostics: A policy framework. 2015. Fecha de consulta: 31 de octubre de 2016. Disponible en: http://www.who.int/tb/publications/implementing_TB_diagnostics/en/
24. **Ministerio de Salud y Protección Social.** ¿Qué es tuberculosis (TB)? Bogotá D.C. 2016. Fecha de consulta: 1 de enero de 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/publica/PET/Paginas/Tuberculosis.aspx>
25. **Garzón MC, Angée DY, Llerena C, Orjuela DL, Victoria JE.** Vigilancia de la resistencia del *Mycobacterium tuberculosis* a los fármacos antituberculosos, Colombia 2004-2005. *Biomédica*. 2008;28:319-26. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i3.71>
26. **Instituto Nacional de Salud.** Informe de actividades realizadas por la Red Nacional de Laboratorios para la vigilancia de la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a los fármacos antituberculosos, Colombia, 2013. Fecha de consulta: 1 de enero de 2016. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Red-Nacional-Laboratorios/Documentacin%20Micobacterias/INFORME%20DE%20LA%20VIGILANCIA%20DE%20LA%20RESISTENCIA%20DE%20MYCOBACTERIUM%20TUBERCULOSIS%20A%20LOS%20F%20C%203%201%20R%20M%20A%20C%20O%20S%20ANTITUBERCULOSOS%202013.pdf>
27. **Bunsow E, Ruiz-Serrano MJ, Roa PL, Kestler M, Viedma DG, Bouza E.** Evaluation of GeneXpert MTB/RIF for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in clinical specimens. *J Infect*. 2014;68:338-43. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2013.11.012>
28. **Banco Mundial.** Datos. Clasificación por países. Fecha de consulta: 22 de noviembre de 2015. Disponible en: <http://datos.bancomundial.org/pais>

29. **Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, Michael JS, Gotuzzo E, Tahirli R, *et al.*** Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: A multicentre implementation study. *Lancet*. 2011;377:1495-505. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60438-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60438-8)
30. **Bowles EC, Frey e B, Van Ingen J, Mulder B, Boeree MJ, Van Soolingen D.** Xpert MTB/RIF , a novel automated polymerase chain reaction-based tool for the diagnosis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15:988-9. <https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0574>
31. **Huh HJ, Jeong B-H, Jeon K, Koh W-J, Ki C-S, Lee NY.** Performance evaluation of the Xpert MTB/RIF assay according to its clinical application. *BMC Infect Dis*. 2014;14:589. <https://doi.org/10.1186/s12879-014-0589-x>
32. **Myneedu VP, Behera D, Verma AK, Bhalla M, Singh N, Arora J, *et al.*** Xpert  MTB/RIF assay for tuberculosis diagnosis: Evaluation in an Indian setting. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2014;18:958-60. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0328>
33. **Ou X, Xia H, Li Q, Pang Y, Wang S, Zhao B, *et al.*** A feasibility study of the Xpert MTB/RIF test at the peripheral level laboratory in China. *Int J Infect Dis*. 2015;31:41-6. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2014.09.011>
34. **Steingart KR, Schiller I, Horne DJ, Pai M, Boehme CC, Dendukuri N.** Xpert  MTB/RIF assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;1:CD009593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009593.pub3>
35. **Williamson DA, Basu I, Bower J, Freeman JT, Henderson G, Roberts SA.** An evaluation of the Xpert MTB/RIF assay and detection of false-positive rifampicin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2012;74:207-9. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.06.013>
36. **Hanif SN, Eldeen HS, Ahmad S, Mokaddas E.** GeneXpert  MTB/RIF for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary and extra-pulmonary samples. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15:1274-5. <https://doi.org/10.5588/ijtld.11.0394>
37. **Ioannidis P, Papaventsis D, Karabela S, Nikolaou S, Panagi M, Raftopoulou E, *et al.*** Cepheid GeneXpert MTB/RIF assay for *Mycobacterium tuberculosis* detection and rifampin resistance identification in patients with substantial clinical indications of tuberculosis and smear-negative microscopy results. *J Clin Microbiol*. 2011;49:3068-70. <https://doi.org/10.1128/JCM.00718-11>
38. **Kurbatova EV, Kaminski DA, Erokhin VV, Volchenkov GV, Andreevskaya SN, Chernousova LN, *et al.*** Performance of Cepheid  Xpert MTB/RIF  and TB-Biochip  MDR in two regions of Russia with a high prevalence of drug-resistant tuberculosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2013;32:735-43. <https://doi.org/10.1007/s10096-012-1798-0>
39. **Malbruny B, Le Marrec G, Courageux K, Leclercq R, Cattoir V.** Rapid and efficient detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and non-respiratory samples. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2011;15:553-5. <https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0497>
40. **Marlowe EM, Novak-Weekley SM, Cumpio J, Sharp SE, Momeny MA, Babst A, *et al.*** Evaluation of the Cepheid Xpert MTB/RIF assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1621-3. <https://doi.org/10.1128/JCM.02214-10>
41. **Miller MB, Popowitch EB, Backlund MG, Ager EP.** Performance of Xpert MTB/RIF RUO assay and IS6110 real-time PCR for *Mycobacterium tuberculosis* detection in clinical samples. *J Clin Microbiol*. 2011;49:3458-62. <https://doi.org/10.1128/JCM.05212-11>
42. **Safianowska A, Walkiewicz R, Nejman-Gryz P, Grubek-Jaworska H.** Two selected commercially based nucleic acid amplification tests for the diagnosis of tuberculosis. *Pneumonol Alergol Pol*. 2011;80:6-12.
43. **Teo J, Jureen R, Chiang D, Chan D, Lin R.** Comparison of two nucleic acid amplification assays, the Xpert MTB/RIF assay and the amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct assay, for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory and nonrespiratory specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49:3659-62. <https://doi.org/10.1128/JCM.00211-11>
44. **Hanrahan CF, Selibas K, Deery CB, Dansey H, Clouse K, Bassett J, *et al.*** Time to treatment and patient outcomes among TB suspects screened by a single point-of-care Xpert MTB/RIF at a primary care clinic in Johannesburg, South Africa. *PLoS One*. 2013;8:e65421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065421>
45. **Zeka AN, Tasbakan S, Cavusoglu C.** Evaluation of the GeneXpert MTB/RIF assay for rapid diagnosis of tuberculosis and detection of rifampin resistance in pulmonary and extra-pulmonary specimens. *J Clin Microbiol*. 2011;49:4138-41. <https://doi.org/10.1128/JCM.05434-11>
46. **Rachow A, Zumla A, Heinrich N, Rojas-Ponce G, Mtafya B, Reither K, *et al.*** Rapid and accurate detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples by Cepheid Xpert MTB/RIF assay—a clinical validation study. *PLoS One*. 2011;6:e20458. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020458>
47. **Ajbani K, Nikam C, Kazi M, Gray C, Boehme C, Balan K, *et al.*** Evaluation of genotype MTBDRsl assay to detect drug resistance associated with fluoroquinolones, aminoglycosides and ethambutol on clinical sediments. *PLoS One*. 2012;7:e49433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049433>
48. **Barnard M, Warren R, Van Pittius NG, van Helden P, Bosman M, Streicher E, *et al.*** Genotype MTBDRsl line probe assay shortens time to diagnosis of extensively drug-resistant tuberculosis in a high-throughput diagnostic laboratory. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186:1298-305. <https://doi.org/10.1164/rccm.201205-0960OC>
49. **Brossier F, Veziris N, Aubry A, Jarlier V, Sougakoff W.** Detection by GenoType MTBDRsl test of complex mechanisms of resistance to second-line drugs and ethambutol in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *J Clin Microbiol*. 2010;48:1683-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.01947-09>
50. **Ferro BE, Garc a PK, Nieto LM, van Soolingen D.** Predictive value of molecular drug resistance testing of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in Valle del Cauca, Colombia. *J Clin Microbiol*. 2013;51:2220-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.00429-13>
51. **Hillemann D, R sch-Gerdes S, Richter E.** Feasibility of the GenoType MTBDRsl assay for fluoroquinolone, amikacin-capreomycin, and ethambutol resistance testing of

- Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. J Clin Microbiol. 2009;47:1767-72. <https://doi.org/10.1128/JCM.00081-09>
52. Huang W-L, Chi T-L, Wu M-H, Jou R. Performance assessment of the GenoType MTBDRsl test and DNA sequencing for detection of second-line and ethambutol drug resistance among patients infected with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol. 2011;49:2502-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.00197-11>
 53. Ignatyeva O, Kontsevaya I, Kovalyov A, Balabanova Y, Nikolayevskyy V, Toit K, et al. Detection of resistance to second-line antituberculosis drugs by use of the genotype MTBDRsl assay: A multicenter evaluation and feasibility study. J Clin Microbiol. 2012;50:1593-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.00039-12>
 54. Jin J, Shen Y, Fan X, Diao N, Wang F, Wang S, et al. Underestimation of the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to second-line drugs by the new GenoType MTBDRsl test. J Mol Diagnostics. 2013;15:44-50. <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2012.08.004>
 55. Kontsevaya I, Mironova S, Nikolayevskyy V, Balabanova Y, Mitchell S, Drobniewski F. Evaluation of two molecular assays for rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* resistance to fluoroquinolones in high-tuberculosis and multidrug-resistance settings. J Clin Microbiol. 2011;49:2832-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.01889-10>
 56. Lacoma A, García-Sierra N, Prat C, Maldonado J, Ruiz-Manzano J, Haba L, et al. GenoType MTBDRsl for molecular detection of second-line-drug and ethambutol resistance in *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical samples. J Clin Microbiol. 2012;50:30-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.05274-11>
 57. López-Roa P, Ruiz-Serrano MJ, Alcalá L, Ráez NG-E, de Viedma DG, Bouza E. Susceptibility testing to second-line drugs and ethambutol by GenoType MTBDRsl and Bactec MGIT 960 comparing with agar proportion method. Tuberculosis. 2012;92:417-21. <https://doi.org/10.1016/j.tube.2012.05.005>
 58. Said HM, Kock MM, Ismail NA, Baba K, Omar SV, Osman AG, et al. Evaluation of the GenoType® MTBDRsl assay for susceptibility testing of second-line anti-tuberculosis drugs. Int J Tuberc Lung Dis. 2012;16:104-9. <https://doi.org/10.5588/ijtld.10.0600>
 59. Tukvadze N, Bablishvili N, Apsindzelashvili R, Blumberg HM, Kempker RR. Performance of the MTBDRsl assay in Georgia. Int J Tuberc Lung Dis. 2014;18:233-9. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0468>
 60. Chen C, Kong W, Zhu L, Zhou Y, Peng H, Shao Y, et al. Evaluation of the GenoType® MTBDRplus line probe assay on sputum-positive samples in routine settings in China. Int J Tuberc Lung Dis. 2014;18:1034-9. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0857>
 61. de Abreu Maschmann R, Spies FS, de Souza Nunes L, Ribeiro AW, Machado TRM, Zaha A, et al. Performance of the GenoType MTBDRplus assay directly on sputum specimens from Brazilian patients with tuberculosis treatment failure or relapse. J Clin Microbiol. 2013;51:1606-8. <https://doi.org/10.1128/JCM.00364-13>
 62. Dorman SE, Chihota VN, Lewis JJ, van der Meulen M, Mathema B, Beylis N, et al. Genotype MTBDRplus for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* and drug resistance in strains from gold miners in South Africa. J Clin Microbiol. 2012;50:1189-94. <https://doi.org/10.1128/JCM.05723-11>
 63. Jin J, Zhang Y, Fan X, Diao N, Shao L, Wang F, et al. Evaluation of the GenoType® MTBDRplus assay and identification of a rare mutation for improving MDR-TB detection. Int J Tuberc Lung Dis. 2012;16:521-6. <https://doi.org/10.5588/ijtld.11.0269>
 64. Causse M, Ruiz P, Gutiérrez JB, Zerolo J, Casal M. Evaluation of new GenoType® MTBDRplus for detection of resistance in cultures and direct specimens of *Mycobacterium tuberculosis*. Int J Tuberc Lung Dis. 2008;12:1456-60.
 65. Chryssanthou E, Ångeby K. The GenoType® MTBDRplus assay for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* in Sweden. APMIS. 2012;120:405-9. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2011.02845.x>
 66. Lyu J, Kim MN, Song JW, Choi CM, Oh YM, Lee SD, et al. GenoType® MTBDRplus assay detection of drug-resistant tuberculosis in routine practice in Korea. Int J Tuberc Lung Dis. 2013;17:120-4. <https://doi.org/10.5588/ijtld.12.0197>
 67. Buyankhishig B, Oyuntuya T, Tserelmaa B, Sarantuya J, Lucero MG, Mitarai S. Rapid molecular testing for multi-resistant tuberculosis in Mongolia: A diagnostic accuracy study. Int J Mycobacteriol. 2012;1:40-4. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2012.01.007>
 68. Farooqi JQ, Khan E, Alam SMZ, Ali A, Hasan Z, Hasan R. Line probe assay for detection of rifampicin and isoniazid resistant tuberculosis in Pakistan. J Pak Med Assoc. 2012;62:767-72.
 69. Huyen MN, Tiemersma EW, Lan NT, Cobelens FG, Dung NH, Sy DN, et al. Validation of the GenoType® MTBDRplus assay for diagnosis of multidrug resistant tuberculosis in South Vietnam. BMC Infect Dis. 2010;10:149. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-149>
 70. Keeler E, Perkins MD, Small P, Hanson C, Reed S, Cunningham J, et al. Reducing the global burden of tuberculosis: The contribution of improved diagnostics. Nature. 2006;444:49-57. <https://doi.org/10.1038/nature05446>
 71. World Health Organization. Strategic and Technical Advisory Group for Tuberculosis: Report of 10th meeting. Geneva: WHO; 2010.
 72. Lin H-H, Langley I, Mwenda R, Doulla B, Egwaga S, Millington KA, et al. A modelling framework to support the selection and implementation of new tuberculosis diagnostic tools [State of the art series. Operational research. Number 8 in the series]. Int J Tuberc Lung Dis. 2011;15:996-1004. <https://doi.org/10.5588/ijtld.11.0062>
 73. Altman DG, Bossuyt PM. Estudios de precisión diagnóstica (STARD) y pronóstica (REMARK). Med Clin (Barc). 2005;125:49-55. [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(05\)72210-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(05)72210-7)

Anexo 1. Algoritmos de búsqueda de las pruebas GTPlus, GTSL y GX

Buscador	Fecha	Algoritmos de búsqueda		
		GenoType MTBDRplus®	GenoType MTBDRsl®	GeneXpert MTB/RIF®
PubMed	10/12/2014	Search ((((((tuberculosis) OR TB)) OR Mycobacterium tuberculosis/) OR (((Tuberculosis, Multidrug-Resistant/) OR Tuberculosis/) OR Tuberculosis, Pulmonary/) AND ("2007/01/01"[PDat] : "3000/12/31"[PDat])))) AND GenoTypeMTBDRplus Filters: Publication date from 2007/01/01	Search ((((((tuberculosis) OR TB)) OR Mycobacterium tuberculosis/) OR (((Tuberculosis, Multidrug-Resistant/) OR Tuberculosis/) OR Tuberculosis, Pulmonary/) AND ("2007/01/01"[PDat] : "3000/12/31"[PDat])))) AND GenoTypeMTBDRsl	Search (((((((Tuberculosis, Multidrug-Resistant/) OR Tuberculosis/) OR Tuberculosis, Pulmonary/) AND "2007/01/01"[PDat] : "3000/12/31"[PDat]))) OR (Mycobacterium tuberculosis AND ("2007/01/01"[PDat] : "3000/12/31"[PDat]))) OR (((tuberculosis) OR TB) AND ("2007/01/01"[PDat] : "3000/12/31"[PDat]))) AND ("2007/01/01"[PDat] : "3000/12/31"[PDat]))) AND (((Xpert) OR GeneXpert) OR cepheid) Filters: Publication date from 2007/01/01
Embase	15/12/2014	('tuberculosis'/exp OR tuberculosis OR 'tb'/exp OR tb AND [2007-2015]/py) OR ('mycobacterium'/exp OR mycobacterium AND ('tuberculosis'/exp OR tuberculosis) AND [2007-2015]/py) OR (tuberculosis, AND 'multidrug resistant' OR 'tuberculosis'/exp R tuberculosis OR tuberculosis, AND pulmonary AND [2007-2015]/py) AND (genotype AND mtbdrplus AND [2007-2015]/py)	('tuberculosis'/exp OR tuberculosis OR 'tb'/exp OR tb AND [2007-2015]/py) OR ('mycobacterium'/exp OR mycobacterium AND ('tuberculosis'/exp OR tuberculosis) AND [2007-2015]/py) OR (tuberculosis, AND 'multidrug resistant' OR 'tuberculosis'/exp OR tuberculosis OR tuberculosis, AND pulmonary AND [2007-2015]/py) AND (genotype AND mtbdrsl AND [2007-2015]/py)	('tuberculosis'/exp OR tuberculosis OR 'tb'/exp OR tb AND [2007-2015]/py) OR ('mycobacterium'/exp OR mycobacterium AND ('tuberculosis'/exp OR tuberculosis) AND [2007-2015]/py) OR (tuberculosis, AND 'multidrug resistant' OR 'tuberculosis'/exp OR tuberculosis, AND pulmonary AND [2007-2015]/py) AND (xpert OR genexpert OR cepheid AND [2007-2015]/py)

ARTÍCULO ORIGINAL

Composición corporal y condición física de escolares colombianos de educación secundaria y media de Ibagué

Constanza Palomino-Devia¹, José Antonio González-Jurado², Carlos Alberto Ramos-Parraci¹

¹ Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

² Facultad de Ciencias del Deporte, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

Introducción. La composición corporal y otros componentes de la condición física han demostrado ser importantes indicadores de la condición de salud.

Objetivo. Analizar la composición corporal y la condición física de escolares colombianos de educación secundaria y media de las instituciones oficiales de Ibagué, estudiar las diferencias por sexo y edad, y establecer la correlación entre algunas variables.

Materiales y métodos. Participaron 1.253 estudiantes (601 hombres y 652 mujeres), con un rango de edad entre los 10 y los 20 años. Se aplicaron las pruebas físicas de la batería *ALPHA-Fitness* en su versión extendida. Se evaluó el índice de masa corporal (IMC), el perímetro de la cintura y el porcentaje de grasa.

