

I-ISSN 2590-7379 (En línea)

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 38, No. 2 - Junio de 2018

Bogotá, D.C., Colombia, S.A.



**Portada:** Corte transversal de la médula espinal de un ratón treinta y dos horas después de haber sido inoculado con el virus de la rabia en los músculos isquiotibiales. En el asta ventral se observa una neurona motora inmunorreactiva al virus, 10X.

Gerardo Santamaría

Grupo de Morfología Celular, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D. C., Colombia

# Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 38, No. 2 - Bogotá, D.C., Colombia - Junio de 2018

---

## 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  
Ibague, 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 Seriadas Científicas y Tecnológicas Colombianas* de Colciencias y del *Índice Latinoamericano de Revistas Científicas y Tecnológicas (LATINDEX)*.

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

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

## Contenido

### Editorial

Economía de la salud y salud pública: situación global y perspectivas locales <i>Omar Segura</i> .....	141
---	-----

### Presentación de caso

Toxoplasmosis cerebral congénita e infección por el virus del Zika y del chikunguña: reporte de un caso <i>María Luz Gunturiz, Liliana Cortés, Ester Liliana Cuevas, Pablo Enrique Chaparro, Martha Lucía Ospina</i> .....	144
---	-----

Serie de casos de lepra neural pura en pacientes diagnosticados en un centro especializado en el control de la enfermedad de Hansen en Colombia <i>Héctor Serrano-Coll, Olinto Mieleles, Calixto Escorcía, Amparo Díaz, Camilo Beltrán, Nora Cardona-Castro</i> .....	153
--	-----

### Ensayo

Desafíos del análisis de la situación de salud en Colombia <i>Carlos Enrique Yepes, Yuly Andrea Marín</i> .....	162
--	-----

### Artículo original

Reporte estadístico en los análisis de regresión en <i>Biomédica</i> : una revisión y evaluación crítica <i>Julián Alfredo Fernández-Niño, Rosa Ivonne Hernández-Montes, Laura Andrea Rodríguez-Villamizar</i> .....	173
---	-----

Tuberculosis y comorbilidades en áreas urbanas de Argentina. Una perspectiva de edad y sexo <i>Alberto Echazarreta (*), Elsa Zerbini, José De Sandro, César Sáenz, Leila Yessi, Romina Saad, Gabriela Manonelles, Mónica Cuello</i> .....	180
--	-----

Desarrollo y viabilidad de huevos de <i>Toxocara canis</i> <i>Iman Fathy Abou-El-Naga</i> .....	189
--	-----

Mortalidad por enfermedades huérfanas en Colombia, 2008-2013 <i>Julio César Martínez, Sandra Patricia Misnaza</i> .....	198
--	-----

Evidencia neuroanatómica del transporte del virus de la rabia por la vía propioespinal de la médula espinal de ratones <i>Gerardo Santamaría, Jeison Monroy-Gómez, Orlando Torres-Fernández</i> .....	209
--	-----

Identificación etiológica de agentes virales de la encefalitis aguda en Guadalajara, México, 2011-2015 <i>Mayra L. Lúa, Arturo Plascencia, Patricia Paredes, Yaxsier de Armas, Miguel Raygoza, Erika Martínez, Fernando Siller, Iván Isidro Hernández</i> .....	216
--	-----

Niveles de actividad física, calidad de vida relacionada con la salud, autoconcepto físico e índice de masa corporal: un estudio en escolares colombianos <i>Constanza Palomino-Devia, Felipe Augusto Reyes-Oyola, Antonio Sánchez-Oliver</i> .....	224
--	-----

IgY antialérgenos específicos del grupo 1 de ácaros del polvo doméstico inducidos por oligopéptidos sintéticos no glicosilados <i>Eduardo Egea, Dary Mendoza, Gloria Garavito, Ángela Espejo, Lina María Lizaraso, Elkin Navarro, Luis Alejandro Barrera</i> .....	232
---	-----

Comparación entre metodologías para el diagnóstico microscópico de malaria <i>Liliana Jazmín Cortés, Lyda Muñoz, Martha Stella Ayala</i> ....	244
--	-----

Efectividad de las intervenciones para la transferencia y apropiación social del conocimiento de las guías de práctica clínica para pacientes y comunidad, una revisión sistemática <i>Nathaly Garzón-Orjuela, Javier Eslava-Schmalbach, Nathalie Ospina</i> .....	253
---	-----

Variabilidad genética de <i>Aedes aegypti</i> en el departamento de Sucre, Colombia, mediante el análisis de la secuencia de nucleótidos del gen mitocondrial <i>ND4</i> <i>María Claudia Atencia, María de Jesús Pérez, Sandy Milena Caldera, María Cristina Jaramillo, Eduar Elías Bejarano</i> .....	267
--	-----

### Comunicación breve

Primer registro del flebotomíneo <i>Warileya (Hertigia) hertigi</i> en Antioquia, Colombia <i>Eduar Elías Bejarano, Rafael José Vivero, Sandra Uribe</i> .....	277
---	-----

Desempeño de métodos moleculares para la identificación de subtipos poco comunes del virus de la hepatitis C, genotipo 2 <i>Pierina D'Angelo, Rossana Celeste Jaspe, Carmen Luisa Loureiro, Cristina Gutiérrez, María Zulay Sulbarán, Yoneira Sulbarán, Félix Toro, Flor Helene Pujol</i> .....	282
--	-----

Retractación .....	289
--------------------	-----

Instrucciones a los autores

# Contents

## Editorial

Health economics and public health: Global situation and local perspectives <i>Omar Segura</i> .....	141
--	-----

## Case presentation

Congenital cerebral toxoplasmosis, Zika and chikungunya virus infections: A case report <i>María Luz Gunturiz, Liliana Cortés, Ester Liliana Cuevas, Pablo Enrique Chaparro, Martha Lucía Ospina</i> .....	144
--	-----

A case series of pure neural leprosy in patients diagnosed in a specialized center for the control of Hansen's disease in Colombia <i>Héctor Serrano-Coll, Olinto Mieles, Calixto Escorcía, Amparo Díaz, Camilo Beltrán, Nora Cardona-Castro</i> .....	153
---	-----

## Essay

The challenges of health situation analysis in Colombia <i>Carlos Enrique Yepes, Yuly Andrea Marín</i> .....	162
---	-----

## Original articles

Reporting of statistical regression analyses in <i>Biomédica</i> : A critical assessment review <i>Julián Alfredo Fernández-Niño, Rosa Ivonne Hernández- Montes, Laura Andrea Rodríguez-Villamizar</i> .....	173
--	-----

Tuberculosis and comorbidities in urban areas in Argentina. A gender and age perspective <i>Alberto Echazarreta (†), Elsa Zerbini, José De Sandro, César Sáenz, Leila Yessi, Romina Saad, Gabriela Manonelles, Mónica Cuello</i> .....	180
--	-----

Developmental stages and viability of <i>Toxocara canis</i> eggs outside the host <i>Iman Fathy Abou-El-Naga</i> .....	189
--	-----

Rare diseases mortality in Colombia, 2008-2013 <i>Julio César Martínez, Sandra Patricia Misnaza</i> .....	198
--	-----

Neuroanatomical evidence of the transport of the rabies virus through the propriospinal tract in the spinal cord of mice <i>Gerardo Santamaría, Jeison Monroy-Gómez, Orlando Torres-Fernández</i> .....	209
--	-----

Etiological identification of viral agents in acute encephalitis in Guadalajara, México, 2011-2015 <i>Mayra L. Lúa, Arturo Plascencia, Patricia Paredes, Yaxsier de Armas, Miguel Raygoza, Erika Martínez, Fernando Siller, Iván Isidro Hernández</i> .....	216
---	-----

Levels of physical activity, health-related quality of life, physical self-concept and body-mass index among Colombian students <i>Constanza Palomino-Devia, Felipe Augusto Reyes-Oyola, Antonio Sánchez-Oliver</i> .....	224
--	-----

Specific IgY anti-group 1 dust mite allergens induced by unglycosylated synthetic oligopeptides <i>Eduardo Egea, Dary Mendoza, Gloria Garavito, Ángela Espejo, Lina María Lizaraso, Elkin Navarro, Luis Alejandro Barrera</i> .....	232
---	-----

Comparison of methodologies for microscopic malaria diagnosis <i>Liliana Jazmin Cortés, Lyda Muñoz, Martha Stella Ayala</i> ....	244
--	-----

Effectiveness of knowledge translation and knowledge appropriation of clinical practice guidelines for patients and communities, a systematic review <i>Nathaly Garzón-Orjuela, Javier Eslava-Schmalbach, Nathalie Ospina</i> .....	253
--	-----

Genetic variability of <i>Aedes aegypti</i> in the department of Sucre, Colombia, by analysis of the nucleotide sequence of the mitochondrial <i>ND4</i> gene <i>María Claudia Atencia, María de Jesús Pérez, Sandy Milena Caldera, María Cristina Jaramillo, Eduar Elías Bejarano</i> .....	267
---	-----

## Brief communication

First record of the sand fly <i>Warileya (Hertigia)</i> <i>hertigi</i> from Antioquia, Colombia <i>Eduar Elías Bejarano, Rafael José Vivero, Sandra Uribe</i> .....	277
---	-----

Performance of molecular methods for identification of unusual subtypes of hepatitis C virus genotype 2 <i>Pierina D'Angelo, Rossana Celeste Jaspe, Carmen Luisa Loureiro, Cristina Gutiérrez, María Zulay Sulbarán, Yoneira Sulbarán, Félix Toro, Flor Helene Pujol</i> .....	282
--	-----

Retraction .....	289
------------------	-----

Instructions for authors

## Editorial

### **Economía de la salud y salud pública: situación global y perspectivas locales**

En esta década la sociedad en general, y los sistemas de salud en particular, se han visto sometidos a enormes presiones financieras, contables y económicas, lo que equivale a saber con qué recursos se cuenta, de qué tipo son y cómo se los administra. Asimismo, los conceptos propios de los diferentes campos científicos se han puesto a prueba e, incluso, han cambiado: por ejemplo, la epidemiología, usualmente relacionada con la *causalidad, riesgo o promoción y prevención* ha pasado a abordar también el estudio de las desigualdades en salud (1); la economía, pensada en función de la *inversión, los costos y los gastos o comportamientos*, ha pasado a adoptar una posición mucho más crítica y de interacción interdisciplinaria para explicar la dinámica y las relaciones entre el sistema económico, el entorno y las instituciones (2,3), en tanto que la salud pública está pasando de ser un campo de saberes y prácticas, que aborda la promoción y la protección de la salud y el bienestar de las poblaciones, a explorar e integrar nociones sociales y políticas mucho más allá de lo estrictamente médico (4, 5).

En varios países, principalmente de la Mancomunidad de Naciones, hay una corriente de convergencia en dos sentidos: el uno, en el cual la salud pública se está integrando a otras funciones y servicios públicos como la educación, el planeamiento, la vivienda o la justicia, y el otro, en el cual las acciones derivadas de dichos servicios están cambiando de una escala pública y nacional a una local y privada. Ello apunta a lograr que los proveedores de servicios de salud se fijen objetivos en favor de sus respectivas comunidades (6,7).

El factor común es alcanzar la sostenibilidad financiera, cambiando la mentalidad de presupuesto (*budget*) por otra de valor por dinero (*value for money*), concepto este que el ciudadano común entiende como la relación calidad-precio, lo cual le ahorra el esfuerzo de comprender a cabalidad la complejidad de la adopción de decisiones sobre la calidad de los materiales que se usan o deben usarse, o el beneficio de los servicios prestados o que se reciben (6, 8).

En este sentido, el marco habitual es la llamada evaluación de tecnologías en salud (*Health Technology Assessment*), cuya unidad de medida suele ser el resultado expresado en años de vida ajustados por la calidad (AVAC) y cuyo objetivo es lograr la mejor salud posible frente a las limitaciones presupuestales. Esta aproximación, habitual en la actual medicina basada en la evidencia, no está exenta de críticas debido a su estructura matemáticamente inflexible, pues resulta de fórmulas, a su carácter reductor de la realidad, que limita la capacidad de maniobra de los responsables de las decisiones en salud, y a la incertidumbre resultante de su aplicación en entornos que impliquen inequidad, en contextos de vulnerabilidad o cuando se trata de proyecciones sociales (6,8).

De hecho, el enfoque económico, en particular el neoliberal, busca estudiar a los individuos en función de sus intereses y preferencias y se orienta a determinar y tasar ingresos y egresos buscando un equilibrio o una suma igual a cero, en contraposición con la aproximación pensada desde la salud pública, la cual es fiel a su propia tradición histórica y operativa que busca entender por qué o cómo funcionan sus intervenciones. Hoy la economía de la salud y la salud pública comparten, por lo menos, dos propósitos comunes: alcanzar el bienestar de la población en un contexto organizado y secuencial, en otras palabras, una acción sustentada en la *teoría del bienestar y la teoría de sistemas* (2,8). Esto se expresa, de forma ideal, como seguridad y oportunidad en la niñez, un futuro para la gente joven, una economía local fuerte y una comunidad en expansión con una población saludable y feliz a lo largo de todo el curso de su vida. Para países de ingresos bajos o medios como Colombia, en la práctica persisten muchos pendientes, lo cual equivale a desnutrición, mortalidad materna e infantil, enfermedades de transmisión vectorial, enfermedad cardíaca isquémica, cáncer, diabetes, demencia senil, sin olvidar la violencia, el narcotráfico, la corrupción...

Dado que aún falta mucho por recorrer en el camino de las soluciones, surge la necesidad de que, desde un punto de vista teórico y metodológico, ambos campos científicos logren incorporar la noción de sociedad como un sistema complejo, de componentes independientes e interdependientes y circunstancias de efecto multiplicador y desenlaces dispares. Acciones aparentemente simples, como cultivar la tierra, lavarse las manos, manejar excretas o nutrirse, pueden contribuir a la salud en la medida en que trasciendan al individuo y entran en un contexto colectivo con ramificaciones educativas, empresariales y comerciales o sociales, el cual puede controlarse con la ayuda de la inteligencia artificial y desembocar en decisiones humanas sustentadas en la acumulación, la sistematización y el procesamiento del conocimiento disponible sobre intervenciones en salud ya intentadas y que han sido exitosas en mayor o menor grado según su momento de aplicación, su alcance e implicaciones, su valor agregado y el tiempo requerido para aplicarlas. En una palabra, su *impacto* sobre un colectivo.

La noción de *colectivo* no es nueva, nos ha acompañado desde tiempos inmemoriales, pues se desprende de la forma en que los seres humanos se conocen, interactúan, viajan o migran (9). Pero hay varias cosas que sí han cambiado a lo largo del tiempo: el lente o la postura desde la cual se estudia una situación, bien sea individual, colectiva o una que incorpore ambas; el número de campos de conocimiento involucrados en su comprensión e investigación y, sobre todo, la velocidad de los cambios sociales, educativos, culturales, económicos, políticos y ambientales derivados, precisamente, de esas actividades humanas. En otras palabras, un cambio en dichas condiciones que incida en el impacto de toda intervención propuesta para alcanzar el bienestar colectivo, y en el cual convergerían y entrarían en interacción las matemáticas, la lógica, la ecología, la biología, la epidemiología, el derecho, la economía y la demografía, entre otras ciencias exactas, naturales y sociales. Todo ello con el fin de enfrentar el caso individual o el brote comunitario y analizar el manejo o la mejor estrategia frente a eventos de interés o problemas de salud pública (2,10).

Para los países de ingresos bajos y medios, las perspectivas y los desafíos locales radican en asuntos ya conocidos: la pobreza, la desigualdad, la violencia y la guerra, el cambio climático, la necesidad de una urbanización saludable, el acceso al agua y a alimentos seguros, la salud mental, el estudio y control de enfermedades crónicas no transmisibles y la estabilidad de los sistemas de salud (9). Son asuntos ya conocidos y han sido investigados en mayor o menor medida, pero hoy se requiere un enfoque y una postura distintos, que involucren teorías como la de la complejidad, y aspectos prácticos como un mayor uso de energías renovables, una educación de base más amplia, más y mejores vías y canales de comunicación, y una recuperación del tejido social que pase por una reconstrucción de la confianza y del empoderamiento del colectivo. Sobre todo, debe ser un proceso local con una fuerte inversión en investigación y tecnología, pues es un asunto probado que el conocimiento generado en otras latitudes no siempre encaja bien con la idiosincrasia y los problemas locales si se quiere entenderlos desde una posición de impacto y una mirada colectiva.

Para un investigador local, las preguntas pueden girar alrededor de asuntos como cuál es la adecuada combinación de acciones en salud pública en una comunidad basadas *tanto en la evidencia como en la experiencia y la vivencia*; cuáles son los profesionales y técnicos, los recursos y las organizaciones requeridas para implementar intervenciones colectivas con impacto; cómo las prácticas en salud pública inciden en las necesidades de los servicios de salud; qué mecanismos financieros y económicos son más efectivos en un contexto de salud pública, o qué procesos y herramientas de adopción de decisiones ayudarían mejor al colectivo a alcanzar un mayor impacto de las intervenciones empleadas (7,11).

En suma, para que la economía de la salud sea una herramienta eficaz y la salud pública sea mejor a largo plazo, se requieren interdisciplinariedad, comprensión de la complejidad, mayor conciencia y atención gubernamentales, así como educación y entrenamiento específicos para investigadores, profesionales y técnicos en salud, y empoderamiento del colectivo frente a su propio bienestar. Eso también es construir Nación y Estado, de los cuales somos parte.

Omar Segura  
Asesor científico, Unidad de Investigaciones  
Segura, Morón & Castañeda Asesores en Salud Ltda.