Resultados. Se encontraron diferencias por sexo en las variables estudiadas, con mayor IMC y porcentaje de grasa en las mujeres que en los hombres (20,6 Vs. 19,4 kg/m² y 26,1 Vs. 16,8 %, respectivamente); sin embargo, el perímetro de cintura fue mayor en los hombres (69,6 cm Vs. 67,9 cm), aunque ellos registraron mejor rendimiento en el resto de pruebas físicas ($p < 0,05$). En ambos sexos la edad se asoció con aumentos del IMC ($p < 0,05$) y, en las mujeres, con el porcentaje de grasa ($p < 0,05$), lo que no ocurrió en los hombres, en quienes la edad se asoció inversamente con la grasa corporal ($p < 0,05$). En el resto de las pruebas físicas, la edad se asoció positivamente con el rendimiento en ambos sexos, excepto en el consumo máximo de oxígeno (VO₂ máx). Se hallaron correlaciones entre algunas de las variables estudiadas.

Conclusiones. La adiposidad fue significativamente mayor en las mujeres que en los hombres ($p < 0,05$). Los hombres tuvieron mejores niveles de capacidad aeróbica, musculoesquelética y motora.

Palabras clave: índice de masa corporal; adiposidad; distribución por edad y sexo; prueba de esfuerzo; aptitud física; composición corporal.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3455>

Body composition and physical fitness in Colombian high school students from Ibagué

Introduction: Body composition and other components of physical fitness have proved to be important markers of health condition.

Objective: To analyze body composition and physical fitness in Colombian students from public high schools of Ibagué, as well as to study differences between sexes and age groups, and establish correlations between some of the variables.

Materials and methods: The sample consisted of 1,253 students (601 males; 652 females), with an age range of 10-20 years. The *ALPHA-Fitness* test (extended version) was applied. Body Mass Index (BMI), waist circumference and fat percentage were assessed.

Results: Differences between sexes were found in the variables studied, with greater BMI and fat percentage among females (20.6 kg/m² vs. 19.4 kg/m² and 26.1% vs. 16.8%, respectively); however, waist circumference was greater in males (69.6 cm vs. 67.9 cm), who also showed better fitness in the rest of the physical tests ($p < 0.05$). In both sexes, age was associated to increases in BMI ($p < 0.05$), and among females to fat percentage as well ($p < 0.05$); among males it was the opposite, as in them, age was inversely associated to fat percentage ($p < 0.05$). For the rest of the physical tests, age was positively associated to fitness both in men and women, except for maximal oxygen uptake (VO₂ max). Correlations were found between some of the variables studied.

Conclusions: Adiposity was significantly greater in females than in males ($p < 0.05$). Males showed better levels of aerobic, musculoskeletal and motor capacities.

Key words: Body mass index; adiposity; age and sex distribution; exercise test; physical fitness; body composition.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3455>

Contribución de los autores:

Constanza Palomino-Devia: trabajo de campo

Todos los autores participaron en todas las fases del desarrollo de este trabajo: concepción y diseño; revisión y búsqueda bibliográfica; tabulación; análisis e interpretación de los datos; redacción y revisión crítica del manuscrito, y aprobación de su versión final.

La búsqueda, difusión y desarrollo de alternativas para disminuir la obesidad en los niños representa un gran desafío. La práctica de ejercicio una vez por semana y un programa nutricional de calidad rigurosamente observado garantizan la eficacia de las intervenciones para el mejoramiento de la composición corporal (1).

La fase final de la infancia es un período crítico en los niños para la aparición y detección de la obesidad, en tanto que, en las niñas, esa fase final es crítica para detectar la obesidad y determinar su incidencia. En este sentido, es necesario considerar las diferencias entre sexos y su importancia en el diseño de programas para el mejoramiento de la composición corporal de los niños (2).

Por otro lado, las autoridades de salud pública y educación han expresado su preocupación con respecto a la obesidad como problema de salud pública, por lo cual un diagnóstico adecuado del sobrepeso y la obesidad es indispensable para obtener los indicadores antropométricos relacionados con la obesidad (3).

En este orden de ideas, el sector educativo y el de salud deberían convertirse en garantes de la promoción, la divulgación y el fomento de programas que incentiven el ejercicio físico como máximo agente promotor de la condición física y el mejoramiento de la salud y la composición corporal, así como de prevención de posibles trastornos (4).

En el contexto educativo, se ha comprobado que el sedentarismo aumenta con la edad, especialmente entre las mujeres, en quienes se observa el abandono de la práctica del ejercicio físico y la renuencia a participar en la clase de educación física (4).

En las Islas Canarias, por ejemplo, los adolescentes han expresado poco interés por la práctica de ejercicio físico matutino, frente a lo cual se decidió aumentar el tiempo efectivo de la clase de educación física en el horario escolar, así como promover actividades físicas y deportivas extracurriculares, y poner en práctica programas permanentes para modificar la disposición juvenil frente al efecto del ejercicio físico (5).

Correspondencia:

Constanza Palomino, Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad del Tolima, Barrio Santa Helena, parte alta, Ibagué, Colombia

Teléfono: (578) 277 1212, extensiones 9738 y 9744
cpalominod@ut.edu.co

Recibido: 25/07/16; aceptado: 24/11/16

La escuela, entonces, se convierte en un espacio alternativo para divulgar entre los estudiantes la importancia del deporte y el ejercicio físico, como medios efectivos de prevención de la enfermedad y de promoción de un estilo de vida saludable (6).

En este contexto, mediante el conjunto de pruebas de la batería *ALPHA-Fitness* es posible determinar el índice general de salud cardiovascular en niños entre los 10 y los 12 años de edad, lo cual es un punto de partida veraz y efectivo para establecer marcadores y determinar patrones de condición física (7).

En este sentido, se viene adelantando un trabajo para establecer factores de comparación, registro y evaluación de la práctica de ejercicio físico y la condición física en jóvenes, y para establecer asociaciones (8). Es obvio que los jóvenes con poca inclinación a la práctica de ejercicio físico presentan un peor estado físico, y que ello se relaciona, a su vez, con cambios hormonales, emocionales y de comportamiento (4).

En consecuencia, el objetivo de este estudio fue analizar la composición corporal y la condición física en escolares colombianos de educación secundaria y media de las instituciones oficiales de Ibagué, departamento del Tolima, determinar las diferencias por sexo y edad, y establecer correlaciones entre algunas variables.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo transversal de 1.253 estudiantes sanos (48 % hombres, 52 % mujeres) entre los 10 y los 20 años de edad ($14,62 \pm 2,01$) matriculados en los grados sexto a once en las instituciones educativas oficiales de Ibagué. Los grupos en cada centro se seleccionaron mediante un muestreo aleatorio estratificado con un error muestral de 0,03 % y un intervalo de confianza de 95 %. La condición física se evaluó mediante las pruebas incluidas en la batería *ALPHA-Fitness*.

Consideraciones éticas

Se solicitó el consentimiento informado a los tutores legales de los participantes y se observaron escrupulosamente los principios de la declaración de Helsinki vigente (9). El estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

Prueba de Course-Navette

La prueba de Course-Navette, o test de Léger, se utiliza para estimar de forma indirecta el consumo máximo de oxígeno (VO_2 máx) para valorar

la aptitud cardiorrespiratoria. La prueba ha sido descrita y validada en varias publicaciones (10-14). El consumo máximo de oxígeno fue estimado mediante la siguiente ecuación:

$$VO_2 \text{ máx (ml/kg/minuto)} = 31,025 + (3,238 \times V) - (3,248 \times E) + (0,1536 \times V \times E),$$

donde V corresponde a la velocidad máxima alcanzada y, E, a la edad del sujeto.

Prueba de salto horizontal

Esta prueba, con la cual se evalúa la fuerza explosiva de los miembros inferiores, se utilizó para medir la longitud del salto con una cinta métrica en mm.

Prueba de velocidad y agilidad 4 x 10 m

Con esta prueba se evaluaron la velocidad de movimiento, la agilidad y la coordinación. Los tiempos se registraron mediante dos células fotoeléctricas (Microgate®, Italia) (15).

Prueba de fuerza de presión manual

Esta sirve para medir la fuerza isométrica del tren superior; se utilizó el dinamómetro de mano Jamar Digital® (0-90KG), cuya asa se ajustó según el tamaño de la mano.

Las medidas antropométricas fueron tomadas por el autor principal y un ayudante, ambos con acreditación de nivel 1, siguiendo las indicaciones de la *International Society for the Advancement of Kinanthropometric* (ISAK). Se tomaron las siguientes medidas: masa corporal (kg), estatura (m), perímetro de la cintura (cm) y dos pliegues cutáneos (subescapular y tríceps). El porcentaje de grasa se estimó con las siguientes ecuaciones (16).

Para la estimación de la masa grasa (%) en niñas:

$$\text{masa grasa (\%)} = 1,33 (\text{tríceps} + \text{subescapular}) - 0,013 (\text{tríceps} + \text{subescapular})^2 - 2,5.$$

En niñas, cuando los pliegues del tríceps más el subescapular eran de más de 35 mm: masa grasa (%) = 0,546 (tríceps + subescapular) + 9,7.

En niños en edad prepuberal (estadio 1 en la escala de Tanner): masa grasa (%) = 1,21 (tríceps + subescapular) - 0,008 (tríceps + subescapular)² - 1,7.

En niños en edad puberal (estadios 2, 3 y 4 en la escala de Tanner): masa grasa (%) = 1,21 (tríceps + subescapular) - 0,008 (tríceps + subescapular) - 3,4.

En niños en edad postpuberal (estadio 5 en la escala de Tanner): masa grasa (%) = 1,21 (tríceps + subescapular) - 0,008 (tríceps + subescapular)² - 5,5.

En niños, cuando el tríceps más el subescapular eran de más de 35 mm: masa grasa (%) = 0,783 (tríceps + subescapular) + 1,7.

El índice de masa corporal se obtuvo mediante la ecuación masa (kg)/talla (m²). Para la masa corporal, se utilizó la báscula FitScan Body Monitor® (BF-679F); la estatura se tomó con un tallímetro en mm. La medición del perímetro y los pliegues se hizo con un pliómetro (*Slim Guide*) y una cinta métrica (cinta BMI Vv4).

Se hizo el análisis descriptivo de los datos con el paquete estadístico IBM SPSS®, versión 23, y se obtuvo la media o la desviación o error estándar, según el caso, diferenciado por grupo de edad y sexo. Los intervalos de confianza de las medias fueron de 95 % como indicadores de la fiabilidad de las mediciones. Para las comparaciones entre grupos, se usó un modelo lineal general multivariante. La significación estadística se estableció con un valor de $p < 0,05$. Para la comparación de medias del IMC, el porcentaje de grasa, el perímetro de cintura, la dinamometría derecha, la dinamometría izquierda, la velocidad, el salto horizontal y el VO_2 máx (variables dependientes) por grupos de edad (variable independiente) diferenciados por sexo, se efectuó el análisis de varianza (ANOVA) de un factor.

En cuanto a las comparaciones *a posteriori*, se emplearon la prueba de Tukey (asumiendo varianzas iguales) y la prueba de Games-Howell (sin asumirlas), seleccionadas con base en el valor del nivel crítico obtenido en la prueba de Levene sobre homogeneidad de varianzas. Los grupos se designaron de la "a" a la "f".

Para comprobar la existencia de diferencias entre las medias de las variables analizadas, se utilizó la prueba t de Student para dos muestras independientes. Por último, para determinar la relación entre las variables de condición física y adiposidad, se empleó el coeficiente de correlación de Pearson (r).

Resultados

En el cuadro 1 se presentan los valores promedios y las diferencias por sexo para las medidas estudiadas de la condición física. Las mujeres presentaron valores significativamente más elevados que los hombres en el índice de masa corporal (20,6 kg/m² frente a 19,4 kg/m²) y el porcentaje de grasa (26,1 frente a 16,8 %). En cuanto al perímetro de cintura, los hombres obtuvieron valores más altos (69,7 cm frente 67,9 cm) ($p < 0,05$) y, además,

alcanzaron mejores niveles de capacidad aeróbica, musculoesquelética y motora, con diferencias estadísticamente significativas (p<0,05).

En el cuadro 2 se comparan los resultados de los grupos de edad por sexo. El grupo de hombres de mayor edad (17 a 20 años) obtuvo mejores resultados en el porcentaje de grasa y en todas las variables de condición física, excepto en la capacidad motora y aeróbica, variable en la que se registraron los peores resultados de los cuatro grupos de edad. En todos los grupos de edad de hombres y mujeres, se registraron diferencias en la mayoría de las variables al comparar por pares. En cuanto a la capacidad motora, no se observaron

diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) en ninguno de los grupos de hombres, pero sí en el grupo de mujeres de 13 a 14 años (cuadro 2).

Por otro lado, entre los grupos de edad de las mujeres hubo diferencias significativas en las variables indicadoras de la condición física (p<0,05). En términos relativos, la capacidad aeróbica del grupo de menor edad (10 a 12 años) fue significativamente mayor que la del resto de grupos (41,6 ml/kg/minuto) (p<0,05). En las mujeres se observó que, a mayor edad, menor era el consumo máximo de oxígeno (de 13 a 14 años: 37,8 ml/kg/minuto; de 15 a 16 años: 33,9 ml/kg/minuto, y de 17 a 20 años: 31,0 ml/kg/minuto).

Cuadro 1. Niveles de adiposidad y condición física, comparación por sexo

	Todos (n=1253)		Mujeres (n=652)		Hombres (n=601)		p*	Eta ² parcial
	$\bar{X} \pm DE$	IC _{95%} [‡]	$\bar{X} \pm DE$	IC _{95%} [‡]	$\bar{X} \pm DE$	IC _{95%} [‡]		
IMC §	20,0 ± 3,3	19,8- 20,2	20,6 ± 3,4	20,3- 20,8	19,4 ± 3,0	19,2- 19,7	0,000	0,030
% de grasa	21,6 ± 9,0	21,1- 22,1	26,1 ± 7,8	25,5- 26,7	16,8 ± 7,6	16,2- 17,4	0,000	0,266
Cintura (cm)	68,8 ± 7,9	68,3- 69,2	67,9 ± 7,7	67,3- 68,5	69,7 ± 8,0	69,0- 70,3	0,000	0,013
Din der (kg) ^ω	26,0 ± 10,0	25,4- 26,5	21,8 ± 6,7	21,2- 22,3	30,5 ± 10,9	29,7- 31,4	0,000	0,193
Din izq (kg) ^ω	23,7 ± 9,4	23,1- 24,2	19,7 ± 6,3	19,2- 20,2	28,0 ± 10,3	27,1- 28,8	0,000	0,192
Velocidad (s)	12,7 ± 1,9	12,6- 12,8	12,9 ± 1,9	12,8- 13,1	12,5 ± 2,0	12,4- 12,7	0,000	0,010
Salto (cm)	153,6 ± 36,6	151,5-155,6	133,1 ± 25,5	131,2-135,1	175,8 ± 33,9	173,1-178,5	0,000	0,339
VO ₂ máx [¶]	38,2 ± 7,7	37,8- 38,6	36,0 ± 6,5	35,5- 36,5	40,6 ± 8,2	40,0- 41,3	0,000	0,090

*: nivel de significación entre promedios por sexo en el análisis multivariante

‡: media ± desviación estándar e intervalo de confianza de 95 %; §: índice de masa corporal; ^ω: dinamometría derecha o dinamometría izquierda;

¶: consumo máximo de oxígeno estimado (ml/kg/minuto); Eta²: tamaño del efecto

Cuadro 2. Comparación entre grupos de edad (años)* diferenciados por sexo

Hombres	10-12 (n=96)		13-14 (n=167)		15-16 (n=222)		17-20 (n=116)		p
	$\bar{X} \pm DE$	IC _{95%} [‡]							
IMC §	17,9 ± 2,8 ^{a,b,c}	17,4- 18,5	19,0 ± 2,9 ^{a,d,e}	18,6-19,5	19,8 ± 3,1 ^{b,d}	19,4- 20,2	20,4 ± 2,4 ^{c,e}	20,0- 20,9	0,001
% de grasa	19,6 ± 8,7 ^{a,b}	17,8- 21,4	17,7 ± 7,7 ^c	16,5-18,9	15,8 ± 7,1 ^a	14,9- 16,8	14,9 ± 6,2 ^{b,c}	13,8- 16,1	0,001
Cintura (cm)	66,5 ± 10,4 ^{a,b}	64,4- 68,6	68,2 ± 7,4 ^{c,d}	67,1-69,3	71,0 ± 7,6 ^{a,c}	70,0- 72,0	72,0 ± 5,7 ^{b,d}	70,9- 73,0	0,001
Din der (kg) ^ω	18,9 ± 5,4 ^{a,b,c}	17,8- 20,0	27,6 ± 8,7 ^{a,d,e}	26,2-28,9	34,3 ± 9,3 ^{b,d}	33,0- 35,5	37,3 ± 10,8 ^{a,e}	35,3- 39,3	0,001
Din izq (kg) ^ω	17,7 ± 5,5 ^{a,b,c}	16,6- 18,8	25,8 ± 8,9 ^{a,d,e}	24,4-27,1	30,6 ± 9,0 ^{b,d,f}	29,4- 31,8	34,5 ± 10,5 ^{c,e,f}	32,6- 36,5	0,001
Velocidad (s)	12,9 ± 2,1	12,5- 13,3	12,5 ± 1,8	12,3-12,8	12,3 ± 1,9	12,0- 12,5	12,7 ± 2,3	12,3- 13,1	0,001
Salto (cm)	150,1 ± 22,6 ^{a,b,c}	145,5-154,7	164,2 ± 31,5 ^{a,d,e}	159,3-169,0	181,8 ± 29,3 ^{b,d,f}	177,9-185,7	202,2 ± 30,9 ^{c,e,f}	196,5-207,9	0,001
VO ₂ máx [¶]	41,6 ± 4,9	40,6- 42,6	41,5 ± 8,9	40,2-42,9	39,9 ± 8,1	38,9- 41,0	39,7 ± 9,4	38,0- 41,5	0,001

Mujeres	10-12 (n=125)		13-14 (n=168)		15-16 (n=266)		17-20 (n=93)		p
	$\bar{X} \pm ES$	IC _{95%} [‡]							
IMC §	18,8 ± 3,1 ^{a,b,c}	18,2- 19,7	20,5 ± 3,3 ^a	20,0- 21,0	21,1 ± 3,3 ^b	20,7- 21,5	21,5 ± 3,5 ^c	20,7- 22,2	0,001
% de grasa	22,6 ± 6,3 ^{a,b,c}	21,5- 23,7	26,2 ± 7,9 ^a	25,0- 27,4	26,7 ± 7,7 ^b	25,8- 27,7	28,4 ± 8,4 ^c	26,7- 30,2	0,001
Cintura (cm)	63,9 ± 7,4 ^{a,b,c}	62,6- 65,3	68,3 ± 7,5 ^a	67,1- 69,4	68,7 ± 7,1 ^b	67,9- 69,6	70,4 ± 8,4 ^c	68,6- 72,1	0,001
Din der (kg) ^ω	16,8 ± 4,2 ^{a,b,c}	16,1- 17,6	22,3 ± 5,7 ^a	21,4- 23,2	23,1 ± 6,3 ^b	23,3- 23,8	23,8 ± 9,2 ^c	21,9- 25,7	0,001
Din izq (kg) ^ω	15,3 ± 4,6 ^{a,b,c}	14,7- 16,3	20,5 ± 5,4 ^a	19,7- 21,4	20,3 ± 5,6 ^b	19,6- 21,0	22,1 ± 8,5 ^c	20,4- 23,9	0,001
Velocidad (s)	13,3 ± 1,8 ^{a,b}	13,0- 13,7	12,9 ± 2,1	12,6- 13,3	12,8 ± 1,8 ^a	12,6- 13,0	12,6 ± 1,7 ^b	12,3- 13,0	0,001
Salto (cm)	127,2 ± 23,0 ^a	123,1-131,3	135,8 ± 26,4 ^a	131,8-139,8	133,2 ± 26,4	130,0-136,4	136,0 ± 23,2	131,3-140,8	0,001
VO ₂ máx [¶]	41,6 ± 4,4 ^{a,b,c}	40,8- 42,3	37,8 ± 6,3 ^{a,d,e}	36,5- 38,8	33,9 ± 5,2 ^{b,d,f}	33,3- 34,5	31,0 ± 6,5 ^{c,e,f}	29,7- 32,3	0,001

‡: media ± desviación estándar e intervalo de confianza de 95 %; §: índice de masa corporal; ^ω: dinamometría derecha o dinamometría izquierda;

¶: consumo máximo de oxígeno (ml/kg/minuto); a^{-f}: grupos entre los que se hallaron diferencias estadísticamente significativas con la prueba de Tukey y la de Games-Howell

Al igual que en los hombres, en las mujeres el IMC fue aumentando con la edad, registrándose en el grupo de 17 a 20 años el mayor valor (21,5 kg/m²). En cuanto al porcentaje de grasa, se observó una tendencia contraria en los hombres con respecto a la edad; así, el grupo de más edad registró 28,4 % frente a 22,6 % en el grupo más joven.

En el cuadro 3 se comparan las diferencias de las medias entre sexos y para cada grupo de edad. Con dichos datos se determinaron las diferencias estadísticamente significativas en cuanto al porcentaje de grasa ($p < 0,05$) entre hombres y mujeres, en los grupos de edad de 13 a 20 años y de 10 a 12 años, siendo mayor el nivel de adiposidad en las mujeres en todos los grupos de edad. También, se apreció que esta diferencia entre sexos aumentó con la edad y fue de 3,0 % en el grupo de 10 a 12 años, hasta alcanzar 13,5 % en el grupo de 17 a 20 años.

Con respecto al IMC, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre sexos en todos los grupos de edad ($p < 0,05$), siendo siempre mayores los valores en las mujeres de todos los grupos de edad. Con respecto al perímetro de cintura, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre sexos en los grupos de edad de 10 a 12 años y de 15 a 16 años ($p < 0,05$), siendo mayor el perímetro de cintura en los hombres en todos los grupos de edad.

En cuanto a la condición física, se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres en todos los grupos de edad y en todas las variables, excepto en la velocidad en los grupos de 10 a 12 años ($p = 0,072$), de 13 a 14 años ($p = 0,061$) y de 17 a 20 años ($p = 0,791$), y en el VO₂ máx en el grupo de edad de 10 a 12 años ($p > 0,05$). Salvo en la velocidad en los grupos de 17 a 20 años y el VO₂ máx en los de 10 a 12 años, los rendimientos

registrados en las pruebas físicas fueron mejores en los hombres que en las mujeres en todos los grupos de edad (cuadro 3). Asimismo, se observó que estas diferencias en la condición física (dinamometría y salto horizontal) entre los sexos aumentaron con la edad.

En el cuadro 4 se observa que, utilizando el coeficiente de Pearson, se encontró una correlación media positiva entre el IMC y el porcentaje de grasa ($r = 0,55$; $p = 0,000$), y entre el índice de masa corporal y el perímetro de cintura ($r = 0,73$; $p = 0,000$), así como una correlación positiva entre la fuerza de la dinamometría derecha y la dinamometría izquierda ($r = 0,91$; $p = 0,000$), la cual aumentó de manera proporcional en cada variable. En el caso del porcentaje de grasa y el salto horizontal, se evidenció una correlación negativa media ($r = -0,51$; $p = 0,000$), es decir, a mayor porcentaje de grasa, menor longitud en el salto horizontal. En cuanto a los niveles críticos (significativos) de las variables mencionadas, se encontró una asociación lineal (significativos: 0,000). Por otra parte, la velocidad no se correlacionó con el IMB ($p = 0,09$), el VO₂ máx ($p = 0,40$), ni con el porcentaje de grasa ($p = 0,34$).

Discusión

El análisis de los resultados permitió determinar la adiposidad y la condición física de los estudiantes de educación secundaria y media de Ibagué, así como las diferencias entre sexos y grupos de edad, y las correlaciones entre las variables.

Los valores de IMC y el porcentaje de grasa coincidieron, por ejemplo, con los de un estudio en el que se compararon hombres y mujeres de 12 a 17 años, y en el que se encontró mayor adiposidad en las mujeres que en los hombres (17); asimismo, en otro estudio los resultados reportados fueron similares en cuanto al peso y el porcentaje de grasa (18).

Cuadro 3. Comparación de las diferencias de las medias entre sexos en cada grupo de edad

	10-12 años (n=221)			13-14 años (n=335)			15-16 años (n=488)			17-20 años (n=209)		
	D \bar{X} \pm EE	IC _{95%} [§]	p*	D \bar{X} \pm EE	IC _{95%} [§]	p*	D \bar{X} \pm EE	IC _{95%} [§]	p*	D \bar{X} \pm EE	IC _{95%} [§]	p*
IMC [§]	0,9 \pm 0,4	0,06-1,7	0,034	1,4 \pm 0,3	0,7-2,1	0,000	1,3 \pm 0,3	0,7-1,9	0,000	1,0 \pm 0,4	0,2-1,9	0,013
% de grasa	3,0 \pm 1,00	1,0-5,0	0,003	8,5 \pm 0,8	6,7-10,2	0,000	10,9 \pm 0,7	9,6-12,2	0,000	13,5 \pm 1,0	11,5-15,5	0,000
Cintura (cm)	-2,5 \pm 1,2	-4,9-(-0,2)	0,035	0,08 \pm 0,8	-1,5-1,7	0,917	-2,3 \pm 0,7	-3,6-(-1,0)	0,001	-1,6 \pm 1,0	-3,5-0,3	0,105
Din der (kg) ^ω	-2,1 \pm 0,6	(-3,4)-(-0,8)	0,001	-5,3 \pm 0,8	-6,9-(-3,7)	0,000	-11,2 \pm 0,7	-12,6-(-9,8)	0,000	-13,5 \pm 1,4	-16,3-(-10,8)	0,000
Din izq (kg) ^ω	-2,1 \pm 0,7	-3,5-(-0,8)	0,002	-5,2 \pm 0,8	-6,8-(-3,6)	0,000	-10,3 \pm 0,7	-11,6-(-9,0)	0,000	-12,4 \pm 1,3	-15,1-(-9,8)	0,000
Velocidad (s)	0,5 \pm 0,2	-0,04-1,0	0,072	0,4 \pm 0,2	-0,01-0,8	0,061	0,5 \pm 0,2	0,2-0,9	0,002	-0,08 \pm 0,3	-0,6-0,5	0,791
Salto (cm)	-22,9 \pm 3,1	-29,0-(-16,8)	0,000	-28,3 \pm 3,1	-34,6-(-22,1)	0,000	-48,6 \pm 2,5	-53,6-(-43,6)	0,000	-66,2 \pm 3,9	-73,8-(-58,6)	0,000
VO ₂ Máx [†]	-0,003 \pm 0,6	-1,3-1,2	0,964	-3,7 \pm 0,8	-5,4-(-2,1)	0,000	-6,0 \pm 0,6	-7,2-(-4,8)	0,000	-8,7 \pm 1,1	-11,0-(-6,5)	0,000

§: diferencias de medias \pm error estándar e intervalo de confianza de 95 %; §: índice de masa corporal; ω : dinamometría derecha o dinamometría izquierda; †: consumo máximo de oxígeno (ml/kg/minutos)

Cuadro 4. Correlaciones entre variables

		IMC §	% de grasa	Cintura (cm)	Velocidad (s)	Din der (kg) ^ω	Din izq (kg) ^ω	Salto (cm)	VO ₂ máx [¶]
IMC §	<i>r</i> [*]	1	0,550**	0,734**	-0,047	0,209**	0,214**	-0,107**	-0,203**
	Sig.		0,000	0,000	0,096	0,000	0,000	0,000	0,000
% de grasa	<i>r</i> [*]	0,550**	1	0,401**	0,027	-0,254**	-0,224**	-0,511**	-0,372**
	Sig.	0,000		0,000	0,343	0,000	0,000	0,000	0,000
Cintura (cm)	<i>r</i> [*]	0,734**	0,401**	1	-0,056*	0,335**	0,348**	0,084**	-0,087**
	Sig.	0,000	0,000		0,046	0,000	0,000	0,003	0,002
Velocidad (s)	<i>r</i> [*]	-0,047	0,027	-0,056*	1	-0,070*	-0,071*	-0,084**	-0,024
	Sig.	0,096	0,343	0,046		0,014	0,012	0,003	0,405
Din der (kg) ^ω	<i>r</i> [*]	0,209**	-0,254**	0,335**	-0,070*	1	0,912**	0,518**	0,086**
	Sig.	0,000	0,000	0,000	0,014		0,000	0,000	0,002
Din izq (kg) ^ω	<i>r</i> [*]	0,214**	-0,224**	0,348**	-0,071*	0,912**	1	0,488**	0,088**
	Sig.	0,000	0,000	0,000	0,012	0,000		0,000	0,002
Salto (cm)	<i>r</i> [*]	-0,107**	-0,511**	0,084**	-0,084**	0,518**	0,488**	1	0,348**
	Sig.	0,000	0,000	0,003	0,003	0,000	0,000		0,000
VO ₂ máx [¶]	<i>r</i> [*]	-0,203**	-0,372**	-0,087**	-0,024	0,086**	0,088**	0,348**	1
	Sig.	0,000	0,000	0,002	0,405	0,002	0,002	0,000	

Ж: correlación de Pearson; **: la correlación es significativa a un nivel de 0,01 (bilateral); *: la correlación es significativa a un nivel de 0,05 (bilateral); §: índice de masa corporal; ^ω: dinamometría derecha o dinamometría izquierda; [¶]: consumo máximo de oxígeno (ml/kg/minuto); Sig.: nivel de significación

En un estudio reciente llevado a cabo en adolescentes brasileños de ambos sexos con una media de edad de 12,8 años, se encontró un IMC más alto que el registrado en este estudio; debe anotarse, además, que el número de participantes en los dos estudios fue similar: 1.081 en Brasil y 1.253 en Colombia (19). Por otro lado, en un estudio realizado en 1.348 adolescentes daneses entre los 11 y los 14 años, los resultados del IMC fueron muy similares en hombres y mujeres de la misma edad, sin embargo, el perímetro de la cintura fue menor que el del grupo de adolescentes evaluados en el estudio mencionado (20).

En otro estudio de 72 escolares de 10 a 12 años, se encontraron un IMC y un porcentaje de grasa más altos que los del presente estudio (7), y en uno con 697 estudiantes de 12 a 19 años en Río de Janeiro, el IMC de hombres y mujeres fue más alto en comparación con los datos del presente estudio, en tanto que el porcentaje de grasa y el perímetro de cintura fueron menores tanto en hombres como en mujeres (21). De la misma manera, el IMC fue semejante en una investigación en la que se evaluaron 195 adolescentes de 14 a 18 años (22).

En cuanto a las variables relacionadas con el rendimiento físico, también se han hallado diferencias entre los sexos, obteniéndose mayores niveles en los chicos que en las chicas en el salto horizontal, la velocidad de carrera y la potencia aeróbica, resultados que no son de extrañar, pues habitualmente los chicos suelen mostrar mejor rendimiento en las pruebas relacionadas con la potencia muscular o aeróbica, como se comprobó en un estudio llevado

a cabo en jóvenes entre los 10 y los 18 años, en el cual los varones registraron valores mayores de VO₂ máx (11). Estos resultados coinciden con los de otros estudios (23,24).

En el presente estudio, se encontró que en los hombres, el IMC aumentó con la edad, en tanto que el porcentaje de grasa disminuyó significativamente. En la potencia aeróbica, en cambio, se evidenció un comportamiento contrario, pues el grupo de mayor edad obtuvo los valores más bajos, con diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de 13 a 14 años, de 15 a 16 y de 17 a 20. En un estudio similar, el VO₂ máx mostró una evolución con la edad diferente a la de este estudio (25), pero es importante aclarar que se utilizó otra prueba.

En otro estudio de 264 adolescentes españoles, se evidenciaron mejores resultados en el VO₂ máx y el salto horizontal (8); en las mujeres, la única cualidad condicional en la que se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de edad fue en la potencia aeróbica, siendo el grupo más joven el que registró los mejores resultados; además, se apreció claramente la tendencia a registrar un menor VO₂ máx a medida que aumentaba la edad. En un estudio publicado en el 2014, se reportó que esta cualidad mejoraba con la edad, sin embargo, la edad y el número de participantes fue significativamente menor que en el presente trabajo (26).

En cuanto a los indicadores de adiposidad, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las mujeres según la edad, ya que

cuanto más jóvenes eran, menor fue el IMC, lo cual coincide con lo reportado en otras investigaciones llevadas a cabo en mujeres jóvenes (27). Si bien el IMC tuvo el mismo comportamiento en ellas que en los hombres, el porcentaje de grasa evolucionó en sentido contrario al de los hombres, es decir, fue mayor en las mujeres de más edad, resultados que coinciden con los de este estudio (28).

En los resultados se puede apreciar que los niveles de adiposidad de los chicos fueron menores que los de las chicas en todos los grupos de edad, es decir, el IMC y el porcentaje de grasa en ellos fueron menores que en ellas, lo cual coincide con lo reportado en los estudios llevados a cabo en muestras de adolescentes de 10 a 12 años (3) y de 10 a 17 años (29). En cuanto al porcentaje de grasa, estas diferencias entre sexos tienden a ser mayores a medida que aumenta la edad (10-12 años: 3,0%; 13-14 años: 8,5%; 15-16 años: 10,9%, y 17-20 años: 13,5%), siendo estadísticamente significativas en todos los grupos de edad ($p < 0,05$). En un estudio llevado a cabo en adolescentes brasileños, también se reportaron diferencias relevantes entre chicos y chicas en la suma de pliegues subcutáneos (19).

En cuanto a la condición física, los hombres presentaron mejores resultados en todas las variables condicionales y en todos los grupos de edad, excepto en la velocidad en el grupo de 17 a 20 años; se hallaron notables diferencias significativas en la velocidad de desplazamiento, el salto horizontal y la capacidad aeróbica ($p < 0,05$).

En conclusión, al comparar entre sexos, los resultados indicaron que las mujeres tuvieron un mayor porcentaje de grasa y una menor capacidad aeróbica, musculoesquelética y motora que los hombres.

Otra variable que se debe considerar es la evolución con respecto a la edad y por sexos, pues, a mayor edad, mayor fue el grado de desarrollo de la condición física en los hombres y en las mujeres, excepto en el VO_2 máx. También, se pudo comprobar que los porcentajes de grasa variaron: en las mujeres aumentaron con la edad, en tanto que en los hombres tendieron a disminuir a medida que aumentaba la edad.

Se puede concluir que la condición física en los hombres fue mejor que en las mujeres, independientemente del grupo etario. Los índices de porcentaje de grasa en las mujeres superaron los de los hombres, y lo contrario se observó en el IMC, el cual tendió a ser igual en los diversos grupos de edad.

Conflicto de intereses

Los autores manifiestan no haber tenido ningún conflicto de intereses en ninguna de las fases de este estudio.

Financiación

El estudio no requirió financiamiento.

Referencias

1. **Brandão de Albuquerque Filho NJ, Mendes Rebouças G, Ferreira Matos VA, Clemente de Mello Salgueiro C, Knackfuss MI, Jefferson de Medeiros H.** Effect of concurrent training on body composition and lipid profile in overweight adolescents. *J Exerc Physiol Online*. 2014;17:34-44.
2. **Leitão R, Rodrigues LP, Neves L, Carvalho GS.** Changes in adiposity status from childhood to adolescence: A 6-year longitudinal study in Portuguese boys and girls. *Ann Hum Biol*. 2011;38:520-8. <https://doi.org/10.3109/03014460.2011.571220>
3. **Padilla J.** Relación del índice de masa corporal y el porcentaje de grasa corporal en jóvenes venezolanos. *Revista Iberoamericana de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte*. 2014;3:27-33.
4. **Burlò LM, Soler EI.** Relación entre hábitos de práctica deportiva y condición física en adolescentes de Galicia. *Apunts: Educació Física Esports*. 2012;107:24-34. [https://doi.org/10.5672/apunts.2014-0983.es.\(2012/1\).107.02](https://doi.org/10.5672/apunts.2014-0983.es.(2012/1).107.02)
5. **Valdivielso MN, García RO, Hernández MN, López EL, Ojeda EB, Caballero JA.** Compromiso de los adolescentes de Canarias con un estilo de vida físicamente activo y saludable. *Retos*. 2012;21:30-3.
6. **Vašíčková J, Górna-Lukasik K, Groffik D, Frömel K, Skalík K, Svozil Z, et al.** Knowledge in adolescent girls and boys related to physically active and healthy lifestyle. *Acta Univ Palacki Olomuc Gymn*. 2012;42:27-33. <https://doi.org/10.5507/ag.2012.003>
7. **Mayorga-Vega D, Merino-Marbán R, Rodríguez-Fernández E.** Relación entre la capacidad cardiorrespiratoria y el rendimiento en los tests de condición física relacionada con la salud incluidos en la batería ALPHA en niños de 10-12 años. *Cultura, Ciencia y Deporte*. 2013;22:41-7. <https://doi.org/10.12800/ccd.v8i22.222>
8. **Becerra CA, Reigal RE, Hernández-Mendo A, Martín-Tamayo I.** Relaciones de la condición física y la composición corporal con la autopercepción de salud. *Rev Int Cienc Deporte*. 2013;9:305-18. <https://doi.org/10.5232/ricyde2013.03401>
9. **Ruggiero M.** Declaración de Helsinki, principios y valores bioéticos en juego en la investigación médica con seres humanos. *Revista Colombiana de Bioética*. 2011;6:125-44.
10. **Liu NY, Plowman SA, Looney MA.** The reliability and validity of the 20-meter shuttle test in American students 12 to 15 years old. *Res Q Exerc Sport*. 1992;63:360-5. <https://doi.org/10.1080/02701367.1992.10608757>
11. **Silva G, Oliveira NL, Aires L, Mota J, Oliveira J, Ribeiro JC.** Calculation and validation of models for estimating VO_2 max from the 20-m shuttle run test in children and adolescents. *Archives of Exercise in Health & Disease*. 2012;3:145-52.