## Referencias

1. **Mielck A.** Social epidemiology and health economics: The need to find common grounds. *Eur J Public Health.* 2013;23:2. <https://doi.org/10.1093/eurpub/cks157>
2. **Segura O.** Epidemiología social y economía política: la UCI como punto de encuentro. *IATREIA.* 2016;29:470-7. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v29n4a08>
3. **Matjasko JL, Cawley JH, Baker-Goering MM, Yokum DV.** Applying behavioral economics to public health policy: Illustrative examples and promising directions. *Am J Prev Med.* 2016;50(5 Suppl 1):S13-s9. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2016.02.007>
4. **López-Arellano O.** Salud colectiva y salud pública, ¿se está hablando de lo mismo? En: Morales-Borrero MC, editores. *Salud colectiva y salud pública: ¿se está hablando de lo mismo?* Primera edición. Bogotá, D.C.: Universidad Nacional de Colombia; 2016. p. 15-30.
5. **Morales-Borrero MC, Rocha A.** Debate entre salud colectiva y salud pública. En: Morales-Borrero MC, editores. *Salud colectiva y salud pública: ¿se está hablando de lo mismo?* Primera edición. Bogotá, D.C.: Universidad Nacional de Colombia; 2016. p. 31-44.
6. **Frew E.** Aligning health economics methods to fit with the changing world of public health. *Appl Health Econ Health Policy.* 2017;15:287-9. <https://doi.org/10.1007/s40258-017-0319-9>
7. **Teutsch SM, Fielding J.** Economics and local public health departments. *Am J Prev Med.* 2016;50(5 Suppl 1):S81-s3. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2015.10.011>
8. **Ismail N.** Why is it difficult to evaluate the effectiveness and cost-effectiveness of complex public health interventions in the community? A health economics perspective. *Perspect Public Health.* 2017;137:206-7. <https://doi.org/10.1177/1757913917705591>
9. **Narayan KMV.** Public health challenges for the 21st century: Convergence of demography, economics, environment and biology: Nalanda distinguished lecture. *Natl Med J India.* 2017;30:219-23. <https://doi.org/10.4103/0970-258x.218678>
10. **Segura O.** Programa de entrenamiento en epidemiología de campo (FETP) en Colombia – Servicio de Epidemiología Aplicada (SEA): hacia el decenio 2010-2020. *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2008;13:223-31.
11. **Mays GP, Atherly AJ, Zaslavsky AM.** The economics of public health: Missing pieces to the puzzle of health system reform. *Health Serv Res.* 2017;52 (Suppl. 2):2275-84. <https://doi.org/10.1111/1475-6773.12782>

## PRESENTACIÓN DE CASO

# Toxoplasmosis cerebral congénita e infección por el virus del Zika y del chikunguña: reporte de un caso

María Luz Gunturiz<sup>1</sup>, Liliana Cortés<sup>2</sup>, Ester Liliana Cuevas<sup>3</sup>,  
Pablo Enrique Chaparro<sup>4</sup>, Martha Lucía Ospina<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Equipo Banco de Proyectos, Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Parasitología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Equipo Maternidad Segura, Dirección de Vigilancia y Análisis de Riesgo en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Dirección General, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

En este artículo se describe el caso clínico de una mujer colombiana del sur del país con diagnóstico de infección intrauterina por *Toxoplasma gondii* y por los virus del chikungunya y del Zika. La mujer acudió al control prenatal en el segundo trimestre de su embarazo e informó que durante el primer trimestre había presentado síntomas indicativos de infección por el virus del Zika. Mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en líquido amniótico, se demostró infección por *Toxoplasma gondii* así como por los virus del chikungunya y del Zika. En las imágenes diagnósticas se observaron malformaciones del sistema nervioso central en el feto. A las 29 semanas de gestación se dio por terminado el embarazo mediante procedimiento médico.

**Palabras clave:** toxoplasmosis congénita; virus Zika; virus chikungunya; anomalías congénitas; infección; cerebro.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3652>

### Congenital cerebral toxoplasmosis, Zika and chikungunya virus infections: A case report

We report a case of intrauterine infection by *Toxoplasma gondii*, Chikungunya and Zika viruses in a Colombian woman from the southern part of the country. The patient attended prenatal care in the second trimester of her pregnancy and she informed that in the first trimester she had presented with clinical symptoms compatible with Zika virus infection. Amniotic fluid PCR assays showed infection by *T. gondii*, chikungunya and Zika viruses. Diagnostic imaging showed fetal malformation of the central nervous system. At 29 weeks of gestation, pregnancy was terminated medically.

**Key words:** Toxoplasmosis, congenital; Zika virus; Chikungunya virus; congenital abnormalities; infection; cerebrum.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3652>

Diversas malformaciones congénitas cerebrales se derivan de una embriogénesis anormal o de procesos disruptivos (1) que pueden ser causados por

agentes infecciosos (*Toxoplasma* spp., virus de la rubéola, del herpes simple, de la coriomeningitis linfocítica, de la varicela zóster, el parvovirus B19, el citomegalovirus y el echovirus, y *Treponema pallidum*), así como por radiación, consumo de alcohol, ingestión de medicamentos y factores genéticos, entre otros.

En Colombia, la infección por *Toxoplasma gondii* representa un problema de salud pública durante la gestación, al cual se han sumado recientemente

#### Correspondencia:

Pablo Enrique Chaparro, Dirección de Investigación en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Avenida Calle 26 N° 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1107  
pchaparro@ins.gov.co

Recibido: 20/10/16; aceptado: 31/05/17

#### Contribución de los autores:

María Luz Gunturiz: experimentos para la detección de *Toxoplasma*, Zika y chikunguña, y extracción y secuenciación de ácidos nucleicos

Liliana Cortés: ensayos para la detección de *Toxoplasma*

Ester Liliana Cuevas: revisión y análisis de la historia clínica

Pablo Enrique Chaparro: revisión y análisis de resultados y de la historia clínica

Martha Lucía Ospina: revisión y análisis de resultados

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

las infecciones debidas a flavivirus, específicamente los virus del chikungunya (CHIKV) y del Zika (ZIKV), cuyo posible efecto congénito a nivel cerebral se ha venido estudiando.

En Suramérica, incluido nuestro país, se han descrito formas de infección por *T. gondii* más graves que las reportadas en otros continentes, lo que se explica por una mayor circulación de cepas atípicas con alelos de virulencia que interfieren con la reacción inmunitaria de protección (2-4).

Se conocen tres linajes clonales (I a III) y diversas cepas atípicas (5) de *T. gondii*, coccidio tisular intracelular obligado, de distribución cosmopolita, del filo Apicomplexa (5), que infectan de manera crónica a una tercera parte de la población mundial y a un gran número de mamíferos terrestres y acuáticos, así como a aves.

Cuando el parásito se adquiere durante la gestación, la madre lo transmite al feto y se presenta la toxoplasmosis congénita. La probabilidad de presentar esta infección varía según el momento en que la mujer embarazada se infecta. Si sucede durante las dos primeras semanas de gestación, la probabilidad es muy baja, pero aumenta a medida que avanza la gravidez (6). La gravedad del daño en el feto depende del trimestre del embarazo en que la infección se transmite (7). En menos del 10 % de los casos, los parásitos se transmiten durante el primer trimestre del embarazo, alrededor del 30 %, en el segundo trimestre, y del 60 a 70 %, en el tercer trimestre (8). Cuando la infección ocurre en el último trimestre, el 80 % de los recién nacidos son asintomáticos (9), pero si se da en el primer trimestre, las consecuencias son graves para el desarrollo fetal, pues produce anomalías e, incluso, el aborto. Entre los daños más serios que puede producir, figuran la hidrocefalia, el retardo mental, las convulsiones, la microcefalia, la sordera, el déficit psicomotor y la coriorretinitis (10).

En el 2013, se calculó que la incidencia anual de la toxoplasmosis congénita a nivel mundial era de 190.100 casos (IC<sub>95%</sub> 179.300-206.300), lo que equivalía a una carga de 1,20 millones de años de vida con discapacidad (IC<sub>95%</sub> 0,76-1,90). En Suramérica y en algunos países de Oriente Medio, así como en países de bajos ingresos, se ha observado una carga elevada de la infección (11).

La fiebre del chikungunya es una enfermedad causada por el CHIKV, un virus perteneciente al género *Alphavirus* de la familia *Togaviridae*, transmitido por la picadura de mosquitos *Aedes*

infectados, principalmente *A. aegypti* (12). Entre las manifestaciones neonatales del CHIKV se cuentan las anomalías del sistema nervioso central (13-16). La encefalopatía que produce se ha asociado con edema cerebral y presencia del genoma viral en el líquido cefalorraquídeo (13,14). Sin embargo, también se ha constatado que, en mujeres con signos de infección por CHIKV durante el embarazo, la infección intrauterina se presentó de forma excepcional y que sus hijos nacieron aparentemente sanos (14-17).

La enfermedad debida al Zika es causada por el ZIKV, virus perteneciente al género *Flavivirus* de la familia *Flaviviridae*, grupo IV del orden sin clasificar, muy cercano filogenéticamente a virus como los del dengue, la fiebre amarilla, la encefalitis japonesa y el del Nilo occidental. El ZIKV es transmitido a los humanos por la picadura de mosquitos *Aedes* infectados, principalmente *A. africanus*, *A. luciocephalus*, *A. aegypti*, *A. apicoargenteus*, *A. furcifer*, *Aedes I.* y *A. vitattus*. Se ha informado que el síndrome congénito asociado con la infección por ZIKV produce malformaciones cerebrales, disfunción del tronco cerebral y microcefalia (18,19). A pesar de que se ha detectado el ARN del ZIKV en la placenta y el líquido amniótico, así como en restos fetales y en cerebros de niños fallecidos con microcefalia en quienes se ha confirmado la transmisión vertical, no existen pruebas suficientes para determinar la causalidad (20). Hasta el 30 de junio de 2016, se habían notificado en Brasil 1.638 casos confirmados de síndrome congénito asociado con la infección por el ZIKV, 11 en Colombia, 12 en Estados Unidos, uno en El Salvador, uno en Guayana Francesa, uno en Martinica, uno en Panamá y otro en Puerto Rico (21).

Se presenta aquí un caso de transmisión vertical de *T. gondii*, CHIKV y ZIKV durante el segundo trimestre del embarazo de una mujer que probablemente se infectó en el suroccidente de Colombia en el 2015.

### Reporte de caso

A finales de enero del 2016, una mujer embarazada de 18 años de edad acudió a un servicio de salud del municipio de Popayán y solicitó la interrupción voluntaria del embarazo debido a que se había detectado una anomalía congénita en el feto.

La mujer, ama de casa, cabeza de familia, afrodescendiente, desplazada, y con un nivel educativo de secundaria incompleta, vivía en el área urbana de El Bordo, cabecera municipal del municipio de

Patía en el departamento del Cauca, Colombia. Se abastecía de agua no potable que almacenaba en la vivienda que habitaba.

El Bordo ha sido una zona endémica para dengue y CHIKV, y en el último trimestre del 2015, cuando se presentó este caso, ya circulaba el ZIKV, por lo que las autoridades sanitarias emitieron la alerta epidemiológica correspondiente.

El 30 de diciembre del 2015, la mujer asistió a su primera y única consulta prenatal en El Bordo. No recordaba la fecha de la última menstruación y en ese momento se determinó por ultrasonografía una edad de gestación de 25,4 semanas. En noviembre del 2015, presentó sintomatología de infección por ZIKV.

En la ultrasonografía realizada en la semana 23 de gestación, se observaron áreas ecogénicas densas en el parénquima cerebral periventricular del feto, con un índice de líquido amniótico normal y un hematoma extraplacentario. En la ultrasonografía de la semana 28 de gestación (18 de enero de 2016), se vio un crecimiento fetal asimétrico y disarmónico (percentil 22 para el peso fetal) y pérdida de tejido en la región fronto-parieto-temporal, ausencia de línea media a nivel frontal, presencia de tálamos y pedúnculos cerebrales con fenómeno disruptivo, medidas craneanas por debajo del segundo percentil para la edad gestacional (microcefalia), con placenta implantada en el fondo uterino e índice de líquido amniótico normal.

El mismo 18 de enero, se practicó amniocentesis ante un probable trastorno de la migración neuronal. El 21 de enero de 2016 se reportaron los resultados para toxoplasma (IgG positiva, IgM negativa), rubéola (IgG positiva, IgM negativa) y HIV (prueba de Elisa negativa). En el hemoleucograma de esa fecha, se reportaron 7,67 leucocitos por 10 ml, 70,7 % de neutrófilos, 21,0 % de linfocitos, y hemoglobina de 11,9 g/dl. No había registro de pruebas para toxoplasma antes del embarazo.

Dadas las anomalías fetales cerebrales, la madre solicitó la interrupción voluntaria del embarazo, la cual está autorizada en Colombia en los términos de la sentencia C-355 de 2006 de la Corte Constitucional (22). El embarazo se dio por terminado a las 29 semanas de gestación mediante intervención médica.

El feto presentaba una cabeza pequeña en relación con el resto del cuerpo (microcráneo). Se le practicó ultrasonografía diagnóstica cerebral transfontanelar, en la cual se evidenció malformación del sistema nervioso central, defecto disruptivo, cráneo

pequeño con relación al tamaño de la cara, fontanela anterior reducida, ausencia total del hemisferio cerebral izquierdo, pequeño remanente cortical occipital en el hemisferio derecho, y aumento anormal del hemisferio derecho con el ventrículo lateral comunicado con el espacio subaracnoideo periférico; no se observó hoz cerebral.

También, se hizo una tomografía axial computarizada en la que se observó una gran atrofia de ambos hemisferios cerebrales y disminución importante de su volumen; se logró apreciar, asimismo, algo de sustancia blanca con múltiples calcificaciones a su alrededor, y grandes higromas quísticos que ocupaban la mayoría de la bóveda craneana (figura 1).

### Materiales y métodos

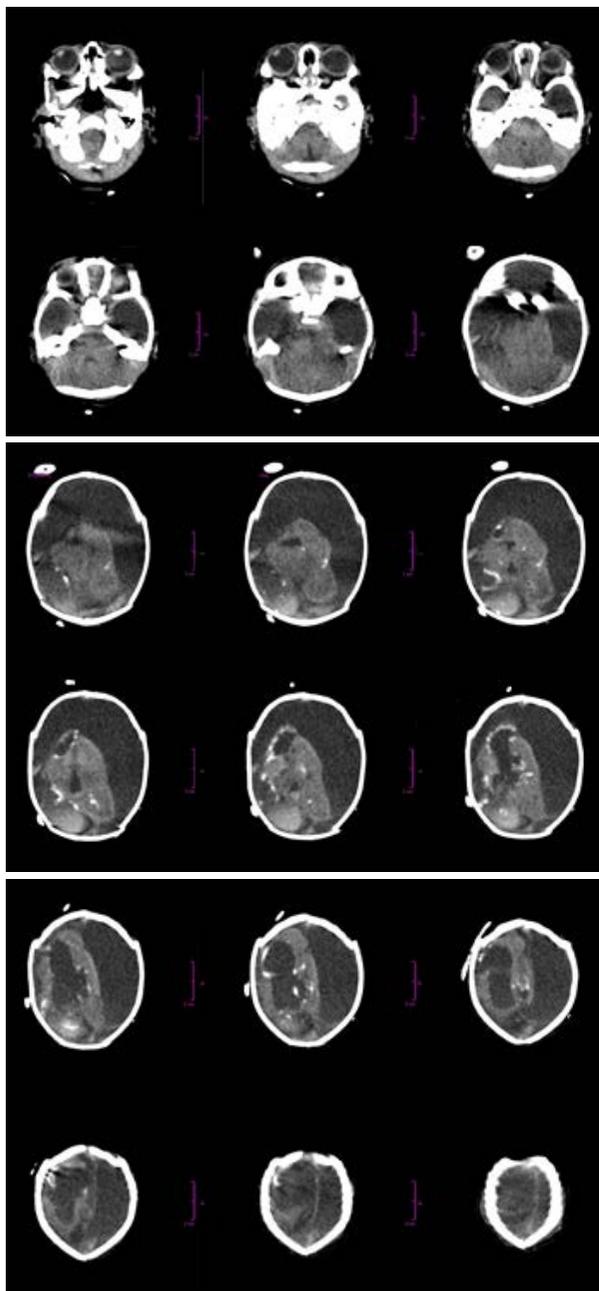
Mediante la extracción de ADN genómico a partir de una alícuota de líquido amniótico empleando el estuche comercial PureLink Genomic DNA™ (Invitrogen) se confirmó la presencia de los microorganismos en el Instituto Nacional de Salud.

Asimismo, mediante PCR estandarizada se amplificó un fragmento del gen *B1* de *T. gondii* (132 pb) utilizando los iniciadores B1-F 5'-TCTCTCAAGG AGGACTGGCA-3' y B1-R 5'-GTTTCACCCGGA CCGTTTAG-3, y las siguientes condiciones de amplificación: desnaturalización a 94 °C durante cinco minutos; 40 ciclos a 94 °C durante un minuto, a 60 °C durante un minuto, a 72 °C durante un minuto, y una extensión final a 72 °C durante cinco minutos. Como control positivo, se empleó una cepa de referencia y, como controles negativos, un control de extracción (no se reporta) y agua libre de nucleasas en reemplazo del ADN (figura 2, carril 3).

La identidad de los productos amplificados se verificó mediante secuenciación de ácidos nucleicos con el método de Sanger en el analizador genético ABI Prism 310™ (Perkin Elmer). La calidad de las secuencias obtenidas se evaluó mediante el índice de Phred y su comparación se hizo con la herramienta BLASTn™ (*nucleotide BLAST*) del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). La extracción de ARN y la síntesis del ADNc se hicieron a partir de la misma muestra de líquido amniótico mediante PCR, para amplificar fragmentos del gen de la poliproteína del ZIKV (79 pb) y del CHIKV (100 pb).

### Resultados

Los productos amplificados y la secuencia obtenida para el gen *B1* de *T. gondii* fueron positivos (figura 2), como se evidenció en la electroforesis en gel



**Figura 1.** Cortes axiales de tomografía axial computadorizada craneal. Se observa una gran atrofia de ambos hemisferios cerebrales, con importante disminución de su volumen, el cual aparece reducido a pequeñas áreas en las cuales se logró apreciar algo de sustancia blanca con múltiples calcificaciones a su alrededor y desarrollo de grandes higromas quísticos que ocupaban la mayoría de la bóveda craneana.

de agarosa al 1,8 % y la secuenciación de ácidos nucleicos realizada a partir de los productos amplificados purificados con el estuche Ilustra GFX PCR ADN and Gel Band Purification™ (GE Healthcare), según las indicaciones del fabricante. La calidad

de las secuencias se verificó mediante el índice de Phred (<http://genoma.unsam.edu.ar/trac/docencia/wiki/Bioinformatica/Guias/PhredPhrapConsed>), con lo cual se eliminó la región inicial de la secuencia con baja calidad, se identificaron todas las bases de la secuencia y su posición, y se revisaron los valores de calidad (99, en general), como puede observarse en los electroferogramas (figura 2C).