12. **Batista MB, Cyrino ES, Arruda M, Dourado AC, Coelho-E-Silva MJ, Ohara D, et al.** Validity of equations for estimating VO₂ peak from the 20-M shuttle run test in adolescents aged 11-13 years. *J Strength Cond Res.* 2013;27:2774-81. <https://doi.org/10.1519/jsc.0b013e3182815724>
13. **Ernesto C, Martins da Silva F, Pereira LA, De Melo GF.** Cross validation of different equations to predict aerobic fitness by the shuttle run 20 meters test in Brazilian students. *J Exerc Physiol Online.* 2015;18:46-55.
14. **Ruiz JR, Silva G, Oliveira N, Ribeiro JC, Oliveira JF, Mota J.** Criterion-related validity of the 20-m shuttle run test in youths aged 13-19 years. *J Sports Sci.* 2009;27:899-906. <https://doi.org/10.1080/02640410902902835>
15. **Ruiz J, España V, Castro J, Artero E, Ortega F, Jiménez D, et al.** Batería ALPHA-Fitness: test de campo para la evaluación de la condición física relacionada con la salud en niños y adolescentes. *Nutr Hosp.* 2011;26:1210-4.
16. **Slaughter MH, Lohman TG, Boileau RA, Horswill CA, Stillman RJ, van Loan MD, et al.** Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. *Hum Biol.* 1998;60:709-23.
17. **Belarmino Dantas MG, De Oliveira Morais PA, Da Silva TFA, Carvalho FO, Schwingel PA.** Association between indicators of corporal adiposity and cardiovascular risk factors among Brazilian adolescents. *J Exerc Physiol Online.* 2013;16:69-78.
18. **Ureña-Bonilla P, Blanco-Romero L, Salas-Cabrera J.** Calidad de vida, indicadores antropométricos y satisfacción corporal en un grupo de jóvenes colegiales. *Retos.* 2015; 27:62-6.
19. **Silva DA, Teixeira DM, De Oliveira G, Petroski EL, De Farias JM.** La condición física aeróbica en adolescentes del sur de Brasil: asociación con aspectos sociodemográficos, estilo de vida y el estado nutricional. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte.* 2016;9:17-22.
20. **Christiansen LB, Toftager M, Boyle E, Kristensen PL, Troelsen J.** Effect of a school environment intervention on adolescent adiposity and physical fitness. *Scand J Med Sci Sports.* 2013;23:381-9. <https://doi.org/10.1111/sms.12088>
21. **Schultz-Straatmann V, Veiga GV.** Cardiorespiratory fitness, physical activity, and indicators of adiposity in Brazilian adolescents. *Human Movement.* 2015;16:64-70. <https://doi.org/10.1515/humo-2015-0028>
22. **Dowd K, Hannigan A, Purtil H, Macken AP, Harrington D, Kelly SM, et al.** The development of activity profiles in adolescent females and their association with adiposity. *Pediatr Exerc Sci.* 2016;28:109-16. <https://doi.org/10.1123/pes.2015-0081>
23. **Black NE, Vehrs PR, Fellingham GW, George JD, Hager R.** Prediction of VO max in children and adolescents using exercise testing and physical activity questionnaire data. *Res Q Exerc Sport.* 2016;87:89-100. <https://doi.org/10.1080/02701367.2015.1124969>
24. **Grao-Cruces A, Nuviala A, Fernández-Martínez A.** Valoración del programa Escuelas Deportivas: composición corporal, actividad física y capacidad aeróbica en adolescentes. *Retos.* 2015;27:105-8.
25. **Domínguez-Montes JA, Sánchez-Medina U, Rodríguez-Rosell D, González-Badillo JJ.** Variables antropométricas y de rendimiento físico en niños y niñas de 10-15 años de edad. *RETOS. Nuevas Tendencias en Educación Física, Deporte y Recreación.* 2015;27:86-92.
26. **Torres-Luque G, Carpio E, Sánchez AL, Zagalaz-Sánchez ML.** Niveles de condición física de escolares de educación primaria en relación a su nivel de actividad física y al género. *Retos.* 2014;25:18-22.
27. **Puterman E, Prather AA, Epel ES, Loharuka S, Adler NE, Laraia B, et al.** Exercise mitigates cumulative associations between stress and BMI in girls age 10 to 19. *Health Psychol.* 2015;35:191-4. <https://doi.org/10.1037/hea0000258>
28. **Chortane SG, Saad HB, Ounls OB, Zouhal H, Gazzah M, Tabka Z.** Masa libre de gordura de niños saludables norteafricanos con 8-16 años de edad. *Fitness & Performance Journal.* 2009;4:237-46. <https://doi.org/10.3900/fpj.8.4.237.s>
29. **Minatto G, Petroski EL, Silva DA.** Aptitud física relacionada con la salud en adolescentes brasileños de una pequeña ciudad de colonización germánica. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte.* 2016;9:67-74.

ARTÍCULO ORIGINAL

La educación del personal de salud: clave para la eliminación de la sífilis congénita en Colombia

Juan Pablo Garcés¹, Luisa Consuelo Rubiano¹, Yenifer Orobio¹,
Martha Castaño², Elizabeth Benavides³, Adriana Cruz¹

¹ Centro Internacional de Entrenamiento e Investigaciones Médicas (CIDEIM), Cali, Colombia

² Secretaría de Salud Departamental del Valle del Cauca, Cali, Colombia

³ Secretaría de Salud Pública Municipal de Santiago de Cali, Cali, Colombia

Introducción. Para la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis en Colombia, se promueve el diagnóstico y el tratamiento en una sola consulta mediante el uso de pruebas de diagnóstico rápido, así como programas de eliminación conjunta de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV.

Objetivo. Detectar los vacíos de capacitación del personal de salud en torno a la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV, y hacer recomendaciones para mejorar los programas.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo mediante 306 encuestas hechas al personal de salud de 39 instituciones de Cali. Se indagó sobre la planeación, la gestión y la ejecución de los servicios ofrecidos a las mujeres gestantes, los conocimientos clínicos sobre la sífilis, el HIV y las pruebas rápidas, así como sobre las capacitaciones recibidas.

Resultados. Se encontraron deficiencias en el conocimiento del manejo de la sífilis gestacional entre el personal de salud, incluidos los médicos. Las pruebas de diagnóstico rápido para sífilis se utilizan en los laboratorios de la ciudad, pero se detectaron fallas en su uso adecuado, especialmente en el control de calidad. La capacitación en temas de prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV había sido escasa en los dos años anteriores. El personal de salud expresó su interés por diagnosticar y tratar la sífilis gestacional en una sola consulta, usar las pruebas de diagnóstico rápido y asistir a actividades de capacitación.

Conclusiones. Se requiere la capacitación intensiva del personal de salud, de quienes toman las decisiones y de los grupos académicos, para lograr una adecuada implementación de las nuevas estrategias de prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV.

Palabras clave: sífilis congénita/prevenición y control; salud materno-infantil; educación médica continua; evaluación educacional; serodiagnóstico de la sífilis; enfermedades bacterianas de transmisión sexual; control de enfermedades transmisibles.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3397>

Educating health workers is key in congenital syphilis elimination in Colombia

Introduction: Colombia promotes the diagnosis and treatment of gestational syphilis in a single visit using rapid diagnostic tests to prevent mother-to-child transmission. Additionally, integrated health programs pursue the coordinated prevention of mother-to-child transmission of syphilis/HIV.

Objective: To identify knowledge gaps among health workers in the prevention of mother-to-child transmission of syphilis/HIV and to provide recommendations to support these programs.

Materials and methods: We conducted a descriptive study based on 306 surveys of health workers in 39 health institutions in the city of Cali. Surveys inquired about planning, management and implementation of services for pregnant women, clinical knowledge of HIV/syphilis rapid diagnostic tests, and prior training.

Results: Knowledge deficits in the management of gestational syphilis were detected among the surveyed health workers, including physicians. Rapid tests for syphilis are currently used in clinical

Contribución de los autores:

Adriana Cruz: diseño de la propuesta y redacción del manuscrito

Luisa Consuelo Rubiano: diseño de la propuesta y elaboración de encuestas

Juan Pablo Garcés: conducción del estudio, elaboración de encuestas y redacción del manuscrito

Yenifer Orobio: análisis estadístico, elaboración de encuestas y transcripción de encuestas a medio digital

Martha Castaño y Elizabeth Benavidez: aval y apoyo en la realización de encuestas

Todos los autores participaron en la discusión y análisis de los resultados, y en la revisión del manuscrito.

laboratories in Cali, however, procedural deficiencies were observed in their use, including quality control assurance. During the two years prior to the survey, training of health workers in the prevention of mother-to-child transmission of syphilis/HIV had been limited. Health workers are interested in identifying and treating gestational syphilis in a single event, in using rapid diagnostic tests and in receiving training.

Conclusions: Intensive training targeting health workers, policy/decision makers and academic groups is needed to ensure adequate implementation of new strategies for the prevention of mother-to-child transmission of syphilis/HIV.

Key words: Syphilis, congenital/prevention and control; maternal and child health; education, medical, continuing; educational measurement; syphilis serodiagnosis; sexually transmitted diseases, bacterial; communicable disease control.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3397>

La sífilis es una infección de transmisión sexual ocasionada por *Treponema pallidum*. A pesar de que existe un tratamiento, continúa siendo un problema de salud pública, en especial, en las poblaciones deprimidas socioeconómicamente (estratos 1 y 2).

Se estima que cada año se presentan en el mundo 12 millones de infecciones por sífilis, y más de 1,36 millones ocurren en mujeres gestantes (1), cuya probabilidad de transmitir la infección al feto a través de la placenta es de más de 70 %, con graves consecuencias, como el aborto, el parto prematuro, el bajo peso del recién nacido o la infección neonatal (2).

El pilar de la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis es el diagnóstico y el tratamiento temprano de la mujer gestante. Dado que 97 % de los casos de sífilis congénita logran prevenirse con la administración de una dosis de penicilina benzatínica a la madre (3), la prevención de la transmisión materno-infantil es una de las intervenciones de mayor costo-efectividad (4). Por esta razón, desde hace más de una década se ha trabajado en el “Plan de eliminación de la sífilis congénita” (5), cuya meta para el 2015 era llegar a menos de 0,5 casos por cada 1.000 nacidos vivos (6). Esta meta no se ha cumplido en la mayoría de los países latinoamericanos, incluido Colombia, en donde se reportaron 1.112 casos de sífilis congénita en el 2014 (7).

Este panorama puede cambiar drásticamente con la introducción de las pruebas de diagnóstico rápido de la sífilis, las cuales permiten la tamización de

las madres gestantes de manera fácil, segura, económica y confiable, para ofrecerles tratamiento inmediato en caso de tener resultados positivos (8-12).

Con base en la información sobre el impacto positivo de dichas pruebas en la cobertura del diagnóstico de la sífilis y su tratamiento en mujeres gestantes (8,10,11), el Ministerio de Salud de Colombia se unió a esta estrategia expidiendo la Resolución 2338 de 2013, en la cual se establecen las directrices para el uso de las pruebas de diagnóstico rápido, y actualizando la “Guía de atención integral de la gestante con sífilis” (13), que establece el diagnóstico y el tratamiento de la sífilis en la primera visita de control prenatal. Asimismo, se decidió armonizar la detección temprana de la sífilis con la tamización para la detección del HIV (14). Con esta iniciativa, Colombia se comprometió a la eliminación de la transmisión materno-infantil de la sífilis y emprendió el camino para lograr la certificación de la eliminación de la sífilis congénita por parte de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Para alcanzar las metas de tamización y de tratamiento, es necesario ofrecer capacitación continua al personal de salud que atiende a las mujeres gestantes. Sin un conocimiento actualizado de los algoritmos diagnósticos de la sífilis, del tratamiento con penicilina y del uso de las pruebas de diagnóstico rápido, es prácticamente imposible la óptima implementación de dicho programa.

Dadas las deficiencias en el conocimiento y el uso de las pruebas en Cali, una de las ciudades con mayor incidencia de sífilis congénita en Colombia, el presente estudio se propuso detectar los vacíos de capacitación en torno a la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV que podrían obstaculizar la implementación de las estrategias en mención.

Correspondencia:

Adriana Cruz, Carrera 125 N° 19-225, Cali, Colombia

Teléfonos: (572) 555 2164 y (315) 570 4535

acruz@cideim.org.co

Recibido: 17/06/16; aceptado: 30/11/16

Materiales y métodos

Diseño y población del estudio

Se llevó a cabo un estudio descriptivo de corte transversal entre profesionales de la salud de los sectores público y privado de Cali, encargados de la atención de mujeres gestantes en el control prenatal, el parto o el puerperio, así como de los recién nacidos.

Se estimó un tamaño de muestra de 306 encuestados teniendo en cuenta una proporción esperada de 50 %, con un nivel de confianza de 95 %, un error de 0,05 y una probabilidad de falta de respuesta de 9 %.

Los participantes se seleccionaron proporcionalmente de acuerdo con el número total en cada profesión. Contestaron la encuesta médicos gineco-obstetras, pediatras, médicos generales, enfermeras, bacteriólogos, psicólogos, fisioterapeutas y técnicos en salud, así como tomadores de decisiones (funcionarios de la secretaría de salud, jefes de sala de partos o laboratorio, etc.) e investigadores de las instituciones prestadoras de servicios de salud y de las secretarías de salud, entre el 20 de febrero y el 28 de mayo de 2015.

Encuesta

Se elaboró una encuesta de 100 preguntas distribuida en cinco secciones: 1) información general del participante; 2) indagación sobre la planeación, la gestión y la ejecución de los programas de control prenatal y prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV; 3) evaluación del conocimiento mediante 20 preguntas relacionadas con el tema de la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV, y con las pruebas de diagnóstico rápido (se calificó como de nivel bueno a quien obtuviera 16 o más respuestas acertadas; como regular, a aquel con 12 a 15, y como deficiente, a aquellos con 11 o menos respuestas correctas); 4) nivel de capacitación o investigación en temas de sífilis y HIV, el cual se determinó como ninguno, poco, moderado o intensivo, y se evaluó, asimismo, qué tan importante era este entrenamiento para el entrevistado, y 5) necesidades e intereses en capacitación. Las preguntas de las secciones 4 y 5 se adaptaron de la encuesta empleada por García, *et al.*, en el Perú, con permiso de los autores (15).

Recolección y análisis de datos

El cuestionario se hizo en formato electrónico mediante la aplicación 'collect' del *Open Data Kit* (16). La información se recolectó en dispositivos

móviles (tabletas) e inmediatamente se sincronizó vía internet con el servidor del centro de investigaciones, CIDEIM.

Se hizo un análisis descriptivo de la encuesta. Las variables registradas fueron de tipo cualitativo nominal, por lo que se calcularon las frecuencias absolutas y relativas. El análisis estadístico se procesó en R 3.1.1(17) con la librería RCMDR y las gráficas en Excel 2007 de Microsoft Office.

Consideraciones éticas

El protocolo, los cuestionarios y el consentimiento fueron aprobados por el Comité de Ética de Investigación en Humanos del CIDEIM y por las instituciones participantes. El Comité de Revisión Ética de la OPS (PAHOERC) eximió al proyecto de revisión por no considerarlo como un estudio en sujetos humanos. Los participantes firmaron el consentimiento informado.

Resultados

Descripción de la población encuestada

Se invitó a participar a 42 de las principales empresas prestadoras de servicios de salud de Cali que atienden a mujeres gestantes y, de estas, 39 aceptaron participar. Estas empresas atienden a la mayoría de las usuarias del sistema de salud público y del privado provenientes de la región (figura 1). El 29 % del personal encuestado trabajaba en dos o más instituciones de la ciudad, lo cual garantizó una amplia cobertura. El análisis de los cuestionarios no arrojó diferencias entre las respuestas del personal de salud perteneciente a empresas del sector público y del privado, por lo cual los resultados se presentan para la población total.

Se realizaron 306 encuestas a profesionales de la salud responsables de la atención de mujeres gestantes y recién nacidos. De los 306 profesionales participantes, 33 (11 %) eran tomadores de decisiones, y se desempeñaban como directores de centros de salud, jefes de laboratorio, jefes de salas de parto, puerperio y neonatos, directores médicos o funcionarios de la Secretaría de Salud Departamental del Valle o de la Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali. En el cuadro 1 se presenta el perfil de los encuestados.