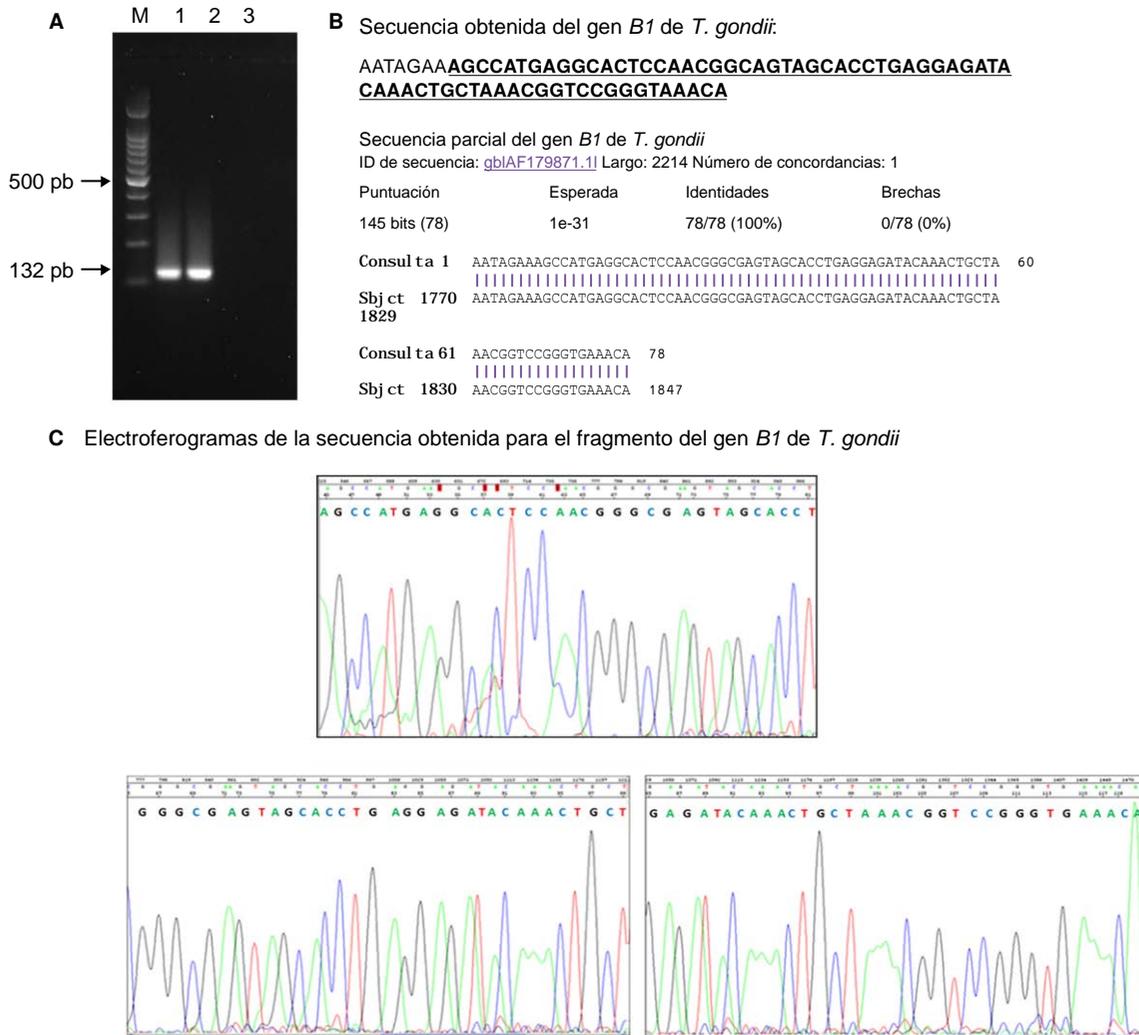
Los resultados de la extracción del ARN, la síntesis del ADNc y la amplificación de fragmentos del gen de la poliproteína del ZIKV (79 pb) y la del CHIKV (100 pb) mediante PCR en la muestra de líquido amniótico, fueron positivos. Dichos resultados se confirmaron mediante secuenciación de ácidos nucleicos (figura 3), en tanto que la identidad de la secuencia se confirmó mediante la comparación de las secuencias obtenidas con la herramienta BLASTn del NCBI, la cual evidenció una homología de 100 % para los fragmentos de las secuencias de los virus del Zika y el chikungunya.

### Discusión

En el caso reportado se encontraron anomalías congénitas cerebrales e infecciones debidas a *T. gondii*, CHIKV y ZIKV por transmisión vertical.

En 1982, la prevalencia de la toxoplasmosis en la población general colombiana era de 47 % y, en la región del Pacífico, llegaba a 36 % (23); aunque son pocas las investigaciones sobre toxoplasma congénito hechas en el país, en el 2002 se estimaba que las tasas en recién nacidos oscilaban entre 3 y 15 por mil (24). Por otra parte, se ha reportado la circulación simultánea del CHIKV y el ZIKV en Nicaragua, Ecuador, Brasil y Colombia (25-28). Específicamente en Nicaragua, un estudio serológico encontró que la infección simultánea se presentaba en el 4,6 % de las personas (25). Sin embargo, hasta el momento no se ha descrito la infección concomitante por toxoplasma, ZIKV y CHIKV, y se desconoce la interacción de estos microorganismos en el desarrollo de defectos congénitos.

El diagnóstico diferencial del defecto congénito cerebral no es fácil. Sus causas son múltiples y su definición se basa en argumentos clínicos que se complementan con una serie de pruebas de laboratorio. En el caso que se presenta, el diagnóstico prenatal de las anomalías congénitas cerebrales se hizo con base en los hallazgos de las imágenes de ultrasonido, pero el examen posterior del líquido amniótico evidenció la infección por *Toxoplasma*, CHIKV y ZIKV.

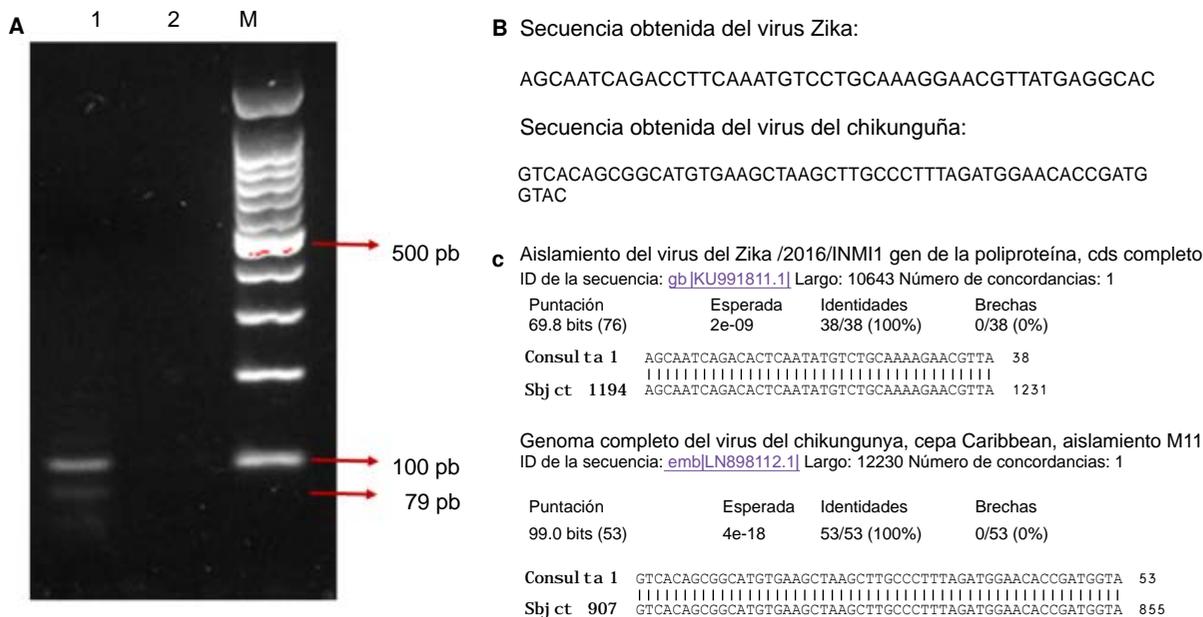


**Figura 2.** Detección de *Toxoplasma gondii*. **A.** Electroforesis en gel de agarosa al 1,8 % que muestra en 1, el producto de amplificación para el fragmento del gen *B1* de la muestra de líquido amniótico; en 2, el control positivo obtenido de exudado de ratones con toxoplasma, y en 3, el control negativo de la PCR. M corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). **B.** Arriba: secuencia obtenida para el fragmento del gen *B1* de *T. gondii*. Abajo: comparación de la secuencia obtenida con las secuencias del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Nótese que hay una homología de 100 % para el producto obtenido. **C.** Electroferogramas de la secuencia obtenida. En los tres paneles se muestra parte de la secuencia que se encuentra subrayada, y en **B**, esta se ve arriba, en negrilla.

Si bien es cierto que la mujer gestante había resultado positiva para toxoplasma (IgG positiva e IgM negativa, sin realizar la prueba de avididad y sin repetir la IgM), en el estudio realizado el 21 de enero de 2016 el examen del líquido amniótico fue positivo para *Toxoplasma*. Es posible que este caso haya correspondido a una reinfección por este parásito en una mujer inmunocompetente, hipótesis factible dados los resultados que indicaron una infección anterior por el microorganismo. Es probable que la mujer gestante se haya infectado con otra cepa de *Toxoplasma* spp. y que, por la falta de seguimiento del nivel de IgG, no se haya

podido detectar su variación, como se ha reportado en otros casos (29,30). Además, se ha informado que la reinfección en mujeres inmunocompetentes durante el embarazo es poco frecuente, y que el resultado positivo de los análisis de IgG no siempre indica que haya protección contra la toxoplasmosis congénita (31).

Se sabe que en los seres humanos afectados por toxoplasmosis congénita la infección afecta el sistema nervioso central y puede producir necrosis parenquimatosa difusa y multifocal hasta llegar a formar calcificaciones. La distribución y la gravedad de las calcificaciones varían según el momento en



**Figura 3.** Detección de fragmentos de genes de los virus del Zika y del chikungunya. **A.** Electroforesis en gel de agarosa al 1,8 % que muestra, en 1, los productos amplificados para el virus del Zika (banda inferior de 79 pb) y del chikungunya (banda superior de 100 pb); y en 2, el control negativo de la PCR. M corresponde al marcador de peso molecular de 100 pb (Promega). **B.** Secuencia obtenida para los fragmentos del gen de la poliproteína de los virus del Zika y el chikungunya. **C.** Comparación de las secuencias obtenidas con las secuencias del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Nótese que hay una homología de 100 % para los productos obtenidos.

que ocurre la infección materna (32,33). La infección congénita es más grave si se adquiere en el primero o el segundo trimestre. Las manifestaciones neurológicas más frecuentes en los pacientes sintomáticos en el momento del nacimiento, son la hidrocefalia, las calcificaciones intracraneales y la coriorretinitis (34).

En cuanto al CHIKV, aunque no se lo considera un virus neurotrópico, esporádicamente se han reportado casos con manifestaciones neurológicas durante la infección aguda (35), y en la isla Reunión (*La Réunion*), por ejemplo, se informó en recién nacidos infectados por transmisión vertical como la manifestación clínica más común de la encefalopatía grave (14).

Por otra parte, desde el 2015 se ha reportado en Brasil un aumento de casos de niños con sospecha de microcefalia y anomalías en el desarrollo del sistema nervioso central, probablemente asociados con la infección por el ZIKV (36,37).

En estos casos, las imágenes diagnósticas del cráneo comenzaron a evidenciar anomalías a nivel cerebral desde la semana 23 de gestación, en la semana 28 apareció la microcefalia y otros daños mayores, y en la semana 29 se confirmó la malformación del sistema nervioso central consistente

en atrofia de los hemisferios cerebrales y en múltiples calcificaciones alrededor de los remanentes de sustancia blanca.

En la toxoplasmosis fetal grave, las imágenes diagnósticas del cráneo se suelen evidenciar ventriculomegalia asociada con múltiples nódulos ecodensos, destrucción del cerebro, disgenesia del cuerpo calloso (38-40) y calcificaciones nodulares (41,42).

En la infección causada por el CHIKV, las imágenes no han sido muy específicas y se ha observado edema cerebral, vasculitis lentículo-tálamo-triatal, hiperdensidades en la sustancia blanca y en los hemisferios cerebrales (43), encefalopatía (14) y lesiones dispersas en la sustancia blanca con áreas de hemorragia intraparenquimatosa (13).

En la infección debida al ZIKV, las imágenes han revelado calcificaciones en la unión cortico-medular de la sustancia blanca, asociadas con malformaciones del desarrollo cortical y los lóbulos frontales y parietales, así como ventriculomegalia, retraso en la mielinización e hipoplasia del cerebelo y del tronco cerebral (44-47).

Teniendo en cuenta los hallazgos en las imágenes diagnósticas y lo reportado en los diversos estudios, es posible que en el caso que se reporta

las alteraciones se debieran a la presencia de *Toxoplasma* sp. Sin embargo, no se puede descartar la participación del ZIKV, si se tiene en cuenta que aún no se conoce la interacción entre el parásito y el CHIKV y el ZIKV, ya sea que estos últimos se presenten solos o concomitantemente en la producción de las lesiones en el sistema nervioso central. La secuencia parcial del ZIKV obtenida coincidió con las reportadas a nivel mundial (48,49).

Para el diagnóstico etiológico del defecto congénito cerebral, se requiere, como mínimo, que la futura madre asista regularmente a sus controles prenatales y en ellos se realice un excelente interrogatorio y un examen físico completo, y que se soliciten las pruebas de laboratorio que permitan investigar las infecciones que causan defectos congénitos cerebrales (como toxoplasmosis, rubéola, infección por citomegalovirus, herpes, sífilis, e infección por el ZIKV, el CHIKV y por el parvovirus B19), así como imágenes diagnósticas. También, se ha recomendado hacer el estudio virológico en el líquido amniótico.

En cuanto al mortinato o recién nacido, además del examen físico completo, deben practicarse las mismas pruebas de laboratorio hechas a la madre a partir de sangre del cordón umbilical. Además, debe investigarse la presencia del ZIKV y del CHIKV en el líquido cefalorraquídeo, y la de citomegalovirus y ZIKV en la orina. El estudio se debe complementar con imágenes diagnósticas de cráneo y el análisis del cariotipo. En los casos de muertes perinatales y neonatales, se debe proceder a la necropsia y al examen histopatológico de la placenta.

Hubo limitaciones en la presentación de este caso, ya que no se obtuvo información sobre los antecedentes de exposición a gatos domésticos, sobre el consumo de carne mal cocida, ni sobre los síntomas asociados con las condiciones detectadas o el consumo de esteroides. Además, no se descartó la infección por el virus linfotrópico de células T humanas (HTLV), ni se conocieron la técnica y los valores de la prueba de toxoplasma reportada.

Este es uno de los primeros casos que se detectó durante la pasada epidemia por ZIKV en Colombia y, dadas las condiciones de emergencia, no se tuvo en cuenta la recolección de todos los datos relevantes. El gran número de personas que acudió a los servicios de salud en ese periodo, probablemente, impidió que el médico tratante dedicara el tiempo suficiente a investigar los antecedentes

personales y patológicos del caso. Las limitaciones también tienen que ver con la calidad de los datos que se recopilan en las historias clínicas y la falta de información sobre síntomas relacionados con la toxoplasmosis y las infecciones por el ZIKV y el CHIKV, las que, además, pueden haber sido asintomáticas y, por lo tanto, no se reportaron.

Debido a sus condiciones ecoepidemiológicas, aptas para mantener la transmisión de las infecciones debidas a flavivirus, diversos territorios de Colombia se han convertido en áreas endémicas de las enfermedades debidas a los virus del dengue, el CHIKV y el ZIKV, en donde, además, una mujer embarazada puede adquirir otras infecciones como la toxoplasmosis. A pesar de las indicaciones que se han impartido con respecto a la necesidad de hacer los exámenes pertinentes para la detección de defectos congénitos, estos no se hacen rutinariamente, y ello retrasa el diagnóstico y el manejo de los pacientes.

En este contexto, el reporte del presente caso de infección por *T. gondii*, ZIKV y CHIKV contribuye a resaltar algunas de sus características clínicas y los estudios de confirmación por el laboratorio que se exigen, pues dos de estos microorganismos presentan manifestaciones clínicas muy similares que pueden producir confusión y alarma en la comunidad, lo que refuerza la necesidad de mejorar la calidad de la información que se recaba para elaborar la historia clínica, y garantizar mayor rigurosidad en la toma y el procesamiento de las muestras.

### Agradecimientos

A Jennyfer Paola Flórez Holguín, de la Secretaría de Salud del Cauca; y a la IPS Pronacer, la Clínica La Estancia de Popayán y la EPS Asmet Salud, por el suministro de la información relacionada con el caso presentado.

### Conflicto de intereses

Los autores declaramos no tener ningún tipo de conflicto de intereses.

### Financiación

Este trabajo fue financiado por el Instituto Nacional de Salud.

### Referencias

1. Carletti A, Gandolfi G, Perolo A, Simonazzi G, Ghi T, Rizzo N, *et al.* Prenatal diagnosis of cerebral lesions acquired in utero and with a late appearance. *Prenat Diagn.* 2009;29:389-95. <https://doi.org/10.1002/pd.2244>

2. **Álvarez C, De la Torre A, Vargas M, Herrera C, Uribe-Huertas L, 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>
3. **De la Torre A, Sauer A, Bourcier T, Speeg-Schatz C, Ballonzoli L, Aizenberg D, et al.** Severe southamerican ocular toxoplasmosis is associated with decreased IFN-gamma/IL-17A and increased IL-6/IL-13 intraocular levels. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e2541. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002541>
4. **Sánchez V, De la Torre A, Gómez-Marín JE.** Characterization of ROP18 alleles in human toxoplasmosis. *Parasitol Int.* 2014;63:463-9. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2013.10.012>
5. **Peyron F, Lobry JR, Musset K, Ferrandiz J, Gómez-Marín JE, Petersen E, et al.** Serotyping of *Toxoplasma gondii* in chronically infected pregnant women: Predominance of type II in Europe and types I and III in Colombia (South America). *Microbes Infect.* 2006;8:2333-40. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.03.023>
6. **Rosso F, Agudelo A, Isaza Á, Montoya J.** Toxoplasmosis congénita: aspectos clínicos y epidemiológicos de la infección durante el embarazo. *Colomb Med (Cali).* 2007;38:316-37.
7. **Robert-Gangneux F, Dardé M.** Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.* 2012;2:264-96. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
8. **Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R.** Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: Risk estimates for clinical counselling. *Lancet.* 1999;353:1829-33. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)08220-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)08220-8)
9. **Desmots G, Couvreur J.** Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. *N Engl J Med.* 1974;290:1110-6. <https://doi.org/10.1056/NEJM197405162902003>
10. **Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmots G.** Toxoplasmosis. En: Remington JS, Klein J, editores. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 5th edition. Philadelphia, PA: WB Saunders; 2001, p. 205-346.
11. **Torgerson P, Mastroiacovo P.** The global burden of congenital toxoplasmosis: A systematic review. *Bull World Health Organ.* 2013;91:501-8. <https://doi.org/10.2471/BLT.12.111732>
12. **Burt FJ, Rolph MS, Rulli NE, Mahalingam S, Heise MT.** Chikungunya: A re-emerging virus. *Lancet.* 2012;379:662-71. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60281-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60281-X)
13. **Ramful D, Carbonnier M, Pasquet M, Bouhmani B, Ghazouani J, Noormahomed T, et al.** Mother-to-child transmission of Chikungunya virus infection. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26:811-5. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3180616d4f>
14. **Gérardin P, Barau G, Michault A, Bintner M, Randrianaivo H, Choker G, et al.** Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Reunion. *PLoS Med.* 2008;5:e60. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050060>
15. **Senanayake MP, Senanayake SM, Vidanage KK, Gunasena S, Lamabadusuriya SP.** Vertical transmission in chikungunya infection. *Ceylon Med J.* 2009;54:47-50
16. **Shrivastava A, Wagar Beg M, Gujrati C, Gopalan N, Rao PV.** Management of a vertically transmitted neonatal chikungunya thrombocytopenia. *Indian J Pediatr.* 2011;78:1008-9. <https://doi.org/10.1007/s12098-011-0371-7>
17. **Fritel X, Rollot O, Gerardin P, Gauzere BA, Bideault J, Lagarde L, et al.** Chikungunya virus infection during pregnancy, Réunion, France, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:418-25. <https://doi.org/10.3201/eid1603.091403>
18. **Besnard M, Eyrolle-Guignot D, Guillemette-Artur P, Lastère S, Bost-Bezeaud F, Marcellis L, et al.** Congenital cerebral malformations and dysfunction in fetuses and newborns following the 2013 to 2014 Zika virus epidemic in French Polynesia. *Euro Surveill.* 2016;21. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.13.30181>
19. **Miranda-Filho DB, Martelli CM, Ximenes RA, Araújo TV, Rocha MA, Ramos RC, et al.** Initial description of the presumed congenital Zika syndrome. *Am J Public Health.* 2016;106:598-600. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303115>
20. **Barton M, Salvadori M.** Zika virus and microcephaly. *CMAJ.* 2016;188:E118-9. <https://doi.org/10.1503/cmaj.160179>
21. **Organización Panamericana de la Salud-Organización Mundial de la Salud.** Zika - Actualización epidemiológica. 30 de junio de 2016. Fecha de consulta: 22 de septiembre de 2016. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=35265&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=35265&lang=es).
22. **Corte Constitucional de Colombia.** Sentencia C-355/06. Fecha de consulta: 28 de agosto de 2016. Disponible en: [www.corteconstitucional.gov.co/relatoria/2006/C-355-06.htm](http://www.corteconstitucional.gov.co/relatoria/2006/C-355-06.htm).
23. **Juliao O, Corredor A, Moreno G.** Estudio Nacional de Salud: toxoplasmosis en Colombia. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 1988.
24. **Gómez J.** Toxoplasmosis: un problema de salud pública en Colombia. *Rev Salud Pública.* 2002;4(Supl.1):7-10.
25. **Waggoner J, Gresh L, Vargas M, Ballesteros G, Téllez Y, Soda K, et al.** Viremia and clinical presentation in Nicaraguan patients infected with Zika virus, chikungunya virus, and dengue virus. *Clin Infect Dis.* 2016;63:1584-90. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw589>
26. **Zambrano H, Waggoner J, Almeida C, Rivera L, Benjamin J, Pinsky B.** Zika virus and chikungunya virus coinfections: A series of three cases from a single center in Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;95:894-6. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0323>
27. **Sardi S, Somasekar S, Naccache S, Bandeira A, Tauro L, Campos G, et al.** Coinfections of Zika and Chikungunya viruses in Bahia, Brazil, identified by metagenomic next-generation sequencing. *J Clin Microbiol.* 2016;54:2348-53. <https://doi.org/10.1128/JCM.00877-16>
28. **Cherabuddi K, Iovine N, Shah K, White S, Paisie T, Salemi M, et al.** Zika and Chikungunya virus co-infection in a traveller returning from Colombia, 2016: Virus isolation and genetic analysis. *JMM Case Rep.* 2016;19:3:e005072. <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.005072>
29. **Elbez-Rubinstein A, Aizenberg D, Dardé ML, Cohen R, Dumètre A, Yera H, et al.** Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: Case report, strain

- characterization, experimental model of reinfection, and review. *J Infect Dis.* 2009;199:280-5. <https://doi.org/10.1086/595793>
30. **Valdés V, Legagneur H, Watrin V, Paris L, Hascoët JM.** Toxoplasmose congénitale secondaire à une reinfection maternelle pendant la grossesse. *Arch Pediatr.* 2011;18:761-3. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2011.04.011>
31. **Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E, Hennequin C, Maurin JR, et al.** Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1276-7.
32. **Lago EG, Baldisserotto M, Hoefel Filho JR, Santiago D, Jungblut R.** Agreement between ultrasonography and computed tomography in detecting intracranial calcifications in congenital toxoplasmosis. *Clin Radiol.* 2007;62:1004-11. <https://doi.org/10.1016/j.crad.2007.05.001>
33. **Diebler C, Dusser A, Dulac O.** Congenital toxoplasmosis. Clinical and neuroradiological evaluation of the cerebral lesions. *Neuroradiology.* 1985;27:125-30.
34. **Sabin A, Eichenwald H, Feldman H, Jacobs L.** Present status of clinical manifestations of toxoplasmosis in man. Indications and provisions for routine serologic diagnosis. *J Am Med Assoc.* 1952;150:1063-9.
35. **Arpino C, Curatolo P, Rezza G.** Chikungunya and the nervous system: What we do and do not know. *Rev Med Virol.* 2009;19:121-9. <https://doi.org/10.1002/rmv.606>
36. **Brito C.** Zika virus: A new chapter in the history of medicine. *Acta Med Port.* 2015;28:679-80.
37. **Kleber de Oliveira W, Cortez-Escalante J, De Oliveira WT, do Carmo GM, Henriques CM, Coelho GE, et al.** Increase in reported prevalence of microcephaly in infants born to women living in areas with confirmed Zika virus transmission during the first trimester of pregnancy - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:242-7. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6509e2>
38. **Malinger G, Werner H, Rodríguez-Leonel JC, Rebolledo M, Duque M, Mizyrycki S.** Prenatal brain imaging in congenital toxoplasmosis. *Prenat Diagn.* 2011;31:881-6. <https://doi.org/10.1002/pd.2795>
39. **D'Ercole C, Girard N, Boubli L, Potier A, Chagnon C, Raybaud C, et al.** Prenatal diagnosis of fetal cerebral abnormalities by ultrasonography and magnetic resonance imaging. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1993;50:177-84. [https://doi.org/10.1016/0028-2243\(93\)90198-L](https://doi.org/10.1016/0028-2243(93)90198-L)
40. **Barkovich AJ, Girard N.** Fetal brain infections. *Childs Nerv Syst.* 2003;19:501-7. <https://doi.org/10.1007/s00381-003-0763-8>
41. **Capobiango JD, Breganó RM, Navarro IT, Rezende Neto CP, Casella AM, Mori FM, et al.** Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2014;18:364-71. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2013.11.009>
42. **Kiroğlu Y, Calli C, Karabulut N, Oncel C.** Intracranial calcifications on CT. *Diagn Interv Radiol.* 2010;16:263-9. <https://doi.org/10.4261/1305-3825.DIR.2626-09.1>
43. **Robin S, Ramful D, Le Seach F, Jaffar-Bandjee MC, Rigou G, Alessandri JL.** Neurologic manifestations of pediatric chikungunya infection. *J Child Neurol.* 2008;23:1028-35. <https://doi.org/10.1177/0883073808314151>
44. **De Fatima Vasco Aragao M, van der Linden V, Brainer-Lima AM, Coeli RR, Rocha MA, Sobral da Silva P, et al.** Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: Retrospective case series study. *BMJ.* 2016;6:353:i1901. <https://doi.org/10.1136/bmj.i1901>
45. **Hazin AN, Poretti A, Turchi-Martelli CM, Huisman TA, Microcephaly Epidemic Research Group, Di Cavalcanti Souza Cruz D, et al.** Computed tomographic findings in microcephaly associated with Zika virus. *N Engl J Med.* 2016;374:2193-5. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1603617>
46. **Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo de Filippis AM.** Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: Tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:6-7. <https://doi.org/10.1002/uog.15831>
47. **Cavalheiro S, López A, Serra S, Da Cunha A, da Costa MD, Moron A, et al.** Microcephaly and Zika virus: Neonatal neuroradiological aspects. *Childs Nerv Syst.* 2016;32:1057-60. <https://doi.org/10.1007/s00381-016-3074-6>
48. **Faye O, Freire CC, Iamarino A, Faye O, de Oliveira JV, Diallo M, et al.** Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8:e2636. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002636>
49. **Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, et al.** Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med.* 2016;374:951-8. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1600651>

## CASE PRESENTATION

# A case series of pure neural leprosy in patients diagnosed in a specialized center for the control of Hansen's disease in Colombia

Héctor Serrano-Coll<sup>1,2</sup>, Olinto Mieles<sup>3</sup>, Calixto Escorcía<sup>3</sup>, Amparo Díaz<sup>3</sup>,  
Camilo Beltrán<sup>1</sup>, Nora Cardona-Castro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Línea de Investigación en Lepra, Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Facultad de Medicina, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Escuela de Graduados, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Sanatorio de Contratación ESE, Programa Control de Lepra, Contratación, Santander, Colombia

Pure neural leprosy, defined as a peripheral neuropathy in which the patient has no skin lesions, is difficult to diagnose. Its verification by bacteriological index and histopathology is not possible in the majority of the patients.

We describe four cases of pure neural leprosy diagnosed by clinical criteria. The clinical outcome of three of the patients after specific treatment was satisfactory, while the other one developed progressive neural damage despite the therapy. All patients were treated in a specialized center for the management and control of Hansen's disease in the municipality of Contratación, Santander, Colombia.

**Key words:** Leprosy, tuberculoid/diagnosis; therapeutics; case studies; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3690>

## Serie de casos de lepra neural pura en pacientes diagnosticados en un centro especializado en el control de la enfermedad de Hansen en Colombia

La lepra neural pura se presenta como una neuropatía periférica sin presencia de lesiones cutáneas. La verificación del diagnóstico mediante el índice bacilar y la histopatología, no es posible en la mayoría de los pacientes.

Se describen cuatro casos de lepra neural pura diagnosticados por clínica; la evolución de tres de los pacientes que recibieron tratamiento específico fue satisfactoria, en tanto que la otra paciente presentó deterioro progresivo a pesar de las medidas terapéuticas. Todos los pacientes fueron atendidos en un centro especializado en el manejo y control de la enfermedad de Hansen, ubicado en el municipio de Contratación, Santander, Colombia.

**Palabras clave:** lepra tuberculoides/diagnóstico; terapéutica; estudios de casos; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3690>

Pure neural leprosy is a clinical form of Hansen's disease that affects peripheral nerves without causing skin lesions in the patient (1,2). Therefore, its diagnosis is challenging due to the subjectivity and complexity of the clinical manifestations (3). Although its prevalence is low (5 to 18% of all leprosy diagnosis), it may be underestimated because simple, reliable and non-invasive diagnostic tools

to detect *Mycobacterium leprae* in patients with this kind of leprosy are currently unavailable. Thus, its detection depends on the clinical experience of the physician (3,4).

The neural condition caused by leprosy results from the asymmetric invasion by *M. leprae* in peripheral nerve fibers, an interaction that causes an inflammatory response at the axon level, resulting in inflammation of peripheral nerve trunks (neuritis) and damaging sensory fibers responsible for exteroceptive sensitivity (5-7). Early pure neural leprosy symptoms occur when infection of the compromised sensory fibers exceeds 30% (8).

Corresponding author:

ENora Cardona-Castro, Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Carrera 53A N° 52 S-99, Sabaneta, Antioquia, Colombia  
Telephone: (574) 305 3500  
[ncardona@ces.edu.co](mailto:ncardona@ces.edu.co)

Received: 21/11/16; accepted: 09/08/17

### Author's contributions:

Olinto Mieles, Calixto Escorcía and Amparo Díaz: Clinical management and diagnosis of the patients

Juan Beltrán: Bacilloscopy and serology for *Mycobacterium leprae*

Héctor Serrano and Nora Cardona-Castro: neurological evaluation, literature review and writing of the article

The diagnosis of the condition is clinical, and it should be suspected in household contacts of patients with Hansen's disease who display only peripheral damage as clinical symptom. Neuro-pathic symptoms and signs should be a sufficient criterion of diagnosis when additional diagnostic studies are not possible, and when common causes of peripheral neuropathy (e.g. diabetes mellitus, alcoholism and carpal tunnel syndrome) have been ruled out (1,9)

While the absence of skin lesions complicates pure neural leprosy diagnosis, detecting *M. leprae* in biopsy smears (skin and peripheral nerve) is also difficult. Given that histopathological findings tend to be nonspecific, implementation of serological tests (such as the detection of IgM antibodies against phenolic glycolipid - I (PLG-I) in patients with peripheral neuropathy may support its diagnosis (10).

We describe here four pure neural leprosy cases diagnosed in the Sanatorium of Contratación in Santander, Colombia.

### Case 1

A 64-year-old male patient exhibiting 2 years of clinical symptoms characterized by muscle weakness in the eyes, hands, and feet with associated sensory loss in these areas.

The patient did not have a pathological, pharmacological, surgical, or history of trauma to explain these symptoms. As regards the epidemiological nexus, the patient's father and paternal uncles were both leprosy patients. In addition, the patient had lived for 20 years with a woman suffering from leprosy. Finally, the patient hunted and ate armadillo.

The physical examination did not reveal skin lesions. A neurological assessment of the face, head, and neck revealed an absence of the bilateral corneal reflex and weakness in the orbicular muscle of the eyelids involving the trigeminal and facial nerve.

We performed a sensitivity evaluation using Semmes-Weinstein monofilaments. In the upper limbs, we observed sensory loss (anesthesia) in areas innervated by the radial median nerve and in the hands, in areas innervated by the ulnar nerve. We also found evidence of a bilateral thickening of the ulnar and right cutaneous radial nerves. We did not observe trophic changes in the hands (figure 1).

In the lower limbs, sensory loss (anesthesia) was evident in both feet in areas innervated by the tibial posterior and fibular common nerves.

During palpation of the nerve trunks, we detected a thickening of both tibial posterior nerves without trophic changes in the feet (figure 1).

As regards laboratory tests, the bacilloscopy of the mucus and interstitial fluid did not detect acid-alcohol resistant bacilli (BAAR). Serology to detect IgG LID1-NOD (cut-off>0.146 optical density, OD) was positive (0.480 OD). IgM anti-PGL-1 (cut-off>0.162 OD) was negative (0.095 OD). We ruled out damage to the central nervous system (CNS), as computerized axial tomography reported a normal status.

Given the patient's epidemiological nexus, evidence of peripheral neuropathy and the presence of IgG antibodies against *M. leprae* proteins, we diagnosed the patient with pure neural leprosy.

The patient exhibited grade 1 disability of the eyes, hands, and feet and began multidrug therapy for multibacillary leprosy (MDT-MB). In addition, the patient began physical therapies plus cortico therapy with prednisolone in a descending scheme (60 mg initial doses) and four months later the progression of neural damage stopped.

Table 1 shows the immunological, bacteriological, epidemiological, clinical, and diagnostic characteristics of each of the patients reported in this study.

### Case 2

A 33 year-old male patient exhibiting 3 years of clinical symptoms characterized by muscle weakness in the hands with associated sensory loss in both his hands and feet.

The patient did not have a pathological, pharmacological, surgical, or trauma history to explain these symptoms. Regarding the epidemiological nexus, his father is a leprosy patient. In addition, the patient also hunted and ate armadillo.

Upon physical examination, we did not observe skin lesions. In the neurological assessment of face, head, and neck, we detected that the corneal reflex in the right eye involving the trigeminal nerve was absent.

In the upper limbs, we observed sensory loss (anesthesia) in areas innervated by the median, ulnar and radial nerves in both hands (figure 2) and found evidence of a bilateral thickening of the ulnar nerve and percussing pain in the left median nerve. The Froment test was positive in both hands; we did not observe trophic changes in this area.

In the lower limbs, we found evidence of sensory loss (anesthesia) in areas innervated by the tibial posterior and fibular common nerves in both feet.

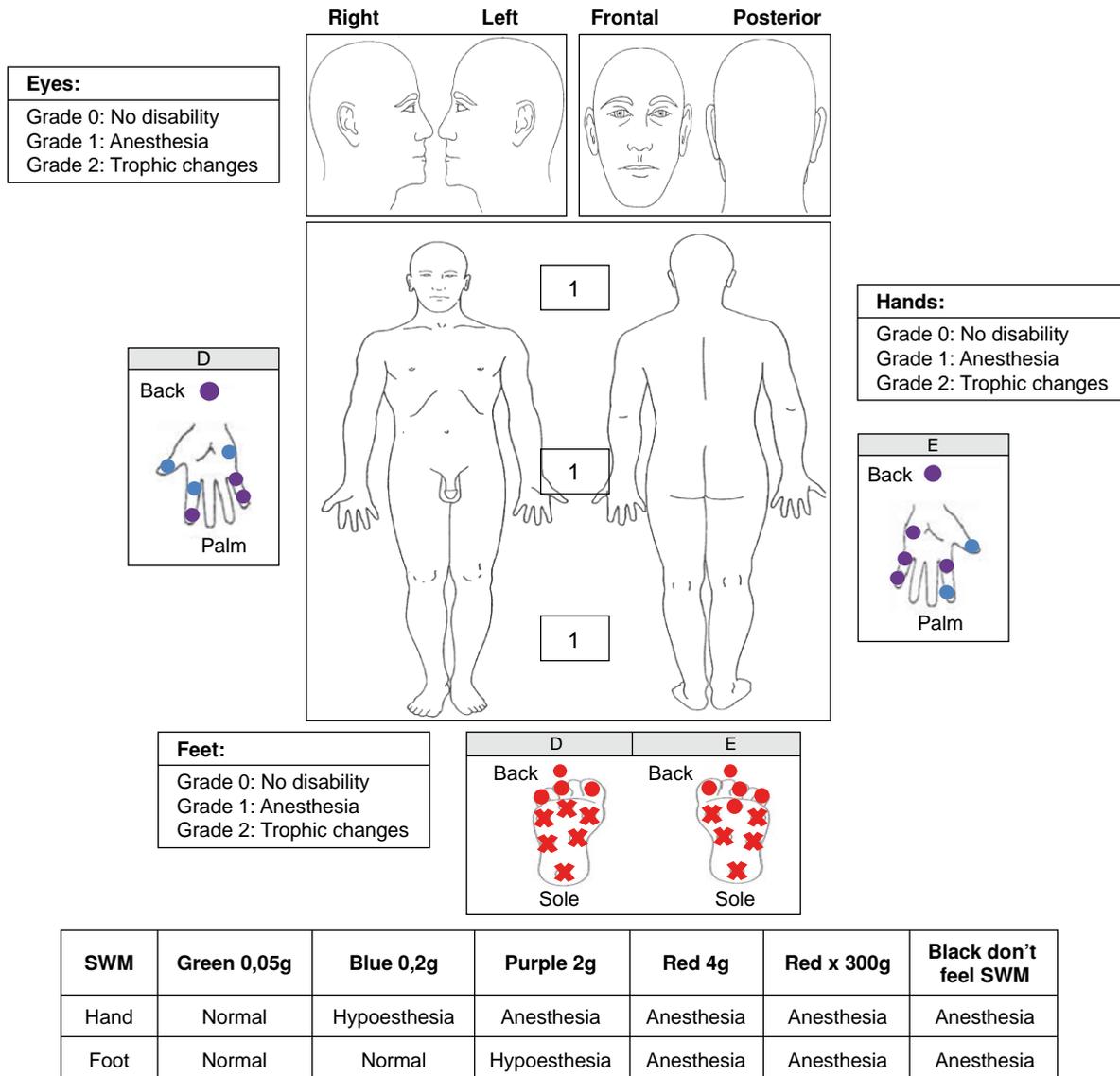


Figure 1. Case 1 findings. SWM: Semmes-Weinsten monofilaments

During palpation of the nerve trunks, we detected a thickening of the right posterior tibial nerve without trophic changes in the feet (figure 2).