Los centros de salud y hospitales de Cali cuentan con un servicio de coordinación de los programas de prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV, y de las infecciones de transmisión sexual, y la mayoría de los líderes de

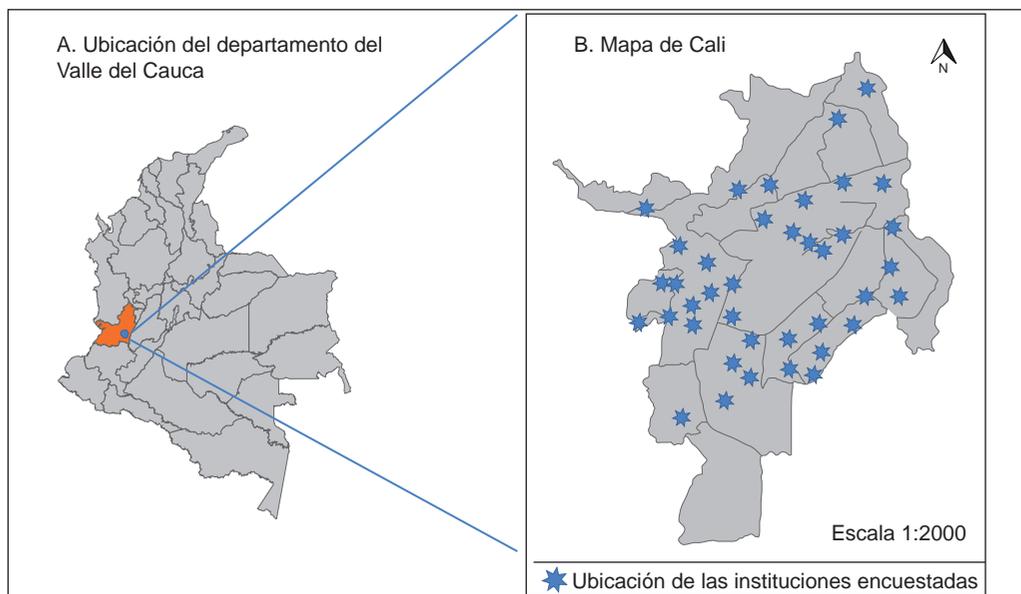


Figura 1. Ubicación de las instituciones encuestadas en Cali, Colombia, 2015

A. Mapa de Colombia y del departamento del Valle del Cauca (en color naranja). B. Mapa de Cali con la ubicación de las instituciones prestadoras de servicios de salud y de la Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali y la Secretaría de Salud Departamental del Valle, de los hospitales y centros de salud: ESE Norte, Centro, Ladera, Oriente, Suroriente, Hospital Universitario del Valle, Hospital San Juan de Dios, Clínica Farallones, Clínica Rafael Uribe Uribe, Clínica Comfenalco, IPS Comfandi San Nicolás y Clínica Saludcoop Norte

Cuadro 1. Descripción de la población encuestada en los sectores público y privado de Cali, Colombia, 2015

Profesión	Público	Privado	Total
Gineco-obstetricia	12	26	38
Pediatría	8	29	37
Medicina general	52	31	83
Enfermería	48	45	93
Bacteriología	13	6	19
Psicología	5	0	5
Fisioterapia	0	1	1
Salud ocupacional	1	0	1
Técnico ^a	23	6	29
Total	162	144	306

^aAuxiliares de enfermería y laboratorio, y personal administrativo

estos programas consideraron importante el uso de pruebas de diagnóstico rápido en el marco de dicha estrategia.

El 74 % de los encuestados contestaron que en sus instituciones había un coordinador del programa materno-infantil y un departamento responsable de la vigilancia de infecciones de transmisión sexual, en tanto que el 82 % afirmó tener un servicio de atención integral para la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV en mujeres gestantes. Sin embargo, se encontró que el 37 % del personal médico entrevistado no sabía quiénes eran estos coordinadores.

Se entrevistaron 33 tomadores de decisiones, de los cuales el 67 % refirió que había un presupuesto destinado al control prenatal en el cual se incluía la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV; asimismo, el 73 % manifestó que era importante aplicar la estrategia de diagnóstico y tratamiento de la sífilis en una misma consulta, utilizando la prueba de diagnóstico rápido de la sífilis. La excepción la constituyeron los jefes de laboratorio, pues cinco de los siete entrevistados no habían considerado implementar esta estrategia.

En cuanto a la aceptación de las pruebas de diagnóstico rápido por parte de los proveedores de servicios de salud y de los pacientes, 26 de 33 (79 %) tomadores de decisiones señalaron que estas eran bien recibidas, pero solo el 51 % manifestó haber aprobado el uso de las pruebas de HIV y, 46 %, el de las de sífilis. Nueve (27 %) de los 33 tomadores de decisiones encuestados refirió haber realizado estudios de costo-efectividad para la implementación de estas pruebas diagnósticas.

Se detectaron serias deficiencias entre el personal médico en cuanto al conocimiento sobre el manejo de la sífilis gestacional.

En la sección de la encuesta que indagaba sobre los conocimientos de la prevención de la transmisión materno-infantil del HIV y de la sífilis y sobre el

uso de las pruebas de diagnóstico rápido, se revelaron serios vacíos en estos temas. Los resultados generales se presentan en la figura 2. Si bien el 76 % de los encuestados reconoció que la sífilis congénita es un problema atribuible a un mal control prenatal, hubo ginecólogos (7/38; 18 %) y pediatras (9/37; 24 %) que consideraron que no lo era.

Entre los encuestados, incluidos los ginecólogos, pediatras y médicos generales, se encontró que no había suficiente claridad en cuanto al tratamiento de la mujer gestante con sífilis y el uso de la penicilina.

El 59 % de los participantes no valoró correctamente la siguiente aseveración: “En el caso de presentarse una gestante con alergia a la penicilina, y no tener disponible un protocolo de desensibilización (sic) oral a la penicilina, se recomienda dar un tratamiento alternativo como la azitromicina, con estricta vigilancia del recién nacido”. Además, 29 % (11/38) de los ginecólogos, 38 % (14/37) de los pediatras y 31 % (26/83) de los médicos generales aceptaron erróneamente la conveniencia del uso de la azitromicina para prevenir la transmisión materno-infantil de la sífilis. Más aún, 82 % de la población encuestada consideró que se debía hacer una prueba de sensibilidad antes de aplicar la penicilina, y 48 % refirió que la penicilina benzatínica debería aplicarse solo en salas de urgencias.

Por otra parte, 34 % (13/38) de los ginecólogos, 32 % (12/37) de los pediatras y 39 % (32/83) de los médicos generales consideraron que, si se diagnostica sífilis en el último mes del embarazo, debe administrarse penicilina cristalina intravenosa a la mujer gestante para prevenir la transmisión materno-infantil de la infección, procedimiento que actualmente se considera incorrecto (13).

Las preguntas sobre la prevención de la transmisión materno-infantil del HIV fueron contestadas de forma acertada por más del 77 % de los participantes, lo cual demuestra que hay un mejor conocimiento en esta área.

Las pruebas de diagnóstico rápido se utilizan en los laboratorios de Cali, pero hace falta entrenamiento del personal de salud para su correcta y amplia utilización.

En este sentido, las entrevistas revelaron que más del 85 % de las pruebas de diagnóstico rápido de la sífilis y el HIV en las empresas prestadoras de servicios de salud de la ciudad, estaba a cargo de bacteriólogos o auxiliares de laboratorio. Más aún, 12 de los 19 (63 %) bacteriólogos encuestados afirmaron que solo ellos podían hacer estas pruebas.

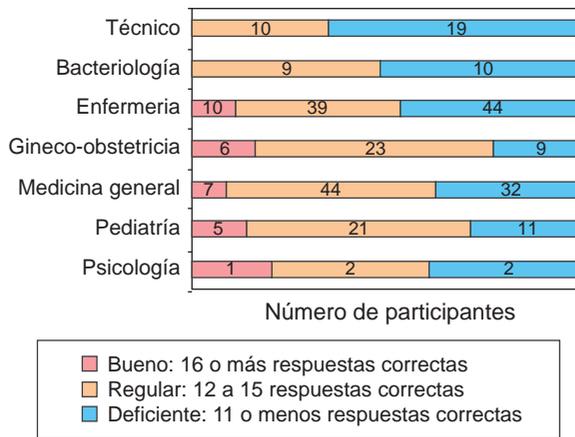


Figura 2. Distribución de los resultados de la prueba de conocimientos sobre prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV, y sobre las pruebas de diagnóstico rápido de estas dos enfermedades entre los profesionales de la salud en Cali, Colombia, 2015 (n=306)

Todo el personal de laboratorio participante refirió contar con los protocolos para las pruebas de diagnóstico que utilizaban, pero cuando se preguntó si había que modificarlos para incluir el diagnóstico de sífilis, 12 de los 20 (75 %) trabajadores de laboratorio respondieron “no dato” (no sabe/no responde), lo cual reflejó falta de claridad en este punto.

Al indagar específicamente sobre los protocolos para las pruebas de diagnóstico rápido de HIV, cinco de los 15 (33 %) integrantes del personal de laboratorio afirmaron que no contaban con ellos y nueve de 11 (82 %) dijeron no contar con los de sífilis.

A los tomadores de decisiones se les preguntó sobre los sistemas de control de calidad de dichas pruebas en sus laboratorios y solo la mitad (52 %) respondió que sí tenían uno, en tanto que los demás respondieron que no lo tenían o que no sabían si existía.

La falta de claridad en torno al control de calidad se verificó con las respuestas encontradas en la prueba de conocimiento: por ejemplo, ante la siguiente afirmación: “La prueba rápida tiene un control de calidad interno, por lo que no necesita más sistemas de verificación”, solo 38 % la valoró correctamente, incluidos los bacteriólogos, 32 % de los cuales afirmó que el control interno de la prueba era suficiente.

Además, se detectó la falta de claridad en las indicaciones de uso de las pruebas de diagnóstico rápido de la sífilis y el HIV, ya que al indagar si dichas pruebas podían usarse en los casos de sífilis congénita y HIV neonatal, solo 29 y 44 %, respectivamente, respondieron afirmativamente.

respectivamente, respondió de manera correcta. Aunque la mayoría del personal de salud sabía que la prueba de diagnóstico rápido de la sífilis no diferencia una infección antigua de una recientemente adquirida, 36 % de los encuestados no tenía claridad sobre este concepto. Con respecto a la prueba de diagnóstico rápido del HIV, solo 51 % de los encuestados consideró que tenía la misma validez que la prueba ELISA e, incluso, 11 de los 19 bacteriólogos consideraron que dicha prueba no tenía la misma validez del ELISA.

A pesar de que la mayoría (80 %) de la población encuestada (70 % de la cual estaba constituida por personal de laboratorio), manifestó un gran interés en implementar estas pruebas rápidas en áreas fuera de laboratorio solamente 26 % (79/306) del personal entrevistado manifestó sentirse en capacidad de hacerlo. En dicho grupo se contaban los bacteriólogos y los tomadores de decisiones. Más del 85 % de los entrevistados reconoció la importancia de una capacitación para la aplicación, la interpretación y el manejo de dichas pruebas, así como del desarrollo de un sistema de control de calidad interno y externo.

Las actividades de investigación y educación para el personal de salud fueron escasas en los dos años previos. Al preguntar sobre la planeación de las actividades de investigación en los diferentes programas, se encontró que solamente el 5 % del personal encuestado había participado en trabajos de investigación relacionados con la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV en los dos años anteriores. Asimismo, muy pocos profesionales habían participado en el desarrollo y la elaboración de materiales educativos para los prestadores de servicios de salud o para la comunidad en general sobre estos temas y sobre la promoción del control prenatal a partir del primer trimestre, o la prevención de infecciones de transmisión sexual (cuadro 2).

De igual manera, más de la mitad de los encuestados (53 %) no había recibido capacitación o entrenamiento sobre la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV, las pruebas de diagnóstico rápido o el manejo del síndrome de infección de transmisión sexual en los dos años previos; el 94 % demostró interés en hacerlo y afirmó tener tiempo disponible, siempre y cuando los talleres fueran de corta duración.

En la figura 3 se presentan los niveles de capacitación de los responsables de la prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV.

Se detectaron temas desatendidos, por ejemplo, la forma de insensibilizar a las mujeres gestantes alérgicas a la penicilina, ya que el 65 % de los prestadores de servicios de salud no había recibido ninguna capacitación en este sentido, o habían tenido muy poca. El entrenamiento sobre el uso de las pruebas de diagnóstico rápido y sus controles de calidad había sido limitado, pues 217 de 306 (71 %) entrevistados refirieron no haber recibido ningún tipo de información al respecto. Solamente seis participantes, cuatro de ellos bacteriólogos, refirieron haber recibido capacitación intensiva en este tema.

Discusión

La situación epidemiológica de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV demuestra que el país está aún lejos de las metas planteadas por OPS/OMS. La incidencia de la sífilis congénita en el país en el 2014 fue de 1,68 por 1.000 nacidos vivos (7). En ese mismo año, la incidencia reportada en el departamento del Valle del Cauca fue mayor (4,7/1.000 nacidos vivos, según informe de la Secretaría de Salud del departamento), con áreas críticas como el municipio de Buenaventura, una de las áreas más afectadas del mundo (18). En Cali, la incidencia de la sífilis congénita en el 2014 fue de 4,8 por 1.000 nacidos vivos, según la Secretaría de Salud del municipio. En cuanto a la transmisión materno-infantil del HIV, se observó un incremento del porcentaje de casos en menores de dos años de edad en el Valle del Cauca en los dos años anteriores, al pasar de 2,2 % en el 2012 a 4,4 % en el 2014, según la Secretaría de Salud departamental.

En respuesta a esta crítica situación, Colombia se comprometió en la lucha para la eliminación de la sífilis congénita y el HIV neonatal, y ha logrado

Cuadro 2. Actividades de investigación y educación realizadas por el personal de salud responsable del cuidado de la mujer gestante en Cali, Colombia, en los dos años previos al momento de la encuesta (n=306)

Descripción	Sí	No
Participación en estudios de investigación en PTMI, HIV y sífilis	15 (5 %)	291 (95 %)
Generación de material educativo	45 (15 %)	259 (85 %)
Estimular el control prenatal en el primer trimestre de gestación	55 (18 %)	251 (82 %)
Detección y prevención precoz de las ITS	46 (16 %)	254 (83 %)
PTMI de la sífilis congénita	57 (19 %)	249 (81 %)
PTMI del HIV		

PTMI: prevención de la transmisión materno-infantil
ITS: infecciones de transmisión sexual

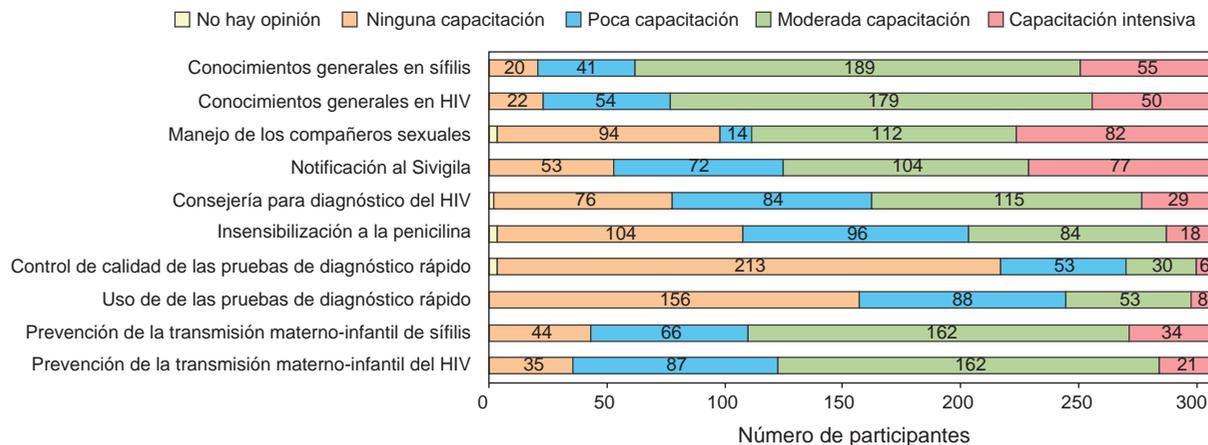


Figura 3. Distribución de los resultados sobre la cantidad de capacitaciones en temas de prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV ofrecidas al personal responsable de la atención de la mujeres gestantes (n=306)

avances en cuanto a la normativa en los últimos tres años, con la aprobación de la Resolución 2338 del 2013 y la oficialización de las nuevas guías de atención de la sífilis gestacional y congénita (13) y de mujeres gestantes con HIV (19), orientadas a agilizar el diagnóstico y el tratamiento mediante las pruebas de diagnóstico rápido.

Sin embargo, estos esfuerzos aún no son suficientes y ahora debe prestarse atención a la educación y a la capacitación del personal de salud encargado de implementar estas nuevas estrategias. En las entrevistas realizadas a las 306 personas responsables del cuidado de la mujer gestante, se evidenció que existen vacíos en la planeación, la gestión, la ejecución, el conocimiento y la capacitación sobre los programas de prevención de la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV. Si bien los resultados se limitan a Cali, tercera ciudad en tamaño de Colombia, podría plantearse razonablemente que la situación en el resto del país no es mejor.

Es preocupante el nivel de desactualización en los temas de diagnóstico y manejo de la sífilis gestacional entre el personal encargado del control prenatal y de salas de partos, así como de los médicos generales, los gineco-obstetras y los pediatras. La nueva guía de atención de la mujer gestante con sífilis establece el tratamiento para la sífilis congénita con penicilina benzatínica aplicada de forma inmediata en la consulta de control prenatal, en caso de haberse registrado un resultado positivo en la prueba de diagnóstico rápido (13). Si el tratamiento se hace antes de los 30 días previos al parto, debe aplicarse una sola dosis de 2,4 millones de unidades internacionales, lo cual

previene hasta el 97 % de los casos de sífilis congénita (12). En el caso de riesgo de reacciones alérgicas, debe insensibilizarse a la paciente y administrarle la penicilina.

Está demostrado que los macrólidos no son efectivos como tratamiento alternativo (20-22) y que los beneficios de la aplicación de la penicilina en las mujeres gestantes con sífilis sobrepasan el riesgo de reacciones anafilácticas, las cuales se estima que ocurren en 0 a 3 de 100.000 pacientes tratadas (23). La penicilina adecuadamente manejada es un medicamento seguro, cuya aplicación no requiere asistir al servicio de urgencias ni usar pruebas de sensibilidad para predecir reacciones anafilácticas, el cual es el manejo que actualmente recomienda el Ministerio de Salud de Colombia (13). Estos conceptos claves en la lucha contra la sífilis congénita deben divulgarse insistentemente en la comunidad médica para, así, lograr un cambio en las conductas y alcanzar las metas deseadas.