The bacilloscopy of the mucus and interstitial fluid did not detect BAAR. Serology to detect IgM against LID 1-NOD (cut-off>0.153 OD) was negative (0.072 OD). IgM anti PGL-1 (cut-off>0.162 OD) was negative (0.081 OD).

Considering that this patient had a positive epidemiological nexus with Hansen's disease and an asymmetrical peripheral neuropathy, he was diagnosed with pure neural leprosy with a grade 1 disability (hands/feet) and started MDT-MB with prednisolone in a descending scheme (50 mg initial

doses). Currently, the patient has finished MDT-MB in combination with prednisolone; the clinical outcome was good since the disability grade did not increase (table 1).

**Case 3**

A 42-year-old female patient exhibiting 4 years of clinical symptoms characterized by weakness in the hands and lower limbs associated with sensory loss in those areas.

She was initially diagnosed with carpal tunnel syndrome, and received surgical treatment (decompression of the median nerve) in both hands. This diagnosis was established without considering the

**Table 1.** Epidemiological, clinical, bacteriological and immunological characterization of the group of patients diagnosed with pure neural leprosy

Patients	Epidemiological nexus	Onset of symptoms	Involvement of sensitive area	Involvement of motor area	Nerve trunks affected	Serological tests	Bacilloscopy	Treatment
1	Parents and paternal uncles with leprosy Hunting and consumption of armadillo	2 years	Eyes Hands Feet	Weakness in the orbicular of the eyelids (facial nerve)	Ulnar nerve R/L Radial nerve R Posterior tibial nerve R/L	*Positive 0,480 OD ** Negative 0,095 OD	Negative	MDT-MB + prednisolone
2	Father with leprosy Hunting and consumption of armadillo	3 years	Right eye Hands Feet	No trophic changes	Right and left ulnar nerves Left median nerve Right posterior tibial nerve	***Negative 0,072 OD ** Negative 0,081 OD	Negative	MDT-MB + prednisolone
3	Cousins with leprosy Consumption of armadillo	3 years	Eyes Hands Feet	No trophic changes	No thickening of nerves	*Negative 0,109 OD ** Negative 0,096 OD	Negative	MDT-PB + prednisolone
4	Grandparents with leprosy	4 years	Hands	Left hand, benediction hand	Left ulnar nerve	* Negative 0,111 OD ** Negative 0,098 OD	Negative	MDT-MB + prednisolone

\*IgG LID1-NOD (cut-off>0.146 OD); \*\*IgM PGL-1 (cut-off >0.162 OD); \*\*\*IgM LID1-NOD (cut-off >0.153 OD); OD: Optical densities

clinical symptoms, which were compatible with multiplex mononeuropathy. The patient did not have a pathological, pharmacological, or trauma history to explain these symptoms.

Regarding the epidemiological nexus, the patient had cousins suffering from leprosy and, besides, she ate armadillo.

During the physical examination, no skin lesions were detected. In the neurological assessment of the face, head, and neck, we observed damage of the trigeminal nerve in both eyes.

In the upper limbs, we observed sensory loss (anesthesia) in both hands associated with areas innervated by the median, ulnar, and radial nerves. We found no evidence of a thickening of the peripheral nerve or of trophic changes in the hands (figure 3).

In the lower limbs, we found evidence of sensory loss (anesthesia) in areas innervated by the tibial posterior and fibular common nerves in both feet, but no evidence of a thickening of the peripheral nerve or trophic changes in the feet (figure 3).

With regard to laboratory tests, the bacilloscopy did not detect BAAR. Serology to detect IgG anti-LID 1-NOD (cut-off>0.146 OD) was negative (0.109 OD), as well as for IgM anti-PGL-1 (cut-off>0.162 OD;0.096 OD).

Considering this patient had a positive epidemiological nexus with Hansen's disease, as well as multiplex mononeuropathy without other possible

pathologies to explain a neuropathic condition that differed from leprosy, she was diagnosed with pure neural leprosy and grade 1 disability (eyes/hands/feet), and MDT for paucibacillary leprosy (PB) was started combined with physical therapy. Currently, the patient has improved her strength in hands and lower limbs and she continues with physical therapy (table 1).

#### Case 4

A 42-year-old female patient exhibiting 4 years of clinical symptoms characterized by decreased sensitivity in her hands and a retraction of the fourth and fifth finger of the left hand.

The patient did not have a pathological, pharmacological, surgical, or trauma history to explain these symptoms. As regards the epidemiological nexus, the patient's grandparents had leprosy.

The physical examination did not reveal skin lesions and in the neurological assessment of her face, head, and neck, we did not detect damage in the trigeminal or facial nerve. In her upper limbs, we observed sensory loss (anesthesia) in areas innervated by the median, ulnar, and radial nerves of the left hand, as well as a thickening of the left ulnar nerve. The Froment test was positive for her left hand and she had trophic changes (clawed left hand) (figure 4). In the lower limbs, we did not observe sensory or trophic changes in the feet (figure 4).

The bacilloscopy was negative for BAAR. Serology to detect IgG anti-LID 1-NOD (cut-off>0.146 OD)

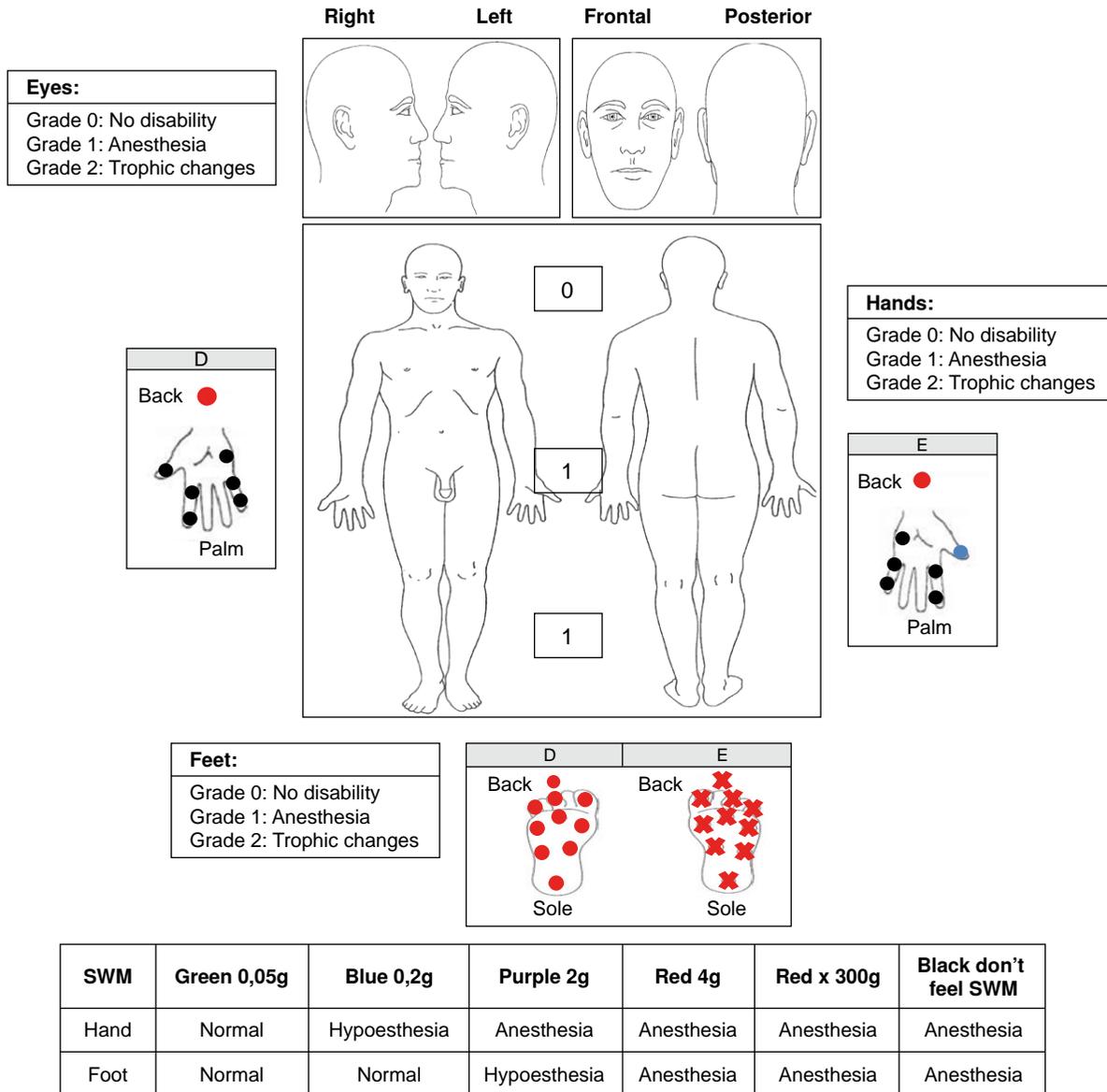


Figure 2. Case 2 findings. SWM: Semmes-Weinsten monofilaments

was negative (0.111 OD), and IgM anti-PGL-1 (cut-off > 0.162 OD) was also negative (0.098 OD).

Given that the neurological impairment caused a grade 2 disability in her left hand, the patient was diagnosed with pure neural leprosy and began MDT-MB in combination with prednisolone in a descending scheme (40 mg initial doses), as well as physical therapies. Currently, she has received 18 blisters of MDT-MB and she continues with prednisolone and physical therapy. However, despite the treatment, her disability in the left hand is worst because of impairment of the radial nerve (table 1).

Electromyography test was not available for any of these patients.

**Discussion**

These cases show that pure neural leprosy represents a diagnostic challenge for healthcare personnel, even for those with extensive expertise, due to the fact that it typically affects the peripheral nervous system (PNS) as a mononeuropathy or multiplex mononeuropathy without causing skin lesions (11). Furthermore, confirming diagnosis by bacteriological and histopathological methods remains difficult, even via neural biopsy, which is

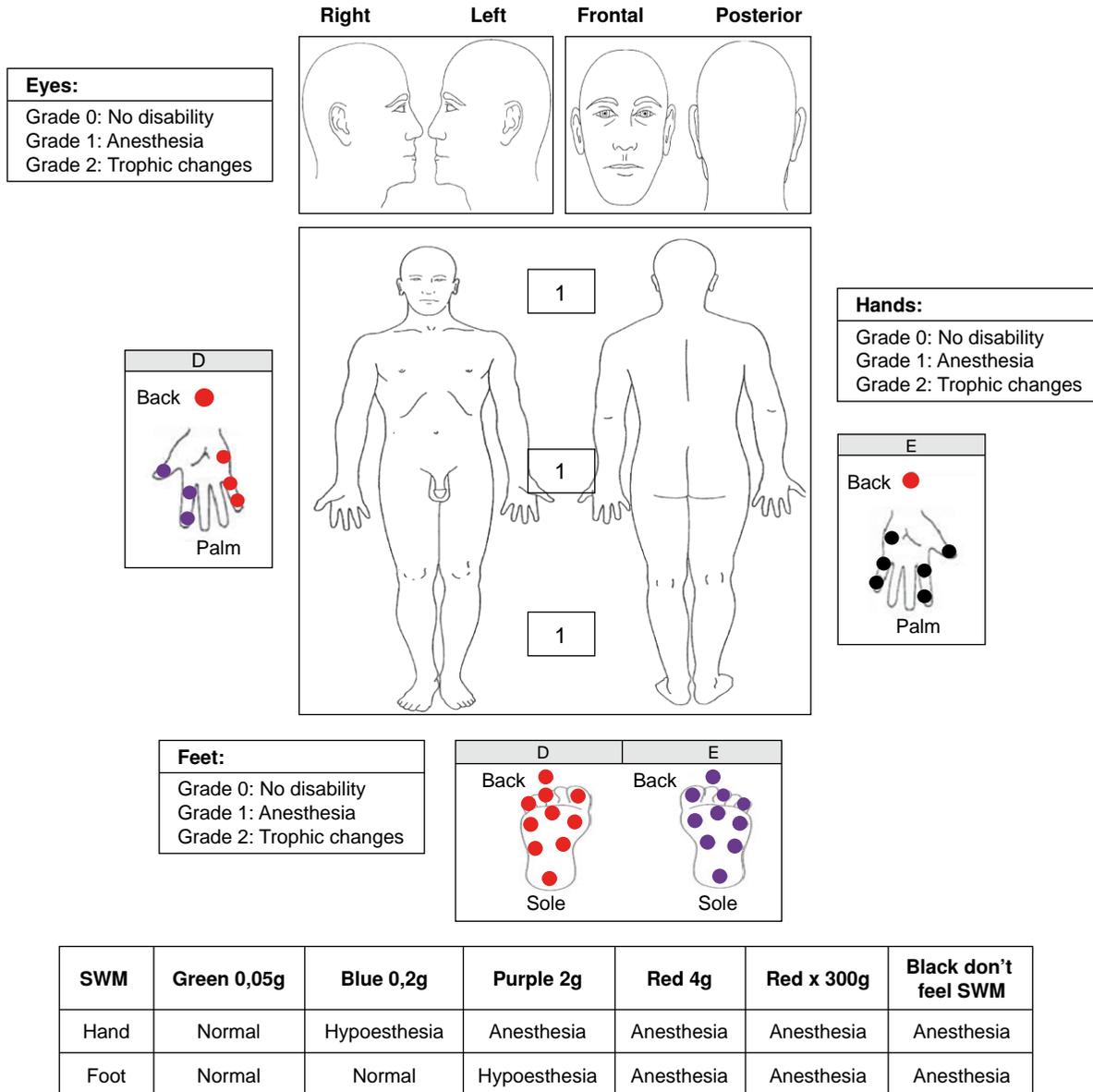


Figure 3. Case 3 findings. SWM: Semmes-Weinstein monofilaments

considered as the gold standard for the diagnosis. The difficulty is primarily explained by the low bacillary load that is typical of this form of leprosy, and the fact that the histopathological changes associated with this condition are also present in other neuropathies, particularly vasculitis, and in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy (CIDP) (12). However, histopathological findings such as endoneural inflammation and epithelioid granulomas in the peripheral nerves of patients with epidemiological nexus and clinical manifestations of neural impairment are the major criteria for the diagnosis of pure neural leprosy (13). Furthermore,

the electromyography can be an important tool in the detection of the nerve damage, and to determine the best place to take the biopsy, improving the sensitivity of the histopathology (1,6).

Today, the presence of *M. leprae* may be detected using other diagnostic alternatives, such as polymerase chain reaction (PCR), serological methods to detect antibodies against PGL-I or fine needle aspiration (FNA) cytology (14).

Reja, et al. (4), conducted a study using FNA in 13 patients with pure neural leprosy to demonstrate the presence of *M. leprae* through multiplex PCR

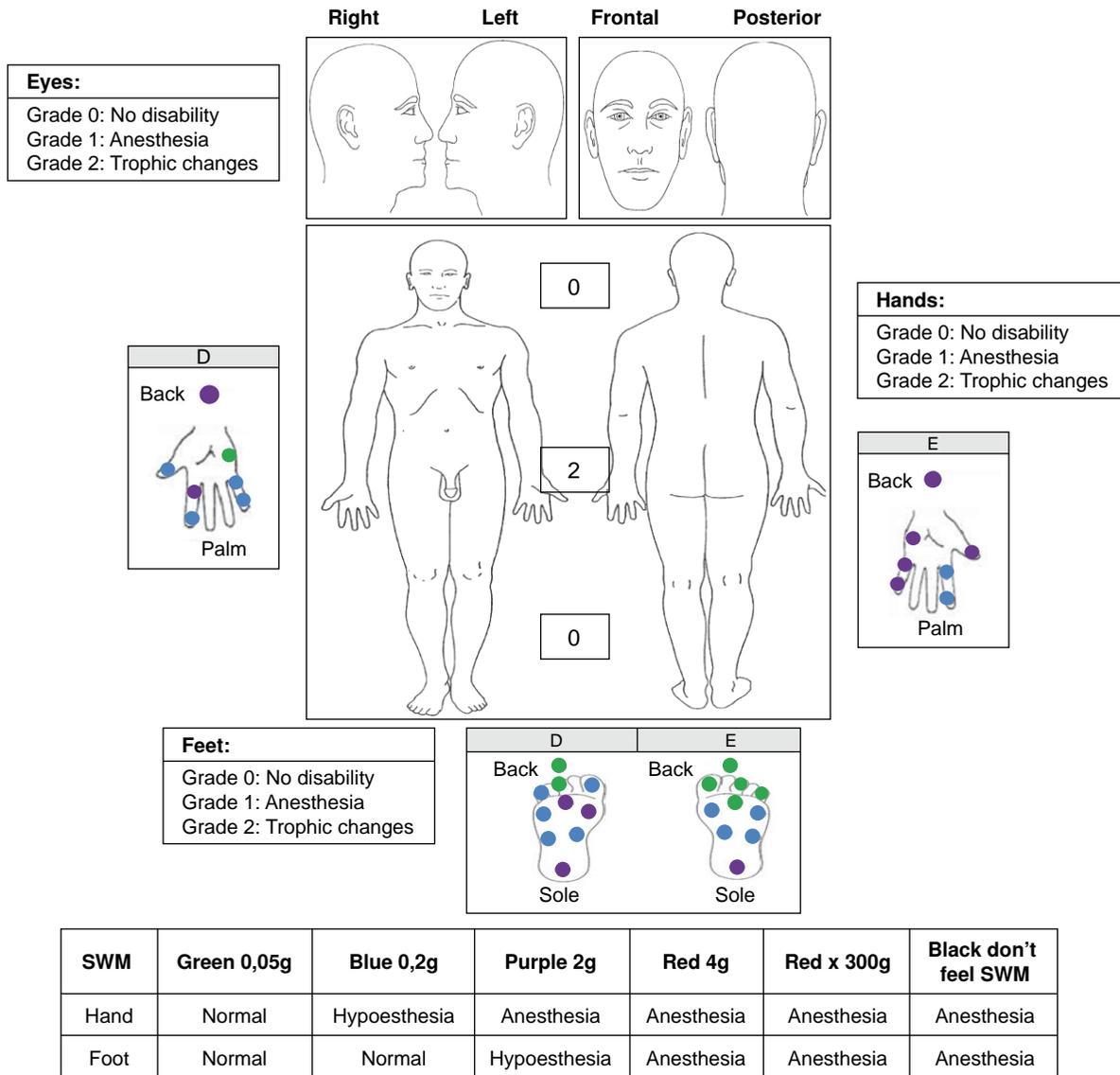


Figure 4. Case 4 findings. SWM: Semmes-Weinsten monofilaments

and Ziehl-Neelsen (ZN) staining. Multiplex PCR detected the presence of mycobacteria in 11 patients (84.6%) and ZN staining showed BAAR in 5 patients (38.4%). The authors concluded that a combination of multiplex PCR and ZN staining (from FNA) provided a rapid and reliable diagnosis of the disease (4). Grossi, *et al.* (15), showed that serology can be useful in detecting and monitoring the disease given that subjects with more than one nerve trunk are four times more likely to be seropositive (15).