El uso de las pruebas de diagnóstico rápido de la sífilis y el HIV ha aumentado en Colombia, y en Cali se utilizan cada vez más frecuentemente en los laboratorios de pequeña y mediana escala, pero la mayoría de los bacteriólogos consideran que deben continuar siendo de su competencia. A pesar de esta situación, se expresó un gran interés por ampliar su uso a otros profesionales de la salud para cumplir con el propósito para el cual fueron creadas: el diagnóstico rápido y el tratamiento inmediato (8,10,24). El poco conocimiento sobre el control de calidad de tales pruebas fue incluso mayor. Los laboratorios de las instituciones participantes, incluido el laboratorio de la Secretaría de Salud departamental, aún no contaban con

un sistema de control de calidad de la prueba de diagnóstico rápido de la sífilis, y no habían programado las capacitaciones y los entrenamientos para efectuarlo.

La estrategia de eliminación conjunta de la sífilis congénita y de la transmisión materno-infantil del HIV (14) debe ir acompañada de programas educativos intensivos y permanentes que involucren a todos los profesionales de la salud responsables del bienestar de la mujer gestante, en consonancia con los lineamientos del Plan Decenal de Salud Pública, 2012-2021, en el cual se plantea que, para disponer de talento humano suficiente y calificado capaz de responder a la demanda de los servicios de salud, se debe apoyar su formación y actualización (25). Por esto, es importante invertir en entrenamiento y capacitación en el diagnóstico y el manejo de la sífilis gestacional y la congénita, en el uso adecuado de la penicilina, incluida la insensibilización en casos de posible alergia, en la utilización de las pruebas de diagnóstico rápido y su control de calidad (26), en el tratamiento de los contactos y en la forma de notificar los casos al Sistema de Vigilancia en Salud Pública de Colombia (Sivigila).

Se ha señalado que la educación universitaria de los profesionales de la salud está desfasada con respecto a los avances en el conocimiento de las estrategias en salud, lo cual ha dado lugar a problemas como la incompetencia al enfrentar las necesidades de los pacientes y el trabajo en equipo, así como a poco liderazgo. Por consiguiente, es importante el mejoramiento continuo de los currículos universitarios, de manera que el profesional desarrolle una mayor flexibilidad y responda mejor a las exigencias de la población (27,28).

Ante la gravedad de la situación, se deben promover actividades investigativas que contribuyan a la generación de conocimiento en todas las áreas, para así obtener información que respalde a los tomadores de decisiones y disminuir la brecha entre la investigación y la práctica (15), con el fin de contribuir a mejorar las estrategias y alcanzar la meta de eliminar la transmisión materno-infantil de la sífilis y el HIV.

Agradecimientos

A todas las instituciones participantes: Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali, ESE Norte, ESE Centro, ESE Ladera, ESE Oriente, ESE Suroriente, Hospital Universitario del Valle, Hospital San Juan

de Dios, Clínica Farallones, Clínica Rafael Uribe Uribe, Clínica Comfenalco, IPS Comfandi-San Nicolás y Clínica Saludcoop Norte, así como a Alejandra Padilla y a Jennifer Muriel, por la ayuda en la recolección de los datos, y a Óscar J. Oviedo y Jesús D. Gómez, por el diseño del cuaderno de recolección de datos electrónico y la base de datos.

Conflicto de intereses

Los autores de este artículo declaran no tener conflictos de intereses.

Financiación

Este estudio fue financiado por la Organización Panamericana de la Salud (AT/LOA/1400005.001 OPS/OMS), la Secretaría de Salud Departamental del Valle del Cauca, Colombia, el *Fogarty International Center of the National Institutes of Health* bajo la subvención número D43TW006589, y por Colciencias, programa de Jóvenes Investigadores e Innovadores (Convenio 0234, 2014).

Referencias

1. Newman L, Kamb M, Hawkes S, Gómez G, Say L, Seuc A, et al. Global estimates of syphilis in pregnancy and associated adverse outcomes: Analysis of multinational antenatal surveillance data. *PLoS Med.* 2013;10:e1001396. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001396>
2. Shafii T, Radolf JD, Sánchez PJ, Schulz KF, Murphy FK. Congenital syphilis. In: Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, Piot P, Wasserheit JN, Corey L, et al, editors. *Sexually transmitted infections*. New York: Mc Graw Hill; 2008. p. 1577-612.
3. Watson-Jones D, Changalucha J, Gumodoka B, Weiss H, Rusizoka M, Ndeki L, et al. Syphilis in pregnancy in Tanzania. I. Impact of maternal syphilis on outcome of pregnancy. *J Infect Dis.* 2002;186:940-7. <https://doi.org/10.1086/342952>
4. Terris-Prestholt F, Watson-Jones D, Mugeye K, Kumaranayake L, Ndeki L, Weiss H, et al. Is antenatal syphilis screening still cost effective in sub-Saharan Africa. *Sex Transm Infect.* 2003;79:375-81. <https://doi.org/10.1136/sti.79.5.375>
5. Kamb ML, Newman LM, Riley PL, Mark J, Hawkes SJ, Malik T, et al. A road map for the global elimination of congenital syphilis. *Obstet Gynecol Int.* 2010;2010:1-6. <https://doi.org/10.1155/2010/312798>
6. Valderrama J. Eliminación de la sífilis congénita en América Latina y el Caribe. Marco de referencia para su implementación. Washington, D.C: OPS; 2005. p. 64.
7. Instituto Nacional de Salud. Sivigila, Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. Bogotá: INS; 2012. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Paginas/sivigila.aspx>
8. Mabey DC, Sollis KA, Kelly HA, Benzaken AS, Bitarakwate E, Changalucha J, et al. Point-of-care tests to strengthen health systems and save newborn lives: The case of syphilis. *PLoS Med.* 2012;9:e1001233. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001233>

9. **Blencowe H, Cousens S, Kamb M, Berman S, Lawn JE.** Lives Saved Tool supplement detection and treatment of syphilis in pregnancy to reduce syphilis related stillbirths and neonatal mortality. *BMC Public Health.* 2011;11(Suppl.3):S9. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-S3-S9>
10. **Chen XS, Peeling RW, Yin YP, Mabey D.** Improving antenatal care to prevent adverse pregnancy outcomes caused by syphilis. *Future Microbiol.* 2011;6:1131-4. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.99>
11. **Tucker JD, Bu J, Brown LB, Yin YP, Chen XS, Cohen MS.** Accelerating worldwide syphilis screening through rapid testing: A systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2010;10:381-6. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70092-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70092-X)
12. **Watson-Jones D, Gumodoka B, Weiss H, Chagalucha J, Todd J, Mugeye K, et al.** Syphilis in pregnancy in Tanzania. II. The effectiveness of antenatal syphilis screening and single-dose benzathine penicillin treatment for the prevention of adverse pregnancy outcomes. *J Infect Dis.* 2002;186:948-57. <https://doi.org/10.1086/342951>
13. **Gaitán H, Páez C, Rivera DP, Ángel E, Estrada S, Cifuentes MY, et al.** Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia para la atención integral de la sífilis gestacional y congénita. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social, Fondo de Población de las Naciones Unidas; 2014. p. 126.
14. **World Health Organization.** Global guidance on criteria and processes for validation: Elimination of mother-to-child transmission (EMTCT) of HIV and syphilis. Geneva: WHO; 2014. p. 32.
15. **García PJ, Cotrina A, Gotuzzo E, González E, Buffardi AL.** Research training needs in Peruvian national TB/HIV programs. *BMC Med Educ.* 2010;10:63. <https://doi.org/10.1186/1472-6920-10-63>
16. **Borriello G, Schilit B, Lerer A, Chin J.** Open Data Kit. Seattle: University of Washington; 2010. Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2015. Disponible en: <https://opendatakit.org/use/collect/>
17. **R-Core-Team.** The R Project for Statistical Computing. Vienna: The R Foundation; 2014. Fecha de consulta: 16 de septiembre de 2015. Disponible en: <http://www.R-project.org>
18. **Cruz AR, Castrillón MA, Minotta AY, Rubiano LC, Castaño MC, Salazar JC.** Gestational and congenital syphilis epidemic in the Colombian Pacific Coast. *Sex Transm Dis.* 2013;40:813-8. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000020>
19. **Moreno CA, Martínez E, Cepeda M, Mora L, Pinzón C, Osorio D, et al.** Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia científica para la atención de la infección por VIH/Sida en adolescentes (con 13 años o más de edad) y adultos. Bogotá, D.C.: Ministerio de Salud y Protección Social, Fondo de Poblaciones de Naciones Unidas; 2014. p. 95.
20. **Fenton LJ, Light IJ.** Congenital syphilis after maternal treatment with erythromycin. *Obstet Gynecol.* 1976;47:492-4.
21. **Hashisaki P, Wertzberger GG, Conrad GL, Nichols CR.** Erythromycin failure in the treatment of syphilis in a pregnant woman. *Sex Transm Dis.* 1983;10:36-8.
22. **South MA, Short DH, Knox JM.** Failures of erythromycin estolate therapy in utero syphilis. *JAMA.* 1964;190:70-1. <https://doi.org/10.1001/jama.1964.03070140076020>
23. **Galvao TF, Silva MT, Serruya SJ, Newman LM, Klausner JD, Pereira MG, et al.** Safety of benzathine penicillin for preventing congenital syphilis: A systematic review. *PLoS One.* 2013;8:e56463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056463>
24. **Peeling RW.** Applying new technologies for diagnosing sexually transmitted infections in resource-poor settings. *Sex Transm Infect.* 2011;87(Suppl.2):ii28-30. <https://doi.org/10.1136/sti.2010.047647>
25. **Ministerio de Salud.** Plan Decenal de Salud Pública, PDSP, 2012-2021. Bogotá, D.C.: Ministerio de Salud y Protección Social; 2013. p. 237.
26. **Kamb M, Schwartz-Benzaken A, Karem K, Matheu J, Pérez F.** Orientación para el diagnóstico de la sífilis en América Latina y el Caribe: cómo mejorar la adopción, interpretación y calidad del diagnóstico en diferentes entornos clínicos. En: Salud DdETyAd, editor. Washington: OPS/OMS; 2015. p. 32.
27. **Frenk J, Chen L, Bhutta ZA, Cohen J, Crisp N, Evans T, et al.** Health professionals for a new century: Transforming education to strengthen health systems in an interdependent world. *Lancet.* 2010;376:1923-58. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61854-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61854-5)
28. **World Health Organization.** The world health report: 2006: Working together for health. Geneva: WHO; 2006.

COMUNICACIÓN BREVE

Caracterización molecular de los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* de pacientes con HIV, Guayaquil, Ecuador

Sunny Sánchez¹, Dolores Zambrano¹, Maylen García², César Bedoya^{2,3},
Carlos Fernández⁴, María Teresa Illnait-Zaragozí⁴

¹ Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Enrique Ortega Moreira", Universidad Espíritu Santo, Guayaquil, Ecuador

² Unidad de Infecciones de Transmisión Sexual, Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública, Guayaquil, Ecuador

³ Facultad de Ingeniería Marítima, Ciencias Biológicas, Oceánicas y Recursos Naturales, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador

⁴ Laboratorio de Micología, Centro de Investigación, Diagnóstico y Referencia, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba

Introducción. La neurocriptococosis es una infección fúngica oportunista que representa un alto costo en vidas humanas y para la economía de los países. Sus agentes causales, las especies del complejo *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii*, tienen una fase sexual y otra asexual, cuatro serotipos principales y siete variedades moleculares con diferencias clínico-epidemiológicas, fenotípicas y de sensibilidad a los antifúngicos.

Objetivo. Caracterizar molecularmente los aislamientos clínicos de *C. neoformans* de Guayaquil, Ecuador.

Materiales y métodos. Se determinó el tipo de apareamiento, el serotipo y la variedad molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa y análisis del polimorfismo de los fragmentos de restricción de 27 aislamientos levaduriformes previamente identificados como *C. neoformans* mediante métodos convencionales. Los aislamientos fueron recuperados del líquido cefalorraquídeo de pacientes con síndrome neurológico seropositivos para HIV, internados en el Hospital de Infectología "Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña", entre diciembre de 2013 y enero de 2015.

Resultados. Se demostró el amplio predominio de *C. neoformans* del serotipo A, *MAT α* y el genotipo VNI entre los aislamientos estudiados.

Conclusiones. Estos datos son similares a los obtenidos en otros países y son los primeros de su tipo en Guayaquil, Ecuador, por lo cual constituyen un aporte importante al conocimiento de la criptococosis en esta ciudad.

Palabras clave: *Cryptococcus neoformans*, criptococosis, HIV, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, genotipo, Ecuador.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3322>

Molecular characterization of *Cryptococcus neoformans* isolates from HIV patients, Guayaquil, Ecuador

Introduction: Neurocryptococcosis is an opportunistic fungal infection that represents a high cost in human lives and for the economy of countries. Its causative agent, the *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii* species complex, has a sexual and an asexual phase, four major serotypes and seven molecular varieties with phenotypic, clinical-epidemiological and antifungal susceptibility differences.

Objective: To characterize by molecular methods clinical isolates of *C. neoformans* from Guayaquil, Ecuador.

Materials and methods: We determined mating types, serotypes and molecular varieties by PCR and RFLP in 27 yeast isolates previously identified as *C. neoformans* by conventional methods. The isolates were recovered from cerebrospinal fluid of HIV seropositive patients with neurological syndrome admitted at "Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña" Hospital from December, 2013, to January, 2015.

Results: We established a wide prevalence of *C. neoformans* serotype A, *MAT α* and genotype VNI among the studied isolates.

Contribución de los autores:

Sunny Sánchez y Dolores Zambrano: recolección de datos y muestras, caracterización convencional, escritura del manuscrito
Maylen García y César Bedoya: caracterización molecular
Carlos Fernández y María Teresa Illnait-Zaragozí: diseño del estudio y revisión crítica del manuscrito

Conclusions: These data are similar to those obtained in other countries and the first identified by molecular characterization in Guayaquil, Ecuador. Therefore, they constitute an important contribution to the knowledge on cryptococcosis in this country.

Key words: *Cryptococcus neoformans*, cryptococcosis, HIV, acquired immunodeficiency syndrome, genotype, Ecuador.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3322>

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en un informe del 2014, Venezuela, Ecuador y Colombia se encontraban entre los países de la región de las Américas con las tasas de prevalencia más altas de casos de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) en el 2012 (360, 338 y 307 por 100.000 habitantes, respectivamente); por el contrario, Cuba presentaba las tasas más bajas (42 por 100.000 habitantes). En cuanto a la mortalidad, en el mismo reporte se informaba de una tasa de 17 por 100.000 habitantes en Ecuador, en tanto que en Cuba y Chile se presentaban las más bajas (2,6 y 2,4 por 100.000 habitantes en cada caso) (1).

En la medida en que la pandemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida se incrementó, se convirtió en el principal factor predisponente de varias micosis superficiales y profundas (2). A pesar de la introducción del tratamiento antirretroviral altamente efectivo, cada año se diagnostican alrededor de un millón de casos de meningitis criptocócica en pacientes con HIV. Se calcula que entre 3 y 5 % de los individuos con sida en Europa la padecen, cifra que asciende a 10 % en Estados Unidos y Brasil, en tanto que en África Central supera el doble de este porcentaje y constituye la infección más común, conjuntamente con la tuberculosis y la malaria (3).

Hay poca información publicada sobre la situación de las micosis oportunistas en los pacientes con HIV-sida en Ecuador. En el 2009, Chiang, *et al.*, publicaron un trabajo en el Hospital de Infectología de Guayaquil y demostraron que la criptococosis era la cuarta causa de ingreso por infección oportunista (4).

Las especies del complejo *Cryptococcus neoformans/Cryptococcus gattii*, agentes causales de la criptococosis, tienen una fase sexuada y otra asexuada,

cuatro serotipos principales y ocho variedades moleculares con diferencias clínico-epidemiológicas, fenotípicas y de sensibilidad a los antifúngicos (5). Existen numerosos métodos para estudiar la epidemiología molecular de las especies *C. neoformans* y *C. gattii*. Uno de los más ampliamente utilizados es el de los polimorfismos de longitud de los fragmentos de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP). Con base en las diferencias genéticas reconocidas mediante estas pruebas, se estableció que el serotipo A comprende el genotipo VNI (el más frecuente a nivel mundial, especialmente en los países asiáticos), el VNII y el VNB (inicialmente considerado como restringido a Botsuana); el híbrido AD comprende el VNIII, así como el D y el VNIV. Los serotipos B y C incluyen los genotipos VGI (el más frecuente en las infecciones causadas por *C. gattii*), VGII, VGIII y VGIV (6,7).

Hasta el momento no hay datos sobre las variantes moleculares circulantes en los pacientes seropositivos para HIV en Guayaquil.

Dada la relevancia clínico-epidemiológica de dicha información, el presente trabajo tuvo como objetivo caracterizar molecularmente los aislamientos previamente recuperados de pacientes con HIV-sida e identificados como *C. neoformans*. Los resultados obtenidos en esta investigación permitirán comprender mejor la situación de la criptococosis en Guayaquil, predecir la evolución de la enfermedad y mejorar los protocolos de tratamiento de los pacientes afectados.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio transversal, descriptivo y prospectivo entre el 1° de diciembre de 2013 y el 31 de enero de 2015. Se incluyeron 27 aislamientos levaduriformes previamente identificados como *C. neoformans* mediante métodos convencionales (tinta china, aislamiento en agar de Sabouraud, prueba de la ureasa en agar urea de Christensen, producción de tubos germinales (*filamentation*) en agar harina de maíz con Tween 80®, asimilación de azúcares y crecimiento en canavanina-glicina-azul de bromotimol). Los aislamientos se recuperaron del líquido cefalorraquídeo de pacientes seropositivos

Correspondencia:

María Teresa Illnait-Zaragozí, Laboratorio de Micología, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", Avenida Novia del Mediodía, km 6 1/2, municipio La Lisa, La Habana, Cuba
Fax: (537) 202 0633 y 204 6051
mtilnait@ipk.sld.cu

Recibido: 18/05/16; aceptado: 14/10/16

para HIV internados en el Hospital de Infectología "Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña" de Guayaquil, Ecuador (8).

Extracción de ADN

A partir del cultivo fresco de cada uno de los aislamientos, se tomaron 10 unidades formadoras de colonia y se suspendieron en 200 µl de solución tampón fosfato (PBS), pH 8,3. Para extraer el ADN, se empleó el estuche comercial High Pure PCR Template Preparation Kit® (Roche, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se adicionó un paso previo de lisis celular con liticasa (10 µl por muestra a 0,5 mg/ml) y se incubó a 37 °C durante 30 minutos.