The use of serological tests such as PGL-I or NDO-LID could also be useful in the detection of pure neural leprosy as positivity of these serological

tests is considered a diagnostic criterion for this condition. Moreover, it is important to mention that these tests are positive only in less than 50% of the patients with pure neural leprosy. Therefore, a negative serological test does not discard its presence (1).

Regarding the personal history of these four cases, it should be mentioned that all of them were both household contacts of patients with Hansen's disease and blood-related. Thus, the patients had a 10 to 14 times more risk of contracting the disease than the general population (16). It is important to note that three of the four patients examined had contact with armadillos, that leprosy is considered a

zoonotic disease and that they have tested positive for *M. leprae* in Colombia (17). Truman, *et al.* (18) confirmed the zoonotic transmission of leprosy: 25 patients with Hansen's disease and 28 armadillos infected with leprosy shared the same *M. leprae* strain (18). Therefore, in patients with peripheral neuropathy of unknown etiology, it is important that physicians inquire about the personal history of their leprosy patients and whether there has been contact with animals that might be related to the transmission of the disease (16,19,20).

The classification of pure neural leprosy is usually paucibacillary (PB) (17), although Rodríguez, *et al.* (1), have recommended to consider the number of peripheral nerve trunks affected to begin the treatment: patients with two or more affected peripheral nerve trunks should start MDT-MB for 12 months (1). Furthermore, patients can improve their neurological condition using steroids such as prednisolone in 40 to 60 mg doses. However, Smith, *et al.* (21), observed that the use of prednisolone in 20 mg doses had similar effects to avoid the impairment of nerves in leprosy patients.

In conclusion, pure neural leprosy is an enigmatic and often silent entity that primarily affects household contacts of Hansen's disease patients and its diagnosis is clinical. The disease is often disregarded for the differential diagnosis of possible peripheral neuropathy. It is, therefore, imperative that the medical personnel include it in their diagnostic possibilities.

Finally, it is necessary to continue working on reliable, non-invasive diagnostic techniques, possibly through a combination of serological and genomic tools. The combined use of these tests and of medical devices for the early detection of peripheral neuropathy would facilitate the early diagnosis of pure neural leprosy and mitigate the progression of disabilities caused by neural damage.

### Conflicts of interest

The authors have no conflicts of interest to declare.

### Funding

Colciencias Grant code: 325656933516

### References

- Rodríguez G, Pinto R. Lepra neural primaria: definición y criterios de manejo. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2010; 18:91-5.
- Payne R, Baccon J, Dossett J, Scollard D, Byler D, Patel A, *et al.* Pure neuritic leprosy presenting as ulnar nerve neuropathy: A case report of electrodiagnostic, radiographic, and histopathological findings. *J Neurosurg.* 2015;123:1238-43. <https://doi.org/10.3171/2014.9.JNS142210>
- Garbino JA, Marques W, Barreto JA, Heise CO, Rodrigues MM, Antunes SL, *et al.* Primary neural leprosy: Systematic review. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71:397-404. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20130046>
- Reja AH, De A, Biswas S, Chattopadhyay A, Chatterjee G, Bhattacharya B, *et al.* Use of fine needle aspirate from peripheral nerves of pure-neural leprosy for cytology and PCR to confirm the diagnosis: A pilot study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2013;79:789-94. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.120731>
- Sharma R, Lahiri R, Scollard DM, Pena M, Williams DL, Adams LB, *et al.* The armadillo: A model for the neuropathy of leprosy and potentially other neurodegenerative diseases. *Dis Model Mech.* 2013;6:19-24. <https://doi.org/10.1242/dmm.010215>
- Nascimento OJ. Leprosy neuropathy: Clinical presentations. *Arq Neuropsiquiatr.* 2013;71:661-6. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20130146>
- Chacha JJ, Sotto MN, Peters L, Lourenço S, Rivitti EA, Melnikov P. Peripheral nervous system and grounds for the neural insult in leprosy. *An Bras Dermatol.* 2009;84:495-500. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962009000500008>
- Rodríguez G, Pinto R, Gómez Y, Rengifo ML, Estrada OL, Sarmiento M, *et al.* Pure neuritic leprosy in patients from a high endemic region of Colombia. *Lepr Rev.* 2013;84:41-50.
- Jardim MR, Antunes SL, Santos AR, Nascimento OJ, Nery JA, Sales AM, *et al.* Criteria for diagnosis of pure neural leprosy. *J Neurol.* 2003;250:806-9. <https://doi.org/10.1007/s00415-003-1081-5>
- Jardim MR, Antunes SL, Simons B, Wildenbeest JG, Nery JA, Illarramendi X, *et al.* Role of PGL-I antibody detection in the diagnosis of pure neural leprosy. *Lepr Rev.* 2005;76:232-40.
- Sehgal VN, Sardana KS. «Intriguing» repercussions of primary neuritic leprosy during the evolution of leprosy across the leprosy spectrum. *Int J Dermatol.* 2006;45:1121-3. <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2006.02882.x>
- Hui M, Uppin MS, Challa S, Meena AK, Kaul S. Pure neuritic leprosy: Resolving diagnostic issues in acid fast bacilli (AFB)-negative nerve biopsies: A single centre experience from South India. *Ann Indian Acad Neurol.* 2015;18:292-7. <https://doi.org/10.4103/0972-2327.162284>
- Antunes SL, Chimelli L, Jardim MR, Vital RT, Nery JA, Corte-Real S, *et al.* Histopathological examination of nerve samples from pure neural leprosy patients: Obtaining maximum information to improve diagnostic efficiency. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2012;107:246-53. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000200015>
- Theuvenet WJ, Miyazaki N, Roche P, Shrestha I. Cytological needle aspiration of the nerve for the diagnosis of pure neural leprosy. *Int J Lepr Other Mycobact Dis.* 1993;61:597-9.
- Grossi MA, Leboeuf MA, Andrade AR, Bühner-Sékula S, Antunes CM. Risk factors for ML Flow seropositivity in leprosy patients. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008;41(Suppl.2): 39-44. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822008000700009>

16. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Guía de Atención Integral de la Lepra. 2012. Fecha de consulta: 23 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/GUIA%20DE%20ATENCI%C3%93N%20DE%20LEPRA.pdf>
17. **Cardona-Castro N, Beltrán JC, Ortiz A, Vissa V.** Detection of *Mycobacterium leprae* DNA in nine-banded armadillos (*Dasypus novemcinctus*) from the Andean region of Colombia. *Lepr Rev.* 2009;80:424-31.
18. **Truman RW, Singh P, Sharma R, Busso P, Rougemont J, Paniz-Mondolfi A, et al.** Probable zoonotic leprosy in the southern United States. *N Engl J Med.* 2011;364:1626-33. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1010536>
19. **Talhari S, Garrido N, Oliveira G, Leide M.** Hanseníase. 4.<sup>a</sup> ed. Manaus: Gráfica Tropical; 2006. p. 216.
20. **Clark BM, Murray CK, Horvath LL, Deye GA, Rasnake MS, Longfield RN.** Case-control study of armadillo contact and Hansen's disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78:962-7.
21. **Smith WC, Anderson AM, Withington SG, van Brakel WH, Croft RP, Nicholls PG, et al.** Steroid prophylaxis for prevention of nerve function impairment in leprosy: Randomised placebo controlled trial (TRIPOD 1). *BMJ.* 2004;328:1459. <https://doi.org/10.1136/bmj.38107.645926.AE>

## ENSAYO

# Desafíos del análisis de la situación de salud en Colombia

Carlos Enrique Yepes<sup>1,2</sup>, Yuly Andrea Marín<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Unidad de Investigaciones y Docencia, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

“Los hombres se complacen en mirar por un tubo; si este está enfocado justamente para su vista, lo elogian y lo enaltecen. Pero si alguien cambia el enfoque y, en consecuencia, los objetos aparecen borrosos, se desconciertan, y si bien no desprecian el tubo, no saben reenfocarlo solos. Se sienten tranquilos y prefieren dejarlo”. GOETHE

El análisis de la situación general o local de la salud pasó de ser un asunto exclusivamente técnico del sector de la salud a convertirse en un asunto político, con implicaciones para la población objeto del análisis y para quienes toman las decisiones, ya que involucra las esferas del poder, así como aspectos económicos, sociales y culturales de suma importancia.

Como función esencial de la salud pública, dicho análisis se sustenta en parámetros de evaluación que permiten orientar su desarrollo y medir sus implicaciones, lo cual constituye el primero de los retos que enfrenta; sin embargo, sus desafíos van más allá de los criterios técnicos planteados en el año 2000 por la Organización Panamericana de la Salud.

Las dinámicas locales en las cuales se inserta el análisis de la situación de salud están cada vez más permeadas por procesos de globalización que, a su vez, demandan la articulación de las políticas internacionales adoptadas por el país. La transición demográfica y epidemiológica requiere dar cuenta de perfiles heterogéneos de temas que cobran importancia, que comprenden la salud mental, la laboral y la ambiental.

Además, tal análisis se hace más complejo en un contexto como el nuestro, con profundas desigualdades aún por subsanar, y en el marco del Sistema de Seguridad Social en Salud, lo cual implica desafíos técnicos y políticos, así como de conocimiento y de articulación.

**Palabras clave:** salud pública; sistemas de salud; política social; objetivos de desarrollo sostenible; equidad en salud; necesidades y demandas de servicios de salud.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3594>

### The challenges of health situation analysis in Colombia

General and local health situation analyses have increasingly become a political issue with implications for the population under study and for decision makers, as it involves the spheres of power, and entails economic, social and cultural responsibilities.

As an essential function of public health, health situation analysis has assessment parameters that make it possible to direct its development and measure its implications. This is where the first challenge lies. However, the most important ones go beyond the technical criteria established in the year 2000 by the Pan American Health Organization.

The local dynamics where health situation analyses are inscribed, are increasingly more influenced by globalization processes, which in turn demand that international policies be articulated in our country, as is the case with the Sustainable Development Goals. Moreover, the demographic and epidemiological transition requires accounting for heterogeneous profiles including mental, occupational and environmental health.

In addition, complexity increases in a context like ours, with deep inequalities that should be addressed within the framework of the Social Security System, which imply challenges in terms of knowledge, technical aspects, articulation, context, coherence, and policies.

**Key words:** Public health; health systems; public policy; sustainable development goals; health equity; health services needs and demand.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3594>

### Contribución de los autores:

Ambos autores participaron en igual medida en la revisión del tema y la escritura del ensayo.

El análisis de la situación de salud referido a un hecho específico o coyuntural en alguna región, o al comportamiento de uno o varios fenómenos en el tiempo, permite caracterizar tendencias (1) y, por ello, implica una gran responsabilidad. Desde una perspectiva sistémica, es clara la gran cantidad de elementos involucrados en el análisis de la situación de salud y sus diferentes niveles de relación, los cuales se expresan por medio de múltiples condiciones y factores determinantes, por lo que puede afirmarse que se trata de un asunto muy complejo que exige una aproximación integral e integradora.

De lo anterior da cuenta la Organización Panamericana de la Salud (OPS) al concebir el análisis de la situación de salud como el conjunto de “procesos analítico-sintéticos que abarcan diversos tipos de análisis y permiten caracterizar, medir y explicar el perfil de salud-enfermedad de una población, incluyendo los daños y problemas de salud, así como sus determinantes, sean estos competencia del sector salud o de otros sectores” (2). De ahí que su aplicación local, regional, nacional o global modifica las responsabilidades y las funciones de quienes se encargan de la captación de los datos, los procesos analíticos y, por último, de la adopción de decisiones según los objetivos de cada nivel.

Dicho análisis permite determinar las necesidades y facilitar la ‘priorización’ en salud, y sustenta la formulación de estrategias de intervención y su consecuente evaluación. Todo ello exige complejos procesos de negociación política que implican la movilización de cantidades considerables de recursos y la definición de criterios en las instituciones responsables.

Los fundamentos de este análisis situacional son las relaciones establecidas entre la dialéctica de la salud y la enfermedad en un espacio geopolítico y en un tiempo determinado, y las condiciones de vida de la población implicada (3). En lo concerniente a las poblaciones, dicho análisis necesariamente involucra aspectos generales históricos, geográficos, demográficos, sociales, económicos, políticos, culturales y, por supuesto, epidemiológicos, así como aquellos inscritos en la esfera de lo doméstico, lo relacional y lo privado.

Correspondencia:

Carlos Enrique Yepes, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Carrera 51D N° 62-29, oficina 314, Medellín, Colombia  
Teléfono: (574) 219 6040; fax: (574) 219 6042  
ceyepes@hptu.org.co

Recibido: 24/08/16; aceptado: 15/06/17

En resumen, se establece en su marco una relación de determinación que va desde los niveles más generales hasta los más singulares, y que opera en sentido contrario en una relación de condicionamiento.

Es justamente en el entrecruzamiento de los niveles general, particular y singular de determinación de la realidad (4), donde se encuentra la explicación de la relación entre lo biológico y lo social mediante la articulación de los modos de vida (sociedad), las condiciones de vida (grupos poblacionales) y los estilos de vida (individuos). La situación de salud del individuo, del grupo social y de la sociedad se enmarca en cada momento histórico, y está determinada por procesos físicos, químicos, biológicos, sociales, tecnológicos e ideológicos que, a su vez, están predeterminados por los primeros (5). En ese mismo sentido, el proceso de salud y enfermedad, entendido como un proceso social, tiene un carácter histórico evidenciado en las tendencias de los análisis situacionales efectuados en diferentes periodos y territorios que, más allá de reflejar los perfiles epidemiológicos, ayudan a entender las diferencias entre grupos poblacionales y clases sociales y su vinculación a los procesos estructurales y de superestructura (6).

En este marco referencial se inscribe la presente reflexión sobre los retos que implica el análisis de la situación de salud, primero, a partir de las funciones esenciales de la salud pública y, en segundo lugar, en el contexto de la globalización y de los “objetivos de desarrollo sostenible”. Por último, se discuten los desafíos de dicho análisis en el contexto del Sistema General de Seguridad Social en Salud, del Plan Decenal de Salud Pública y de la Política de Atención Integral en Salud en Colombia, y se señalan algunas posibles respuestas frente a tales retos.

En el año 2000, el Consejo Directivo de la OPS, en colaboración con los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) y el Centro Latinoamericano de Investigaciones en Sistemas de Salud (CLAISS), aprobó la iniciativa del fortalecimiento de la salud pública en las Américas, con el fin de mejorar sus prácticas y fortalecer el liderazgo mediante la definición y medición de sus funciones esenciales. El seguimiento, la evaluación y el análisis de la situación de salud, es la primera de las once funciones esenciales de la salud pública establecidas, la cual debe medirse mediante siete parámetros (7).

La medición de tales parámetros constituye el primer reto. El objetivo es hacer una evaluación actualizada de la situación de la salud y de sus tendencias en cada país, con base en los factores determinantes, fundamentalmente, las desigualdades frente a los riesgos, los daños y el acceso a los servicios. Es difícil hacer una evaluación actualizada cuando no se dispone de la información de base, o la existente presenta limitaciones significativas de calidad. Para la construcción del análisis de la situación de salud del 2016 en Colombia, por ejemplo, se consultó la información correspondiente al periodo de 2005 a 2014 (8), es decir, datos referidos al pasado reciente.

Por otro lado, la caracterización y el análisis de los factores determinantes requieren de modelos teóricos que den cuenta de la complejidad del objeto de análisis, y de métodos y técnicas que permitan abordar estos fenómenos desde un punto de vista que trascienda lo exclusivamente disciplinario. Resulta relevante entender cuál es el modelo teórico que subyace al análisis de la situación de salud para explicar dicha situación en una población, puesto que el enfoque basado en los factores sociales determinantes de la salud propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la llamada medicina social latinoamericana, implica supuestos diferentes para la comprensión del proceso de salud y enfermedad y, por lo tanto, una aproximación distinta a la recolección de los datos y a su análisis, así como a las causas de las desigualdades en salud, lo cual necesariamente establece diferencias sustanciales a la hora de adoptar decisiones (9).

Los siguientes son los parámetros mencionados.

*Determinar las necesidades de salud de la población, los riesgos en salud y la demanda de servicios de salud.* Es importante aclarar que, en la práctica de la salud pública, aún no se ha superado la concepción de la necesidad como carencia. Si bien Max Neef, en su libro “Desarrollo a escala humana” (10), marca un hito al romper con la concepción clásica del concepto de necesidad en el campo de la economía, concibiéndolo en términos de potencialidad, no es este al que se alude al referirse a la población sujeto de intervenciones en salud pública, ni tampoco al que recurren la mayoría de los planificadores de la salud.

Por otro lado, la interpretación del concepto de riesgo en salud también ha sufrido un cambio marcado por el interés economicista que impera en la actualidad, lo cual limita su análisis y su

medición. El concepto del riesgo de enfermar o de morir en el contexto de la seguridad social clásica pretendía ser integral y universal, mientras que el concepto de riesgo desde la lógica de la protección social actual, responde a intereses paliativos y a una perspectiva de estado minimalista (11,12), y se refiere exclusivamente al riesgo financiero de enfermar o de morir; en otras palabras, la principal preocupación es quién paga por una enfermedad o una muerte.

Por último, se debe señalar que la gran mayoría de los estudios de oferta y demanda de servicios de salud, se centran en la oferta más que en la demanda, lo cual se explica por la aún incipiente forma de determinar, real e íntegramente, la relación de las circunstancias que llevan a la comunidad a sentirse enferma, tener la necesidad de consultar y hacerlo efectivamente. Mientras siga habiendo tantas limitaciones conceptuales y operativas para abordar la demanda, la evaluación de este aspecto seguirá siendo un reto. Más allá del inventario de recursos sanitarios y de señalar las barreras percibidas para el acceso a los servicios de salud en el análisis de la situación de salud (13,14), se requieren elementos que evidencien las relaciones existentes entre las necesidades de la población, la oferta sanitaria, las causas de las barreras para el acceso y los intereses de los diferentes implicados en esta dinámica.

*Manejo de las estadísticas vitales y la situación específica de grupos de especial interés o de mayor riesgo.* La selección de estos grupos de interés está permeada por decisiones ancladas en intereses políticos, así como en determinados paradigmas y modelos teóricos. En contextos heterogéneos como el colombiano, se han ido adoptando enfoques diferenciales en la formulación de las políticas públicas, e, incluso, en el análisis de la situación de salud, al considerar aspectos como el “ciclo de vida, la orientación sexual o la identidad de género, la pertenencia étnica, la discapacidad y las situaciones generadoras de inequidades sociales (desplazamiento forzado, trabajo sexual, región de origen o de residencia)” (14,15). Sin embargo, la comprensión de la situación de salud de estos grupos y las desigualdades que padecen requiere, además, superar el subregistro de los indicadores básicos, y propiciar la búsqueda de información y un análisis que favorezca su comprensión. Para citar un ejemplo, las etnias se consideran como una sola categoría sin reconocer las diferencias culturales que existen entre las poblaciones indígenas, los afrocolombianos y el pueblo gitano o

rom, diferencias que pueden explicar las desigualdades en su situación de salud y orientar intervenciones más acertadas (16).

*Generación de información útil para la evaluación del desempeño de los servicios de salud.* Es muy importante que esta evaluación contemple los intereses de todas las partes involucradas. El desempeño de los servicios de salud se está evaluando a partir del principio de eficiencia como fin en sí mismo, y no como medio para el bienestar. De ahí la importancia de definir el uso del término "utilidad", pues en la actualidad parece responder exclusivamente a su acepción financiera y no a la social. Variables como el aseguramiento, la infraestructura y el recurso humano, sugeridas por el Ministerio de Salud en la guía para la elaboración del análisis de la situación de salud (14), son insuficientes para evaluar el desempeño de los sistemas y servicios de salud, más cuando se sabe que el aseguramiento no implica el acceso real ni necesariamente da respuesta a las necesidades en salud de la población. Un acercamiento más amplio, tanto conceptual como metodológico, a la evaluación de los sistemas y servicios de salud, puede aportar elementos para la comprensión y la transformación de nuestra situación actual.

*Recursos de otros sectores que aportan a la promoción de la salud y el mejoramiento de la calidad de vida.* Mientras se tengan vacíos en la definición y delimitación de la promoción de la salud y del objeto de la salud pública, será sumamente difícil establecer los recursos provenientes de otros sectores que realmente se invierten en este campo. En este sentido, no es frecuente encontrar estudios como el de Dever (17) sobre "un modelo epidemiológico para el análisis de la política de salud", en el cual se reconoce, por ejemplo, que la distribución del gasto en salud en los Estados Unidos en 1975 correspondía a los rubros equivalentes a los cuatro grandes factores determinantes en el campo de la salud establecidos por Lalonde y Blum. El desarrollo y la aplicación de este modelo o de otros similares permitirían una aproximación adecuada a estos aspectos. La adopción de una visión amplia de la promoción de la salud y, por lo tanto de los sectores implicados en ella, permitiría detectar un mayor número de instituciones y organizaciones que contribuyan a mejorar la salud de la población en los territorios.

*Desarrollo de la tecnología e intercambio de experiencias y métodos para el manejo, interpretación y comunicación de la información a los*

*responsables de la salud pública (otros sectores, proveedores y ciudadanos).* Una de las grandes limitaciones en este campo se relaciona con el talento humano en salud, especialmente, el dedicado a la salud pública, situación que se acentúa a nivel municipal y que involucra diferentes aspectos: en primer lugar, el desarrollo de capacidades y experiencia del personal a cargo del análisis de la situación de salud; en segundo lugar, las condiciones laborales del personal de salud pública, caracterizadas por la gran rotación y las contrataciones tardías para periodos cortos (17,18); y, por último, los problemas para articular el trabajo de las diferentes disciplinas y dependencias a nivel territorial, articulación necesaria para dar cuenta de los factores sociales determinantes que deben considerarse en el análisis de la situación de salud (17).

Pasando a otro punto, si bien existen avances en la información que se recolecta en el Sistema Integral de Información de la Protección Social (SISPRO), persisten problemas en la documentación sobre las variables de salud y otros ámbitos necesarios para dar cuenta de los factores sociales determinantes a nivel territorial, así como en la oportunidad del suministro de la información, la concordancia entre las diferentes fuentes oficiales y de estas con la realidad de los territorios, y en la articulación de los análisis de la situación de salud departamentales y municipales. Además, la información necesaria para realizar dicho análisis, específicamente para la 'priorización' de problemas, debe provenir de diferentes fuentes y metodologías, dado que los datos estadísticos convencionales y las metodologías cuantitativas empleadas en la 'priorización' de necesidades pueden ser insuficientes para comprender la realidad. En el diálogo con las instituciones y las comunidades, es necesario dar cabida a metodologías cualitativas que ayuden a entender la situación de salud de los territorios y a mejorar los procesos de participación y de empoderamiento que se requieren para que las propuestas institucionales que surgen del análisis de la situación de salud efectivamente surtan efecto (17).

Por último, hay dificultades en la entrega de la información proveniente del análisis de la situación de salud a los responsables de las decisiones (lo cual implica tomarlas sin considerar el diagnóstico y desaprovechar la oportunidad de mejorar el impacto), y a la comunidad. Esto quiere decir, por un lado, que un gran porcentaje de la población no accede a información suficiente, oportuna y pertinente, y por otro, que los intereses de quienes

poseen y financian los medios de comunicación con frecuencia no coinciden con los propios de la salud pública.

*Determinación y desarrollo de instancias de evaluación de la calidad de los datos recolectados y de su correcto análisis.* En el análisis de la situación de salud, constituye un gran reto el establecimiento de estándares de calidad que respondan a las necesidades locales desde una perspectiva global y posibiliten el desarrollo de procesos de análisis pertinentes que exhiban coherencia social, política y económica.

Para entender las implicaciones del análisis de la situación de salud y de su evaluación con base en los parámetros descritos, es necesario considerar diferentes aspectos globales y locales. Hoy más que nunca todos los aspectos de la vida cotidiana relacionados con lo global están interrelacionados y, por consiguiente, se requiere de una visión totalizadora e integradora. El contexto en el cual nos inscribimos como resultado de la globalización, responde a dos referentes reconocidos: “la perspectiva del sistema mundo, [entendida] como la sucesiva expansión del sistema capitalista, proveniente desde la época del Descubrimiento, y la otra como la revolución tecnológica y electrónica actual que soporta redes complejas que atrapan a los individuos en los mercados financieros y en los medios de comunicación, incluidos los actores sociales, culturales y políticos, y no sólo los económicos” (19). Ello pone de relieve el problema del modelo económico dominante que privilegia los aspectos financieros y hace énfasis en el desarrollo instrumental para perfeccionar el modo de producción capitalista con las corrientes neoliberales. Se reafirma, así, el papel del mercado, a pesar de sus imperfecciones, y se deja exclusivamente al Estado la función de la modulación, y este, al abstenerse de intervenir, facilita el desarrollo del libre mercado, salvo en casos extremos. La sociedad, por su parte, es el sustrato para que ambos existan y se justifiquen (7).

En este contexto, son varios los retos del análisis de la situación de salud: insertar su aporte en los procesos de desarrollo y en sus diferentes dimensiones convirtiendo la intervención intersectorial en la gran estrategia; evidenciar la necesidad de avanzar en el desarrollo de un sistema de salud equitativo, coherente con el carácter público de la responsabilidad en salud del Estado (20), y aprovechar al máximo todo el arsenal de conocimiento científico y tecnológico para ponerlo al servicio de los intereses colectivos.

Por otra parte, las decisiones en torno a las políticas públicas que rigen el sistema de salud “están influenciadas por el contexto político, es decir, se hacen bajo restricciones institucionales, generalmente requieren de negociación o acuerdos debido a la presión de grupos de interés, y están influenciadas por muchos tipos de ideas, además de las ideas que provienen de la investigación” (21). Están, además, los desafíos éticos que hoy se plantean al hacer el análisis de la situación de salud, pues solo si se tiene una gran claridad sobre los principios éticos y se aprovecha de manera óptima el conocimiento generado por la ciencia, se logra el ambicioso objetivo de convertir la salud en medio y fin de un desarrollo humano sostenible.

En el marco de la globalización, la transición demográfica y los cambios progresivos de los factores determinantes que se vienen dando en Colombia, han determinado que la transición epidemiológica se experimente de forma diferente, ya que todavía se padecen enfermedades infecciosas y otras dificultades producto de las precarias condiciones de vida de la población y, simultáneamente, las enfermedades crónicas y degenerativas no dan tregua (22). Esta situación se agrava con el resurgimiento de enfermedades como la tuberculosis, que, asociada al sida, produce considerables víctimas. Todo ello es agravado por problemas de índole ambiental, y de salud mental y laboral, que obligan a convertir el análisis de la situación de salud en una herramienta eficaz para la comprensión integral y totalizadora de esta compleja situación, de manera que pueda enfrentársela de la mejor manera.

Este reto se hizo visible en los objetivos de desarrollo del milenio y ha cobrado mayor fuerza en los objetivos de desarrollo sostenible. En la Cumbre de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo Sostenible del 2015, los Estados Miembros aprobaron la Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible, en la cual se formularon los 17 objetivos de desarrollo sostenible. En el objetivo 3, directamente relacionado con el sector de la salud, se establece el deber de “garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades” y se trazan metas similares a las planteadas en los objetivos de desarrollo del milenio, como la reducción de la mortalidad materna e infantil y del impacto de la epidemia de enfermedades infecciosas como el VIH/sida, la malaria y la tuberculosis, así como el acceso a los servicios de salud sexual y reproductiva. Estas, sin embargo, se amplían con otras nuevas que dan cuenta de la transición

epidemiológica y demográfica, como la reducción de la muerte prematura por enfermedades crónicas no transmisibles, la prevención y el tratamiento del abuso de sustancias adictivas, la reducción de las muertes por accidentes de tránsito, químicos y contaminantes, y la cobertura sanitaria universal (23).

Desde una visión amplia del concepto de salud se evidencia, además, que la mayoría de los objetivos de desarrollo sostenible necesariamente inciden en ella, ya que la seguridad alimentaria, la educación, el trabajo decente, la igualdad de género, el acceso al agua, el saneamiento y la energía, la reducción de la pobreza y el cuidado del medio ambiente, son determinantes en el proceso de salud y enfermedad.

Dichos objetivos representan un gran desafío para nuestro país pues, a pesar de los esfuerzos desplegados para alcanzar las metas trazadas en los objetivos de desarrollo del milenio, los avances logrados en la reducción de la mortalidad infantil no tuvieron el mismo alcance en indicadores como la mortalidad materna y la epidemia de VIH, a lo cual se suman las nuevas metas en enfermedades no transmisibles, que hoy representan la mayor carga de los problemas de salud en Colombia, así como la deuda frente a la cobertura universal y el acceso a los servicios de salud.

En Colombia persisten las desigualdades en diferentes ámbitos y las brechas entre regiones, entre áreas rurales y urbanas y las de género, entre otras. Un examen detallado de los resultados muestra que en regiones como Chocó, Cauca y La Guajira, la tasa de pobreza sigue estando por encima del 50 %, principalmente en la población rural. Las desigualdades entre las áreas rurales y las urbanas se perciben en indicadores como la mortalidad materna (95 por 100.000 nacidos vivos en el campo frente a 46 en las ciudades). En cuanto al género, la tasa de desempleo es el doble en mujeres que en hombres (24).

La adaptación de la Agenda 2030 al contexto colombiano constituye un gran desafío. El conflicto armado que ha asolado al país, los diálogos de paz y el posconflicto, plantean exigencias especiales que hacen más complejo el logro de estas metas globales. El conflicto armado ha generado situaciones de salud claramente visibles, como las lesiones externas producto de la violencia, pero también, efectos en la salud mental (25) que deben ser incorporados en los análisis de la situación de salud a nivel nacional y local para enfrentarlos adecuadamente. Asimismo, el conflicto armado ha

limitado la capacidad de los gobiernos locales para proveer servicios, entre ellos, el de salud y otros relacionados con este (26).

La incorporación de lo global en los contextos locales está directamente relacionada con el sistema de salud y trasciende lo contemplado en la Ley 100 de 1993, ya que, más allá de las normas, hay recursos técnicos y políticas anteriores a esta que hoy siguen vigentes. El modelo de salud es mucho más que el sistema de seguridad social, e involucra, además, la estructura y el rol del Estado, y la posición que ocupa el mercado en la organización social. Así pues, es importante tener en cuenta que, aunque existen factores externos determinantes del desarrollo del modelo de salud, este juega un papel importante en la crítica situación actual de la salud pública en el país (27).

Después de dos décadas de implementación del Sistema de Seguridad Social en Salud (SGSSS), aún no se alcanza la meta de universalización de la cobertura. Aunque en un primer momento se observó un incremento progresivo en el porcentaje de población afiliada al sistema (lo cual no implica acceso real a los servicios de salud), el porcentaje de algo más del 90 % alcanzado no muestra incrementos relevantes desde hace varios años y ha sido más significativo en el régimen subsidiado que en el contributivo, con las consecuentes repercusiones económicas; asimismo, persisten desigualdades en regiones menos desarrolladas y en poblaciones rurales (28). En cuanto al acceso a los servicios de salud, a pesar de las diferencias regionales, en general, se evidencia una disminución (29), con una menor posibilidad de acceso para las poblaciones de estratos socioeconómicos bajos, de las áreas rurales o no afiliadas al sistema (30).

Estos y otros problemas estructurales de nuestro sistema de salud tienen como origen el modelo implementado por el SGSSS, el cual se sustenta en un modelo de mercado regulado para el aseguramiento en salud y en la teoría neoclásica de bienes, lo que permitió la entrada de proveedores privados de servicios individuales (bienes privados), separando, así, la gestión sanitaria individual de la colectiva (bienes públicos), la cual recae en manos del Estado (Hernández M. Neoliberalismo en salud: desarrollos, supuestos y alternativas. En: Memorias del 1er Seminario La Falacia Neoliberal: Crítica y alternativas; 2002 Abr. 4-5; Santa Fe de Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2002. p. 347-61). Este supuesto teórico generó efectos

deletéreos en la salud pública, lo que, aunado a la carencia inicial de un plan nacional de salud pública, ocasionó en sus comienzos un retroceso en los indicadores de enfermedades tropicales, en la vacunación y el control de la tuberculosis (31). Solo hasta el 2007 se promulgó el Plan Nacional de Salud, 2007-2010, mediante la Ley 1122, y en el 2011 se definió el Plan Decenal de Salud Pública (2012-2021) mediante la Ley 1438, el cual se propone como la “carta de navegación para dar respuesta a los desafíos de salud pública” (32).

La reciente formulación de una política nacional de salud pública proyectada a un mediano plazo también implica un reto, dada la limitada capacidad técnica de los territorios para la gestión de la salud pública y la ejecución presupuestal de los recursos destinados para tal fin (32).

Colombia presenta hoy un perfil epidemiológico producto de la transición demográfica, dominado por las enfermedades crónicas no transmisibles, las cuales pasaron de representar el 76 % de la carga total de enfermedad en el 2005, al 83 % en el 2010. Sin embargo, en el análisis por regiones, se evidencia que las enfermedades transmisibles siguen siendo relevantes en zonas dispersas y selváticas, las causas externas en zonas de conflicto armado, y las materno-infantiles en las zonas de mayor pobreza (32). Cuando se elabora el análisis de la situación de salud debe darse cuenta de estas realidades y develar sus particularidades en los territorios, para permitir una planeación en salud pública pertinente, eficaz y eficiente.

Como herramienta para la planeación y gestión de la salud de la población, el análisis de la situación de salud cobra relevancia a la luz de la crisis financiera que atraviesa el sistema, toda vez que dicha evaluación debe incluir, no solo elementos económicos, sino un buen diagnóstico en salud para el manejo adecuado de los recursos. En el panorama actual, persisten las enfermedades infecciosas, otras han reaparecido, y prevalecen las crónicas no transmisibles, todo ello acompañado del aumento en el gasto de salud derivado del creciente desarrollo de la tecnología y el alto costo de los medicamentos, así como de las expectativas de una ciudadanía más informada (33) en el contexto de una ley estatutaria que aspiraba a hacer explícitas las exclusiones y lograr el acceso de la población a todos los servicios y tecnologías no excluidas como meta para el 2017 (20).

Esta creciente demanda de servicios de salud, requiere que la información del análisis de la

situación de salud contribuya a una gestión eficiente de los recursos que garantice la salud de la población y pueda, incluso, disminuir el gasto debido al empleo de medios de alta complejidad. El reto va más allá de mostrar perfiles epidemiológicos. Se requiere que dicho análisis facilite los elementos que permitan modificarlos e intervenirlos en estadios tempranos, y se traduzcan en decisiones políticas para una gestión sanitaria eficiente; de lo contrario, será una información inerte, útil solo como referente teórico, lo cual desvirtúa su propósito inicial. De ahí que los desafíos técnicos y éticos planteados requieran de decisiones políticas con efecto en la situación financiera del sistema.

Como una respuesta a los problemas de salud de la población en el 2016, se formuló la política de atención integral en salud (34), cuyos antecedentes normativos son la Sentencia T-760 de la Corte Constitucional de 2008 (35), la Ley 1438 de 2011 (36) y la Ley Estatutaria en Salud 1751 de 2015 (20), en las cuales se exigió la adopción de un modelo de atención en salud. El modelo integral de atención en salud propuesto en dichas normas, incorpora las líneas estratégicas de atención primaria en salud orientadas hacia la salud familiar y comunitaria, el cuidado, la gestión integral del riesgo y el enfoque diferencial; además, reconoce la heterogeneidad del territorio proponiendo una gestión diferenciada para las zonas urbanas, rurales y dispersas. En el marco de esta política, el análisis de la situación de salud tiene un papel protagónico, puesto que su implementación requiere que las entidades territoriales conozcan la situación de sus poblaciones.