Serotipo y tipo de apareamiento

Para la determinación del serotipo y del tipo de apareamiento, se realizaron dos reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) según el procedimiento de Carvalho, *et al.* (9), en las cuales se emplearon los juegos de cebadores que se presentan en el cuadro 1.

En cada PCR se emplearon 0,2 µM de cebadores, 0,02 U/µl de *Taq* polimerasa, 1,5 mM de MgCl y 0,2 mM de solución trifosfato de desoxinucleótidos (dNTP). La primera PCR se sometió a 94 °C durante un minuto, seguida de 59 °C durante 30 segundos, luego 30 ciclos a 72 °C durante un minuto, finalizando con 72 °C durante 10 minutos. La segunda se sometió a 94 °C durante un minuto, a 61 °C durante 30 segundos, 30 ciclos a 72 °C durante un minuto y, por último, a 72 °C durante 10 minutos. Todos los productos amplificados se separaron en geles de agarosa al 2 % a 100 V durante una hora (9).

Variaciones moleculares

Se aplicó la técnica de RFLP siguiendo el protocolo desarrollado por Meyer, *et al.* (10). Se utilizaron los cebadores *URA5* (5'ATGTCCTCCCAAGCCCTCG

ACTCCG3') y SJ01 (5'TTAAGACCTCTGAACACC GTACTC3'). El producto de la reacción se digirió con las enzimas de restricción *HhaI* y *Sau96I*; los fragmentos obtenidos se visualizaron en gel de agarosa al 3 % después de aplicarlo a 80 V durante 3,5 horas. Como controles positivos, se emplearon las cepas de *Cryptococcus* CBS9172 (Aa), CBS8710 (Aa) (ambas AFLP1/VNI), CBS10511 (Da) y CBS10513 (Da) (ambas AFLP2/VNIV), y como negativos, la CBS6956 (Ba) AFLP6/VGII y la CBS10101 (Ca) AFLP7/VGIV, y agua.

Consideraciones éticas

El estudio se llevó a cabo previa autorización de la Decanatura de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Espíritu Santo y de la Jefatura de Docencia del Hospital de Infectología "Dr. José Daniel Rodríguez Maridueña", Guayaquil, Ecuador. Además, el estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Bioética COBI-ASFORUM (acreditado por las autoridades locales de salud del Ecuador) y el Comité de Ética de la Investigación del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba (dictamen No. CEI-IPK 44-14).

Resultados

Los 27 aislamientos previamente identificados como *C. neoformans* según sus características fenotípicas (8) correspondieron al serotipo A, tipo de apareamiento *MATa*. En la figura 1 se muestra la corrida electroforética de seis de los aislamientos, en la cual se evidenció la presencia de la amplificación de fragmentos de 1.200 pb que lo caracteriza.

Según los resultados de la PCR-RFLP del gen *URA5*, 24 aislamientos correspondían al genotipo VNI, mientras que en tres de ellos no se logró la amplificación del fragmento.

Discusión

La criptococosis es una micosis que compromete seriamente la vida de los pacientes afectados y se

Cuadro 1. Combinación de cebadores empleados en la determinación del serotipo y tipo de apareamiento de los aislamientos presuntamente identificados como *Cryptococcus neoformans* por métodos convencionales

Alelo o dominio	Cebador	Secuencia del cebador (5' - 3')	Tamaño (pb)	
Reacción I	<i>MATa</i> serotipo A	JOHE 7264 JOHE 7265	5'-AGCTGATGCTGTGGATTGAATAC-3' 5'-GTTCAATTAATCTCACTACCTGTAG-3'	1.200
	<i>MATa</i> serotipo A	JOHE 7270 JOHE 7272	5'-ATCAGAGACAGAGGAGGAGCAAGAC-3' 5'-TCCACTGGCAACCCTGCGAG-3'	870
	Reacción II	<i>MATa</i> serotipo D	JOHE 7267 JOHE 7268	5'-ATAGGCTGGTGTGCTGTGAATTAAG-3' 5'-GTTCAAGTAATCTCACTACATGCG-3'
<i>MATa</i> serotipo D		JOHE 7273 JOHE 7275	5'-GTTTCATCAGATACAGAGGAGTGG-3' 5'-CTCCACTGTCAAACCTACGGC-3'	870



Figura 1. Corrida electroforética en gel de agarosa al 2 % de los fragmentos amplificados mediante PCR multiplex. Obsérvese el amplicón de 1.200 pb.

desarrolla por la inhalación y la diseminación de conidias o levaduras disecadas de *C. neoformans*/*C. gattii* (11). Las especies de este complejo son de vida libre y pueden sobrevivir en diversos nichos ecológicos. *Cryptococcus neoformans* presenta una distribución universal, afecta por lo general a individuos inmunodeficientes e incluye dos variedades fundamentales: *C. neoformans* var. *grubii* (serotipo A) y *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D); además, existe el estado intervariedad (*intervarietal*) de *C. neoformans*, serotipo AD. Por su parte *C. gattii* (serotipos B y C) tiene una distribución geográfica más restringida a zonas tropicales y subtropicales, aunque los hallazgos recientes indican su adaptación a otros ambientes, y suele presentarse en individuos sin aparente alteración del sistema inmunitario (6,12), lo cual podría explicar el amplio predominio de *C. neoformans* en el presente estudio.

El Hospital de Infectología de Guayaquil atiende a 4.000 pacientes con HIV-sida de Ecuador (13). Esta condición es ampliamente reconocida como la principal predisponente para el desarrollo de la criptococosis, especialmente la causada por *C. neoformans* (14). Diversos investigadores de todas las latitudes han respaldado esto, entre ellos, Meyer y Cogliati en sus respectivos metaanálisis sobre epidemiología molecular global de *C. neoformans* y *C. gattii* (10,12). Más recientemente, en Cuba, Illnait-Zaragoz, *et al.*, también demostraron que el 100 % de los más de 100 aislamientos de *Cryptococcus* spp. autóctonos de esta isla incluidos en su estudio eran de *C. neoformans*, serotipo A, *MATa*, AFLP1 (correspondiente a VNI) (11),

información que puede ser de gran utilidad para lograr un mejor manejo de los pacientes afectados por la criptococosis.

En la actualidad, se conoce la repercusión clínica de la infección en aislamientos del tipo *MATa*, los cuales presentan un comportamiento más virulento que el tipo *MATa* (15,16). Asimismo, se confirmó que los genotipos se distinguían entre sí por los valores de corte para la concentración inhibitoria mínima de los antifúngicos más importantes, entre otros aspectos prácticos (17,18).

Aunque no se usan en el diagnóstico de rutina, los métodos moleculares se emplean para la detección de secuencias genéticas específicas del complejo *C. neoformans*, tanto a partir de muestras clínicas como de cultivos (19,20). Estas herramientas permiten la identificación de las especies del complejo *C. neoformans*/*C. gattii* y otras descritas con menor frecuencia, como *C. laurentii*, por lo que suelen brindar resultados más completos que el diagnóstico convencional y contribuyen a una mejor comprensión de la epidemiología y la historia natural de la criptococosis.

Uno de los métodos más empleados es el RFLP, basado en el análisis del polimorfismo de un fragmento amplificado y digerido posteriormente con endonucleasas, en este caso, *Sau96I* y *HhaI*. Los estudios de epidemiología molecular demuestran que esta técnica se puede aplicar a la detección rápida de los ocho tipos moleculares principales del complejo *C. neoformans* (10,21). No obstante, la técnica tiene limitaciones, una de las principales, además de la compleja interpretación de los resultados, es el gran número de pasos del proceso, la cantidad requerida de reactivos y equipos, así como la demanda de ADN de alta calidad, factor crucial para su éxito (22).

La secuencia del gen *URA5* es una de las más utilizadas debido a su gran sensibilidad (21). No obstante, en el presente estudio no se obtuvo ningún producto después de la amplificación de este fragmento en tres de los 27 aislamientos. Este fenómeno pudo deberse a la inhibición de la reacción de amplificación o a la cantidad insuficiente de material genético de la levadura. Hubo una concordancia del 88,8 % entre el método convencional previamente empleado para la identificación y la técnica molecular aplicada en este estudio. Este resultado avala la utilidad de estas pruebas en la identificación micológica, especialmente, cuando se emplean de forma combinada con otros métodos.

Los resultados de esta investigación son muy similares a lo ya reportado, especialmente en Asia y otros países de América Latina. En Seúl, se determinó mediante RFLP y tipificación multilocus de secuencia (*Multi-Locus Sequence Typing*, MLST) que el 100 % de los 46 aislamientos estudiados pertenecían al serotipo Aa (VNI) (23). Por su parte, en la India, Jain demostró que 51 de 57 aislamientos clínicos correspondían a este mismo genotipo, uno a VNIV y cinco a VGII (24).

Colombia es quizá el país de Latinoamérica que más ha estudiado la situación molecular de sus aislamientos de *Cryptococcus* spp. La encuesta epidemiológica conducida por Meyer, *et al.*, brindó información valiosa sobre las variedades moleculares circulantes en nueve países de Iberoamérica (10). Sus resultados fueron corroborados posteriormente por Sánchez, *et al.*, quienes confirmaron que 35 de los 54 aislamientos procedentes de Bogotá eran *C. neoformans* (93 % era Aa y 82,9 %, VNI) y 19 eran *C. gattii* (47,5 % correspondientes a MATay 52,6 % a VGII) (25). De igual forma, los estudios de Igreja y Delgado a partir de muestras clínicas, demostraron la prevalencia de VNI y VNII en Brasil (26-28).

Actualmente, la tipificación molecular de los microorganismos tiene un papel mucho más amplio que la simple determinación de los patrones genéticos que caracterizan un aislamiento (19). El análisis mediante estas técnicas de 27 aislamientos de *C. neoformans* recuperados de pacientes seropositivos para HIV en Guayaquil, demostró la prevalencia del tipo MATaA VNI. Estos resultados constituyen los primeros de su tipo en esta ciudad y representan un aporte importante al conocimiento de la criptococosis y a un mejor manejo de los pacientes afectados.

Agradecimientos

A la Universidad Espíritu Santo, al Instituto Nacional de Salud Pública e Investigación, al Hospital de Infectología “Dr. José Daniel Rodríguez” y al Laboratorio Nacional de Referencia de Micología del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”, por su colaboración en este trabajo.

Conflictos de interés

Todos los autores manifestaron no tener ningún conflicto de intereses.

Financiación

No se recibió financiación para el desarrollo de este trabajo.

Referencias

1. **Organización Mundial de la Salud.** Estadísticas sanitarias mundiales 2014. Fecha de consulta: 25 de julio de 2015. Disponible en: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2014/es/
2. **Idnurm A, Lin X.** Rising to the challenge of multiple *Cryptococcus* species and the diseases they cause. *Fungal Genet Biol.* 2015;78:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.05.002>
3. **Perfect JR, Bicanic T.** Cryptococcosis diagnosis and treatment: What do we know now. *Fungal Genet Biol.* 2015;78:49-54. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.10.003>
4. **Chiang H, Tettamanti D, Castro G.** Tinta china en orina como método de diagnóstico en criptococosis diseminada asociado a VIH/sida. Estudio transversal realizado en el hospital de infectología “José Rodríguez M.” durante el año 2009. *Rev Med FCM-UCSG.* 2010;16:116-23.
5. **Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, et al.** Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii/Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genet Biol.* 2015;78:16-48. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.02.009>
6. **Trilles L, Wang B, Firacative C, Lazera M dos S, Wanke B, Meyer W.** Identification of the major molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *C. gattii* by hyperbranched rolling circle amplification. *PLoS One.* 2014;9:e94648. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094648>
7. **Inglis DO, Skrzypek MS, Liaw E, Moktali V, Sherlock G, Stajich JE.** Literature-based gene curation and proposed genetic nomenclature for *Cryptococcus*. *Eukaryot Cell.* 2014;13:878-83. <https://doi.org/10.1128/EC.00083-14>
8. **Sánchez-Giler S, Zambrano-Castro D, Martínez-Machín GF, Fernández-Andreu CM, Illnait-Zaragoz MT.** Neurocriptococosis en el contexto de la infección con el VIH en Guayaquil, Ecuador. *Rev Cubana Med Trop.* 2016;68.
9. **Carvalho VG, Terceti MS, Dias ALT, Paula CR, Lyon JP, Siqueira AM de, et al.** Serotype and mating type characterization of *Cryptococcus neoformans* by multiplex PCR. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2007;49:207-10. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652007000400002>
10. **Meyer W, Castañeda A, Jackson S, Huynh M, Castañeda E, Arechavala A, et al.** Molecular typing of IberoAmerican *Cryptococcus neoformans* isolates. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:189-95. <https://doi.org/10.3201/eid0902.020246>
11. **Illnait-Zaragoz MT, Martínez-Machín GF, Fernández-Andreu CM, Perurena-Lancha MR, Hagen F, Meis JF.** *Cryptococcus* and cryptococcosis in Cuba. A minireview. *Mycoses.* 2014;57:707-17. <https://doi.org/10.1111/myc.12275>
12. **Cogliati M.** Global molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*: An atlas of the molecular types. *Scientifica (Cairo).* 2013;2013:675213. <https://doi.org/10.1155/2013/675213>
13. **Ministerio de Salud Pública.** Ministra de Salud inaugurará área de consulta externa para pacientes con VIH en Guayaquil. Fecha de consulta: 25 de abril de 2015. Disponible en: <http://instituciones.msp.gob.ec/cz8/index.php/component/content/?view=featured>
14. **Alspaugh JA.** Virulence mechanisms and *Cryptococcus neoformans* pathogenesis. *Fungal Genet Biol.* 2015;78:55-8. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.09.004>

15. **La Hoz RM, Pappas PG.** Cryptococcal infections: Changing epidemiology and implications for therapy. *Drugs.* 2013;73:495-504. <https://doi.org/10.1007/s40265-013-0037-z>
16. **Hagen F, Ceresini PC, Polacheck I, Ma H, van Nieuwerburgh F, Gabaldón T, et al.** Ancient dispersal of the human fungal pathogen *Cryptococcus gattii* from the Amazon rainforest. *PLoS One.* 2013;8:e71148. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071148>
17. **Espinel-Ingroff A, Chowdhary A, Cuenca-Estrella M, Fothergill A, Fuller J, Hagen F, et al.** *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex: An international study of wild-type susceptibility endpoint distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin b and flucytosine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:3107-13. <https://doi.org/10.1128/AAC.06252-11>
18. **Espinel-Ingroff A, Aller AI, Cantón E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Córdoba S, et al.** *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex: An international study of wild-type susceptibility endpoint distributions and epidemiological cutoff values for fluconazole, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:5898-906. <https://doi.org/10.1128/AAC.01115-12>
19. **Bovers M, Hagen F, Boekhout T.** Diversity of the *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex. *Rev Iberoam Micol.* 2008;25:S4-12.
20. **Wengenack NL, Binnicker MJ.** Fungal molecular diagnostics. *Clin Chest Med.* 2009;30:391-408. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2009.02.014>
21. **Kidd SE, Chow Y, Mak S, Bach PJ, Chen H, Hingston AO, et al.** Characterization of environmental sources of the human and animal pathogen *Cryptococcus gattii* in British Columbia, Canada, and the Pacific Northwest of the United States. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73:1433-43. <https://doi.org/10.1128/AEM.01330-06>
22. **Sidrim JJC, Costa AKF, Cordeiro RA, Brilhante RSN, Moura FEA, Castelo-Branco DS, et al.** Molecular methods for the diagnosis and characterization of *Cryptococcus*: A review. *Can J Microbiol.* 2010;56:445-58. <https://doi.org/10.1139/w10-030>
23. **Park SH, Kim M, Joo SI, Hwang SM.** Molecular epidemiology of clinical *Cryptococcus neoformans* isolates in Seoul, Korea. *Mycobiology.* 2014;42:73-8. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2014.42.1.73>
24. **Jain N, Wickes BL, Keller SM, Fu J, Casadevall A, Jain P, et al.** Molecular epidemiology of clinical *Cryptococcus neoformans* strains from India. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5733-42. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.11.5733-5742.2005>
25. **Sánchez A, Escandón P, Castañeda E.** Determinación *in vitro* de la actividad de los factores asociados con la virulencia de aislamientos clínicos del complejo *Cryptococcus neoformans*. *Rev Iberoam Micol.* 2008;25:145-9. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(08\)70034-2](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(08)70034-2)
26. **Igreja RP, Santos-Lazéra MD, Wanke B, Gutiérrez-Galhardo MC, Kidd SE, Meyer W.** Molecular epidemiology of *Cryptococcus neoformans* isolates from AIDS patients of the Brazilian city, Rio de Janeiro. *Med Mycol.* 2004. <https://doi.org/10.1080/13693780310001644743>
27. **Delgado AC, Taguchi H, Mikami Y, Myiajy M, Villares MC, Moretti ML.** Human cryptococcosis: Relationship of environmental and clinical strains of *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* from urban and rural areas. *Mycopathologia.* 2005;159:7-11. <https://doi.org/10.1007/s11046-004-9618-4>
28. **Da Silva BK, Freire AK, Dos Santos Bentes A, De Lima Sampaio I, Oliveira Santos L, Silva Dos Santos M, et al.** Characterization of clinical isolates of the *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii* species complex from the Amazonas State in Brazil. *Rev Iberoam Micol.* 2012;29:40-3. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2011.05.003>

CARTA AL EDITOR

Santa Marta, 24 de junio de 2017

Señores Editores
Revista *Biomédica*

Estimados señores:

Biomédica publicó recientemente un par de artículos sobre el desempeño psicométrico de dos escalas para la identificación de síntomas emocionales, lo cual subraya la importancia de la psicometría o 'clinimetría' en la investigación en salud, así como la necesidad de verificar, una y otra vez, la confiabilidad y la validez de los instrumentos de medición, en particular aquellos que miden constructos en el contexto de la salud mental.

En la publicación anticipada de uno de los artículos mencionados, Simancas-Pallares, *et al.*, presentan una compleja y completa evaluación del desempeño del cuestionario general de salud de 12 ítems (CGS-12) utilizado en estudiantes de Odontología mediante avanzadas técnicas estadísticas en análisis factorial confirmatorio de creciente uso en Colombia (1).

Sin embargo, una revisión cuidadosa de los indicadores de bondad de ajuste muestra que ninguno es adecuado, incluso aquellos que incluyeron corrección del sesgo de respuesta y errores relacionados, dado los altos valores de χ^2 al cuadrado de Bentler-Satorra, lo que cuestiona la validez de constructo del CGS-12, así como la invariancia de los datos de los estudiantes que completaron el instrumento, como concluyó Hankins a partir de la observación de su rendimiento en una muestra grande de personas en la población general (2). Este es un problema menor para instrumentos como el CGS-12, que presenta un aceptable desempeño en cuanto a sensibilidad y especificidad, comparado con el mejor criterio de referencia, la entrevista clínica estructurada (3).

Además, los lectores deben tener presentes las limitaciones del análisis factorial confirmatorio, pues con frecuencia los ajustes de las covarianzas responden a un afán estadístico por encontrar lo que se quiere encontrar, lo cual constituye otro sesgo que, de manera implícita, quebranta el principio de parsimonia, muy valorado en este contexto.

Asimismo, en todas las escalas se conoce el gran problema que los ítems redactados en negativo generan en el español (4). Por último, siempre es necesario recordar que el desempeño 'clínico' de las escalas de medición en salud varía según las características de la población y que no responde a propiedades intrínsecas del instrumento, y que la utilidad de una escala también considera la fácil calificación e interpretación de las puntuaciones (5).

Adalberto Campo-Arias

Programa de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia
acampo@unimagdalena.edu.co

Referencias

1. **Simancas-Pallares M, Arrieta KM, Arévalo LL.** Validez de constructo y consistencia interna de tres estructuras factoriales y dos sistemas de puntuación del cuestionario general de salud de 12 ítems. *Biomédica*. 2017;37:308-314. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3240>
2. **Hankins M.** The reliability of the twelve-item general health questionnaire (GHQ-12) under realistic assumptions. *BMC Public Health*. 2008;8:355. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-8-355>
3. **Lindert J, Bain PA, Kubzansky LD, Stein C.** Well-being measurement and the WHO health policy Health 2010: Systematic review of measurement scales. *Eur J Public Health*. 2015; 25: 731-40. <https://doi.org/10.1093/eurpub/cku193>
4. **Salazar MS.** The dilemma of combining positive and negative items in scales. *Psicothema*. 2015;27:192-200. <https://doi.org/10.7334/psicothema2014.266>
5. **Sánchez R, Echeverry J.** Validación de escalas de medición en salud. *Rev Salud Pública*. 2004;6:302-18.

Cartagena de Indias, 5 de julio de 2017

Señores Editores
Revista *Biomédica*

Estimados señores:

Ante todo, agradecemos al profesor Campo-Arias su seria y profunda crítica a nuestro artículo publicado recientemente en *Biomédica* (1). Tal y como se comenta en el artículo, es imperativo continuar realizando estudios que den cuenta de las propiedades psicométricas de los instrumentos de medición en salud en cada contexto en el que sean utilizados (2).

El profesor Campo-Arias menciona en su carta que ninguno de los indicadores de bondad de ajuste fue adecuado, afirmación que no se ajusta a la verdad, toda vez que si se revisan los criterios propuestos por Hu, *et al.* (3), para la evaluación del ajuste de modelos derivados del análisis factorial confirmatorio mediante el modelado de ecuaciones estructurales –las cuales son las más empleadas y aceptadas en la literatura científica sobre psicometría– lo encontrado en el modelo unidimensional con la corrección del sesgo de respuesta ofrece un adecuado ajuste que se tradujo en la validez del constructo. Por otro lado, los altos valores de χ^2 al cuadrado obedecieron estrictamente al tamaño de la muestra, pues esta prueba de bondad de ajuste es sensible al tamaño de la muestra (483 sujetos, en nuestro caso) (4).

Además, es importante aclarar que: 1) el valor de χ^2 al cuadrado derivado del análisis factorial confirmatorio no se obtuvo mediante la aproximación de Satorra-Bentler, ampliamente utilizada en modelos de simulación estadística, pero no en este caso, y 2) en el presente estudio no se valoró la invariancia factorial de los modelos investigados, como afirma el autor. Dicha hipótesis se pone a prueba cuando se trata de comprobar la equivalencia de la estructura de factores frente a una variable categórica de interés (sexo, grupo etario, etc.).

Por otra parte, si no se hubieran tenido en cuenta las precauciones estadísticas para la aplicación de los índices de modificación mediante la correlación del error de la covarianza, entonces sí se hubiera caído en un “afán estadístico por encontrar lo que se quiere encontrar”, ya que el lector puede interpretar que se obtuvo un buen ajuste inducido por los investigadores al superar la recomendación para la aplicación de los índices de modificación. No obstante, dado que la hipótesis del estudio fue valorar este modelo (que incluye la correlación de la covarianza de los errores de los ítems negativos), esto no constituye un sesgo, pues la hipótesis del estudio justificaba su aplicación. Además, la parsimonia del modelo no depende del ajuste por correlación de la covarianza de los errores, sino del valor de χ^2 al cuadrado obtenido y de los grados de libertad, los que, a su vez, y como se mencionó anteriormente, se derivan de una prueba estadística sensible al tamaño de la muestra (4).

Como autores estamos de acuerdo con el gran problema que generan en el español las escalas que incluyen ítems redactados en forma negativa, sin

embargo, esto es un problema inherente al diseño de la escala. Así las cosas, el haber demostrado el efecto de los ítems negativos sobre la validez del constructo del cuestionario mediante la correlación de los errores de covarianza a los que dan lugar, permite pensar en el desarrollo de futuros estudios en los que pueda modificarse su redacción y, tal vez, obviar los sofisticados procedimientos estadísticos que se emplean para demostrar las adecuadas propiedades psicométricas del instrumento.

Estamos de acuerdo con el profesor Campo-Arias en que el desempeño de la escala varía según las características de la población, lo que constituye una de las justificaciones de nuestro estudio. Asimismo, y como se menciona en el texto del artículo, el CGS-12 es un instrumento de gran utilidad clínica por su fácil aplicación e interpretación de las puntuaciones.

Miguel Simancas-Pallares
Departamento de Investigaciones,
Facultad de Odontología
Universidad de Cartagena
msimancasp@unicartagena.edu.co

Katherine Arrieta-Vergara
Departamento de Odontología Preventiva y Social
Facultad de Odontología
Universidad de Cartagena
karrietav@unicartagena.edu.co

Luisa Arévalo-Tovar
Departamento de Medicina Oral y Cirugía
Facultad de Odontología
Universidad de Cartagena
larevalot@unicartagena.edu.co

Referencias

1. **Simancas-Pallares M, Arrieta KM, Arévalo LL.** Validez de constructo y consistencia interna de tres estructuras factoriales y dos sistemas de puntuación del cuestionario general de salud de 12 ítems. *Biomédica.* 2017;37:308-314. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.3240>
2. **Beaton DE, Bombardier C, Guillemin F, Ferraz MB.** Guidelines for the process of cross-cultural adaptation of self-report measures. *Spine.* (Phila Pa 1976). 2000;25: 3186-91.
3. **Hu LT, Bentler PM.** Cutoff criteria for fit indexes in covariance structure analysis: Conventional criteria versus new alternatives. *Struct Equ Modeling.* 1999;6:1-55. <https://doi.org/10.1080/10705519909540118>
4. **Brown TA.** Confirmatory factor analysis for applied research. New York: Guilford Publications; 2015. p. 461.

CARTA AL EDITOR

Medellín, 27 de junio de 2017

Señores Editores
Revista *Biomédica*

Estimados señores:

Hemos leído con gran interés el artículo de Marín, *et al.*, recientemente publicado en *Biomédica* (1), en el cual los autores presentan el reporte de un caso de síndrome de hipersensibilidad a medicamentos, con exantema, eosinofilia y síntomas sistémicos (*Drug Rash with Eosinophilia and Systemic Symptoms*, DRESS) inducido por carbamazepina. Coincidimos en que, en casos graves, el DRESS inducido por medicamentos puede llegar a ser mortal y requiere una aguzada sospecha clínica para su rápido diagnóstico y tratamiento. Sin embargo, es necesario hacer algunas precisiones sobre lo expuesto en el artículo mencionado, ya que puede generar confusión, por lo cual amerita su discusión en este espacio.

Con base en los datos de un reporte de caso publicado por Muciño-Bermejo, *et al.*, en 2013, los autores del artículo presentan la carbamazepina como el medicamento más frecuentemente relacionado con el DRESS (2). No obstante, además de que la referencia de los datos es incorrecta, pues dicha información fue originalmente presentada en la revisión sistemática sobre el tema publicada por Cacoub, *et al.* (3), en un reciente estudio en Malasia se encontró que el alopurinol es el mayor inductor del DRESS (4). Asimismo, en el artículo se alude al alopurinol como un medicamento anticonvulsivo, pero este fármaco se utiliza en casos de hiperuricemia y no tiene propiedades anticonvulsivas.

En el artículo se señala, asimismo, que la incidencia estimada de este síndrome es de 1 a 1.000 por cada 10.000 exposiciones farmacológicas. Sin embargo, esto es incorrecto. Roujeau, *et al.*, estimaron que, aproximadamente, 1 de cada 1.000 pacientes hospitalizados presenta reacciones cutáneas graves, entre ellas, el síndrome de Stevens-Johnson, la necrólisis epidérmica tóxica y el DRESS (5). Llama la atención que en el artículo de Muciño-Bermejo, *et al.*, se presenta el mismo error de redacción, el cual magnifica la incidencia de esta condición.

Se afirma erróneamente que existe una asociación del alelo HLA-B*15:02 con el desarrollo del DRESS inducido por carbamazepina. Debe aclararse que este alelo está asociado al síndrome de Stevens-Johnson y a la necrólisis epidérmica tóxica inducida por carbamazepina, y no al DRESS (6). En este último se ha registrado una asociación significativa entre su inducción por alopurinol y el alelo HLA-B*5801 (7).

En el artículo se presenta como una limitación la imposibilidad de hacer estudios genéticos e inmunológicos en el paciente, pero es importante precisar que, debido a la baja incidencia del DRESS y al alto costo de los exámenes especializados de laboratorio, estos no han sido validados para su uso rutinario en pacientes con este síndrome (8).

Debido a la baja incidencia del DRESS, su diagnóstico es un reto continuo para los trabajadores de la salud y consideramos de suma importancia la adecuada difusión del conocimiento en torno a sus manifestaciones, para reducir la mortalidad asociada, mucho más en nuestro país, donde no existen sistemas de vigilancia para este síndrome y los casos reportados son escasos.

Andrés Puerto-Fuentes
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia,
Medellín, Colombia

Yeimer S. Ortiz-Martínez
Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

Referencias

1. **Marín JA, Ortega MA, Sánchez IP, Pacheco JA.** Síndrome de hipersensibilidad a medicamentos con exantema, eosinofilia y síntomas sistémicos inducido por carbamazepina. *Biomédica*. 2017;37:150-7. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i3.3170>
2. **Muciño-Bermejo J, Díaz de León-Ponce M, Briones-Vega CG, Guerrero-Hernández A, Sandoval-Ayala OI, Sáenz-Coronado AG, et al.** Síndrome de DRESS. Reporte de un caso clínico. *Rev Médica Inst Mex Seguro Soc*. 2013;51:330-5.
3. **Cacoub P, Musette P, Descamps V, Meyer O, Speirs C, Finzi L, et al.** The DRESS syndrome: A literature review. *Am J Med*. 2011;124:588-97. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2011.01.017>
4. **Ding WY, Lee CK, Choon SE.** Cutaneous adverse drug reactions seen in a tertiary hospital in Johor, Malaysia. *Int J Dermatol*. 2010;49:834-41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2010.04481.x>
5. **Roujeau JC, Stern RS.** Severe adverse cutaneous reactions to drugs. *N Engl J Med*. 1994;331:1272-85. <https://doi.org/10.1056/NEJM19941103311906>

6. **Nguyen DV, Chu HC, Nguyen DV, Phan MH, Craig T, Baumgart K, et al.** HLA-B*1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese. *Asia Pac Allergy*. 2015;5:68-77. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2015.5.2.68>
7. **Mugwagwa AN, Fischer R, Zailan I.** HLA-B*5801: A genetic susceptibility to allopurinol-induced DRESS. *Med J Aust*. 2016;204:159-60. <https://doi.org/10.5694/mja15.01113>
8. **Peter JG, Lehloenya R, Dlamini S, Risma K, White KD, Konvise KC, et al.** Severe delayed cutaneous and systemic reactions to drugs: A global perspective on the science and art of current practice. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5:547-63. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.01.025>

Medellín, 4 de julio de 2017

Señores
Comité Editorial
Revista Biomédica
Instituto Nacional de Salud
Bogotá, D.C.

Estimados señores:

Hemos recibido con gran agrado la comunicación enviada por los doctores Puerto y Ortiz sobre nuestro manuscrito "Síndrome de hipersensibilidad a medicamentos con exantema, eosinofilia y síntomas sistémicos inducido por carbamazepina", el cual fue publicado en el número 2 de 2017 de la revista *Biomédica*, y agradecemos su lectura minuciosa y su deseo de hacer claridad para que no se genere confusión en torno a lo expuesto en él.

En respuesta a las observaciones planteadas, tenemos los siguientes comentarios.

En cuanto al error aducido por los doctores Puerto y Ortiz en la referencia al reporte de caso publicado por Muciño-Bermejo, *et al.*, en el 2013, en el cual se afirma que la carbamazepina es el medicamento más frecuentemente relacionado con el DRESS, y la cita de la revisión sistemática de Cacoub, *et al.*, como aquella en la que originalmente se presentó la información, debemos aclarar que en nuestro artículo se hace referencia a lo publicado por los primeros (1), quienes efectivamente señalan que la carbamazepina es uno de los medicamentos más frecuentemente relacionado con la aparición del DRESS. Al revisar el artículo de Cacoub, *et al.* (2), encontramos que lo expuesto en relación con dicho medicamento concuerda con lo planteado en nuestro artículo, por lo cual no entendemos la imprecisión en los datos que se nos atribuye.

Sobre el reciente estudio en Malasia, en el cual se encontró que el alopurinol era el mayor inductor del DRESS, es preciso señalar que la publicación de Ding, *et al.* (3), es del 2010, por lo cual no es tan reciente como se quiere hacer creer. Además, en nuestro artículo los datos provienen de una revisión sistemática de la literatura, en la cual se evaluaron 172 casos de DRESS reportados entre 1997 y 2009 (2), en tanto que, en el artículo de Ding, *et al.*, se presentan los casos de un solo centro de atención terciaria en Malasia con una muestra de apenas 19 casos. Por consiguiente, consideramos que la información presentada en nuestro artículo es adecuada y de gran validez científica.

En cuanto a nuestra inclusión del alopurinol entre los medicamentos anticonvulsivos, y la aclaración de los doctores Puerto y Ortiz sobre su uso en casos de hiperuricemia y al hecho de que no tiene propiedades anticonvulsivas, al revisar encontramos que en nuestro manuscrito el alopurinol se incluyó entre los medicamentos anticonvulsivos, aunque el énfasis apuntaba al hecho de ser uno de los medicamentos más frecuentemente asociados al DRESS. De todas maneras, a continuación señalamos su uso en el tratamiento de la hiperuricemia.

Sobre la referencia a la incidencia estimada del síndrome como de 1 a 1.000 por cada 10.000 exposiciones farmacológicas, error de redacción también presente en el artículo de Muciño-Bermejo, *et al.*, que magnifica la incidencia de la condición, y la aclaración de que se trata, aproximadamente, de 1 de cada 1.000 pacientes hospitalizados, según Roujeau, *et al.*, al revisar la bibliografía pudimos constatar lo planteado por los doctores Puerto y Ortiz, y encontramos que en la publicación de Cacoub, *et al.*, se habla de un rango de 1 en 1.000 a 1 en 10.000 exposiciones farmacológicas. Dado que empleamos la publicación de Muciño-Bermejo, *et al.*, como referencia, se reprodujo dicho error de redacción que, efectivamente, genera la confusión mencionada.

Los autores de la carta señalan que nuestra afirmación sobre la asociación del alelo HLA-B*15:02 con el desarrollo del DRESS inducido por carbamazepina es errónea, ya que este alelo está asociado al síndrome de Stevens-Johnson y a la necrólisis epidérmica tóxica inducida por carbamazepina, pero no al DRESS, el cual se ha asociado con el alelo HLA-B*5801 cuando es inducido por alopurinol. Opinamos que se trata de un problema de interpretación, dado que no se está haciendo referencia específicamente al DRESS, sino a la asociación de estos alelos con el desarrollo de reacciones cutáneas, lo cual es real (4).

Por último, los doctores Puerto y Ortiz aluden a nuestra aclaración de que la imposibilidad de realizar estudios genéticos e inmunológicos en el paciente constituyó una limitación, y a su precisión sobre la baja incidencia del síndrome y el alto costo de los exámenes especializados de laboratorio, por lo cual no han sido validados para su uso rutinario en pacientes con DRESS. En este sentido, debemos señalar que la imposibilidad de realizar este tipo de estudios en nuestro medio constituye, claramente, una limitación para una mejor caracterización y seguimiento de los pacientes con DRESS.

Agradecemos de nuevo los comentarios y apreciaciones de los autores de la carta.

Cordialmente,

Jorge Alonso Marín Cárdenas
Facultad de Ciencias de la Salud, Corporación
Universitaria Remington, Medellín, Colombia

Referencias

1. **Muciño-Bermejo J, Díaz de León-Ponce M, Briones-Vega CG, Guerrero-Hernández A, Sandoval-Ayala OI, Sáenz-Coronado AG, et al.** Síndrome de DRESS. Reporte de un caso clínico. *Rev Médica Inst Mex Seguro Soc.* 2013;51:330-5.
2. **Cacoub P, Musette P, Descamps V, Meyer O, Speirs C, Finzi L, et al.** The DRESS syndrome: A literature review. *Am J Med.* 2011;124:588-97. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2011.01.017>
3. **Ding WY, Lee CK, Choon SE.** Cutaneous adverse drug reactions seen in a tertiary hospital in Johor, Malaysia. *Int J Dermatol.* 2010;49:834-41. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2010.04481.x>
4. **Nguyen DV, Chu HC, Nguyen DV, Phan MH, Craig T, Baumgart K, et al.** HLA-B*1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese. *Asia Pac Allergy.* 2015;5:68-77. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2015.5.2.68>

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 galeradas 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. Paracoccidioidomycosis. 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 paracoccidioidomycosis. UpToDate. 2012. Citation date: October 15, 2012. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-acute-subacute-paracoccidioidomycosis>.

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.