Esta nueva propuesta, que incluye elementos reclamados por diversos sectores desde hace años, permite abrigar esperanzas de ir transformando nuestro sistema de salud, sin desconocer que el contexto en que se implementará continúa siendo el de un sistema basado en el aseguramiento y en la gestión del riesgo financiero, y en la continua tensión entre la salud como derecho humano fundamental y la concepción de la salud como objeto de intercambio comercial o mercancía a la cual no todos pueden acceder.

## Conclusiones

En la última década se han presentado avances importantes en términos de la formulación de políticas públicas, como el Plan Decenal de Salud Pública y la Política de Atención Integral en

Salud, de la elaboración de guías metodológicas y lineamientos estratégicos para su implementación, de los sistemas de información y de las capacidades técnicas para la planificación en salud a nivel local.

Además, la inclusión de los enfoques diferenciales en cuanto al territorio, los derechos y los factores sociales determinantes de la salud, seguramente permitirá ampliar la forma de comprender la realidad de la situación de salud. Sin embargo, ante la persistencia de profundas desigualdades y de un sistema de salud en constante crisis, la reflexión sobre los desafíos que enfrenta el análisis de la situación de salud resulta relevante y de gran actualidad. Se resumen a continuación los principales desafíos para este análisis.

*1. Desafíos de conocimiento:* sin abandonar la mirada epidemiológica y cuantitativa tradicional, se requieren aproximaciones cualitativas que contemplen el conocimiento de las instituciones y comunidades locales, de sus contextos, necesidades y prioridades. Para ello, deben mejorarse los sistemas de información para hacerlos más ágiles, así como los procesos de intercambio de dicha información y la adopción de decisiones oportunas y coherentes. En ese sentido, la construcción de indicadores cuantitativos y cualitativos, con claros criterios de exigencia técnica y rigor científico, permitirá un manejo más integral de los problemas sanitarios y el paso de una planificación normativa a una estratégica (37), con lo cual la población objeto de las mediciones y de las políticas tendrá un rol protagónico.

*2. Desafíos técnicos:* ante la necesidad de desarrollar modelos, teorías, métodos, técnicas e instrumentos para medir adecuadamente las diversas funciones esenciales de salud pública, es imprescindible revisar la forma en que actualmente se hace el análisis de la situación de salud y discutir si estos criterios están actualizados y son pertinentes, o si deben replantearse. El contraste entre los propósitos del análisis y los enfoques y mediciones establecidas en las guías puede abrir el camino para ampliar la visión y establecer nuevos criterios técnicos. Este desafío, además de directrices, requiere de un recurso humano que las ejecute, por lo cual es urgente reflexionar sobre las implicaciones de la inadecuada gestión del talento humano en salud porque, de otra manera, las capacidades y experiencias que se desarrollan en los territorios no producirán los cambios esperados.

*3. Desafíos de articulación:* el análisis de la situación de salud demanda de un trabajo de articulación entre lo global y lo local, entre políticas y normas, entre modelos teóricos y enfoques, y entre sectores. Se deben compaginar los requisitos de las políticas internacionales y nacionales con la situación de salud del país y las particularidades de los territorios, ya que los objetivos que se trazan para el país se construyen con la suma de los esfuerzos locales; si no se comprende esto, seguiremos escondiendo en promedios nacionales las desigualdades territoriales. La articulación entre modelos y enfoque demandará esfuerzos para hacer realidad la apuesta por los derechos humanos y la atención a los factores sociales determinantes de la salud en el marco del modelo neoliberal.

Dado que el análisis de la situación de salud es un insumo para la planificación en salud, se requiere adoptar las políticas y normas que rigen dicha planificación. La Ley Estatutaria en Salud apenas comienza a abrirse camino en el contexto del aseguramiento en salud, y es de prever que su implementación deje ver la incompatibilidad de los dos modelos subyacentes.

Por otra parte, la política de atención integral en salud y el modelo que propone tendrán que armonizarse en el marco del sistema de salud sin que se haya superado la fractura entre lo individual y lo colectivo.

También, se requiere la articulación entre las partes involucradas. En el sector de la salud ya es un reto articular lo local, lo regional y lo nacional, y la acción de las autoridades sanitarias, de las aseguradoras e instituciones prestadoras de servicios de salud. Además, esta visión amplia de la salud y su análisis basado en los factores sociales determinantes, requiere la coordinación de diferentes sectores que aporten a la información, el análisis y la construcción de propuestas.

Por último, debe promoverse una articulación entre las instituciones y la comunidad, que supere las tradicionales prácticas de intervenciones verticales desde arriba y posibilite la participación y la gestión desde abajo.

*4. Desafíos de contexto:* a partir de las directrices nacionales, el análisis de la situación de salud como herramienta requiere de flexibilidad para dar cuenta de la situación de salud en los contextos específicos, lo cual exige ir más allá del mejoramiento de los procesos normativos y técnicos, para conocer los procesos estructurales

económicos, políticos y sociales que han afectado históricamente a cada territorio. Los problemas de salud pública en el país tienen una distribución territorial que debe abordarse de forma diferencial para comprender las causas estructurales de las desigualdades. Asimismo, la salud ambiental, la ocupacional y la mental, que antes no se visibilizaban en las agendas públicas, deberán abordarse desde una perspectiva territorial para su cabal comprensión.

**5. Desafíos de coherencia:** debe mantenerse una relación estrecha entre los propósitos consignados en el análisis de la situación de salud, los métodos empleados en su elaboración y la entrega de la información en los diferentes contextos y a las diversas partes involucradas, con el fin de proponer de forma coherente intervenciones adecuadas y efectivas. Esta tarea se dificulta cuando los intereses económicos priman sobre la salud pública y el bienestar colectivo.

**6. Desafío político:** la importancia del análisis de la situación de salud para la formulación de políticas y planes en los diferentes niveles, requiere posicionar el tema en las agendas públicas y, por qué no, en las privadas. Este desafío va más allá del desarrollo técnico y normativo, y exige mejorar los procesos de divulgación y apropiación de la información, no solo por parte de las instituciones, sino también de las comunidades.

Además de formular directrices, el Estado debe ejercer su rectoría y velar por su cumplimiento; por su parte, la comunidad debe organizarse para transformarse de receptora de políticas en protagonista de las decisiones en salud. De no lograrlo, las buenas intenciones de los objetivos de desarrollo sostenible y de las políticas de salud no serán más que otro intento fallido por poner el bienestar colectivo en el centro de los muchos intereses en juego.

La academia tiene una gran responsabilidad en este sentido, no solo en cuanto a la formación de un recurso humano que responda a las necesidades de salud de la población, sino también propiciando procesos de investigación, pues es esta la que genera el desarrollo y no al contrario, por lo cual es importante comprometer a todos los sectores en su patrocinio para que el sector educativo no siga asumiendo solo esa carga.

Es importante recordar que con esto no se pretende fortalecer las llamadas élites del conocimiento, que tienden a estar al servicio de intereses particulares,

lo cual genera mayor inequidad (38). Por el contrario, debe recabarse más formación de investigadores competentes (39) cuyo trabajo incida directamente en los responsables de las decisiones. Hoy el científico tiene que ser un gran político, de manera que sepa posicionar su conocimiento al más alto nivel y, así, darle viabilidad a las intervenciones que se desprenden de sus estudios (40).

El análisis de la situación de salud debe servir a todos aquellos comprometidos con las transformaciones en este campo, sobre todo cuando se trata de posiciones que contradicen los planteamientos hegemónicos.

### Conflicto de intereses

Los autores manifestamos que no existe conflicto de intereses con respecto a este trabajo.

### Financiación

El presente trabajo se realizó con recursos propios de los autores.

### Referencias

1. **Agudelo CA.** ¿Podemos comprender las problemáticas de salud pública? En: Franco S, editor. La salud pública hoy. Bogotá, D.C.: Universidad Nacional de Colombia; 2003. p. 424-33.
2. **Organización Panamericana de la Salud.** Resúmenes metodológicos en epidemiología: análisis de la situación de salud (ASIS). Boletín Epidemiológico. 1999;20:1-3. Fecha de consulta: 11 de junio de 2017. Disponible en: [http://www1.paho.org/spanish/sha/BE\\_v20n3.pdf](http://www1.paho.org/spanish/sha/BE_v20n3.pdf).
3. **Fals O.** Participación popular: retos del futuro. Bogotá: ICFES; 1998. p. 215-32.
4. **Yajot O.** Qué es el materialismo dialéctico. Bogotá: Ediciones Suramericana, Ltda.; 1973. p. 142-7.
5. **Castellanos P.** Los modelos explicativos del proceso salud enfermedad: los determinantes sociales. En: Martínez Navarro F, Antó JM, Castellanos PL, Pili M, Marsset P, Navarro V, editores. Salud pública. Madrid: McGraw Hill-Interamericana; 1998. p. 81-102.
6. **De Infante N, Álvarez L.** Los procesos de trabajo y de salud-enfermedad: una relación dialéctica. Educ Med Salud. 1987;21:92-105.
7. **Organización Panamericana de la Salud.** Funciones esenciales de la salud pública. En: Organización Panamericana de la Salud. La salud pública en las Américas, nuevos conceptos, análisis de desempeño y bases para la acción. Washington, D.C.: Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud; 2002. p. 67-8.
8. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Análisis de situación de salud Colombia, ASIS, 2016. Bogotá: Minsalud; 2016. p. 13-4. Fecha de consulta: 11 de junio de 2016. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>.

9. **Morales C, Borde E, Eslava J, Concha S.** ¿Determinación social o determinantes sociales? Diferencias conceptuales e implicaciones praxiológicas. *Rev Salud Pública.* 2013;15:797-808.
10. **Max-Neef M.** Desarrollo a escala humana. Conceptos, aplicaciones y algunas reflexiones. Segunda edición. Barcelona: Icaria Editorial, S.A.; 1998. p. 49.
11. **Jaramillo C, Quintero A, Yepes C.** La protección social... una sombrilla. *Nuevos Tiempos.* 2004;12:107-13.
12. **Holzmann R, Jorgensen S.** Manejo social del riesgo: un nuevo marco conceptual para la protección social y más allá. Banco Mundial; 2000. Fecha de consulta: 11 de junio de 2017. Disponible en: [http://scp.com.co/ArchivosSCP/manejo\\_social\\_del\\_riesgo.pdf](http://scp.com.co/ArchivosSCP/manejo_social_del_riesgo.pdf)
13. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Análisis de Situación de Salud Colombia 2014. Bogotá: Minsalud; 2014. p. 193-208.
14. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Guía conceptual y metodológica para la construcción del ASIS de las entidades territoriales. Bogotá, D.C. Minsalud; 2014. p. 119-23. Fecha de consulta: 11 de junio de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/Guia%20ASIS%2028112013.pdf>.
15. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Plan Decenal de Salud Pública. 2012-2021. Bogotá, D.C.: Minsalud; 2012. p. 63-4.
16. **Instituto Nacional de Salud.** Una mirada al ASIS y análisis en profundidad. Informe Técnico ONS/2016-I. 7ª edición. Bogotá: INS; 2016. p. 42-78.
17. **Dever A.** Epidemiología y administración de servicios de salud. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud.; 1991. p. 417.
18. **Muñoz I, Higuera Y, Molina G, Gómez L.** Características de la gestión del talento humano en salud pública. En: Molina G, editor. Tensiones en las decisiones en salud pública en el sistema de salud colombiano: el bien común en confrontación con los intereses y prácticas particulares. Medellín: Pulso & Letra Editores; 2013. p. 275-92.
19. **Franco A.** Globalización, gobernabilidad y salud. *Rev Fac Nac Salud Pública.* 2006;24:37-45.
20. **Congreso de la República.** Ley Estatutaria 1751 de 2015. Por medio de la cual se regula el derecho fundamental a la salud y se dictan otras disposiciones. Artículo 2. Bogotá: Congreso de la República; 2015.
21. **Patiño D, Lavis J, Moat K.** Rol de la evidencia científica en las decisiones políticas relacionadas con los sistemas de salud. *Rev Salud Pública.* 2013;15:684-93.
22. **Mariachiara DC.** El perfil epidemiológico de América Latina y el Caribe: desafíos, límites y acciones. Santiago de Chile: CEPAL; 2011. Fecha de consulta: 11 de abril de 2016. Disponible en: <http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/3852/S2011938.pdf?sequence=1>
23. **Naciones Unidas.** Agenda 2030 para el desarrollo sostenible. Nueva York: Naciones Unidas; 2015. Fecha de consulta: 8 de abril de 2016. Disponible en: [http://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/3/2015/08/120815\\_outcome-document-of-Summit-for-adoption-of-the-post-2015-development-agenda.pdf](http://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/3/2015/08/120815_outcome-document-of-Summit-for-adoption-of-the-post-2015-development-agenda.pdf)
24. **Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo - PNUD.** Objetivos de Desarrollo Sostenible, Colombia. Herramientas de aproximación al contexto local. Fecha de consulta: 7 de abril de 2016. Disponible en: <http://www.co.undp.org/content/dam/colombia/docs/ODM/undp-co-ODSColombiaVSWS-2016.pdf>
25. **Médicos sin Fronteras.** Las heridas menos visibles: salud mental, violencia y conflicto armado en el sur de Colombia. *Médicos sin Fronteras;* 2013. p. 18-9. Fecha de consulta: 11 de abril de 2016. Disponible en: [http://www.doctorswithoutborders.org/sites/usa/files/Colombia\\_Report\\_2013\\_ES.pdf](http://www.doctorswithoutborders.org/sites/usa/files/Colombia_Report_2013_ES.pdf)
26. **Rodríguez L.** Los municipios colombianos y el conflicto armado. Una mirada a los efectos sobre la efectividad en el desempeño de los gobiernos locales. *Colombia Internacional.* 2009;70;93-120.
27. **Ministerio de Protección Social.** Mesa de salud pública. Diez años del SGSSS. Balance y Futuro. Medellín: Facultad Nacional de Salud Pública; 2004. p. 5-6.
28. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Seguimiento al sector salud en Colombia. Así vamos en salud. Aseguramiento. 2014. Fecha de consulta: 8 de abril de 2016. Disponible en: <http://asivamosensalud.org/indicadores/aseguramiento>
29. **Bonet-Morón J, Guzmán K.** Un análisis regional de la salud en Colombia. Bogotá: Banco de la República; 2015. Fecha de consulta: 6 de abril 2016. Disponible en: [http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura\\_finanzas/pdf/dtser\\_222.pdf](http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/dtser_222.pdf)
30. **Ayala J.** La salud en Colombia: más cobertura pero menos acceso Bogotá: Banco de la República; 2014. p. 23-26. Fecha de consulta: 6 de abril 2016. Disponible en: [http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura\\_finanzas/pdf/dtser\\_204.pdf](http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/dtser_204.pdf)
31. **Agudelo C, Cardona J, Ortega J, Robledo R.** Sistema de salud en Colombia: 20 años de logros y problemas. *Cienc Saúde Colectiva.* 2011;16:2817-28. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000600020>
32. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Plan Decenal de Salud Pública Colombia 2012- 2021. Bogotá: Minsalud; 2013.
33. **Grupo de Economía de la Salud.** El gasto y la prioridad de la salud en Colombia. Observatorio de la Seguridad Social. 2015;15:1-16.
34. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Política de Atención Integral en Salud. Bogotá: Minsalud; 2016. p. 18-9.
35. **Valencia M, Borrero Y, Pérez E, Muñoz N, Cáceres F.** Modificaciones al Sistema General de Seguridad Social en Salud a la luz de una sentencia de la Corte Constitucional de Colombia: una propuesta. *Rev Fac Nac Salud Pública.* 2009;27:360-1.
36. **Congreso de la República.** Ley 1438 de 2011. Por medio de la cual se reforma el Sistema General de Seguridad Social en Salud y se dictan otras disposiciones. Capítulo II. Bogotá: Congreso de la República; 2011.

37. **Yepes C, Martínez O.** La planificación en salud y su relación con las políticas. *Universalud*. 2014;10:100-9.
38. **Banco Mundial.** El conocimiento al servicio del desarrollo: índices del informe sobre el desarrollo mundial, 1998-1999. Washington, D.C: Banco Mundial; 1999. p. 28.
39. **Segura A, Larizgoitia I, Benavides FG, Gómez L.** La profesión de salud pública y el debate de las competencias profesionales. *Gaceta Sanitaria*. 2003;17:23-34. <http://dx.doi.org/10.1590/S0213-91112003000900005>
40. **Walt, G.** Health policy: An introduction to process and power. Johannesburg: Witwatersrand University Press: London and New Jersey: Zed Books; 1994. p. 208-18.

ORIGINAL ARTICLE

## Reporting of statistical regression analyses in *Biomédica*: A critical assessment review

Julián Alfredo Fernández-Niño<sup>1</sup>, Rosa Ivonne Hernández-Montes<sup>2</sup>,  
Laura Andrea Rodríguez-Villamizar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Salud Pública, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia

<sup>2</sup> Escuela de Salud Pública de México, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México

**Introduction:** Regression modeling is a statistical method commonly used in health research, especially by observational studies.

**Objective:** The objectives of this paper were to 1) determine the frequency of reporting of regression modeling in original biomedical and public health articles that were published in *Biomédica* between 2000 and 2017; 2) describe the parameters used in the statistical models, and 3) describe the quality of the information reported by the studies to explain the statistical analyses.

**Materials and methods:** We conducted a critical assessment review of all original articles published in *Biomédica* between 2000 and 2017 that used regression models for the statistical analysis of the studies main objectives. We generated a 20-item checklist based on four good practice guidelines for the presentation of statistical methods.

**Results:** Most of the studies were observational studies related to public health sciences (65.7%). Less than half (37.2%) of them reported using a combination of conceptual frameworks and statistical criteria for the selection of variables to be included in the regression model. Less than one quarter (22.1%) reported the verification of the assumptions of the model. The most frequently used uncertainty measure was the p-value (73.5%).

**Conclusion:** There are significant limitations in the quality of the reports of statistical regression models, which reviewers and readers need in order to correctly assess and interpret the statistical models. The results, herein, are provided as an invitation to researchers, reviewers, and editors of biomedical journals to develop, promote, and control an appropriate culture for statistical analysis and reporting in Colombia.

**Key words:** Biostatistics; data analysis; regression analysis; bias (epidemiology); Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3648>

### Reporte estadístico en los análisis de regresión en *Biomédica*: una revisión y evaluación crítica

**Introducción.** Los modelos de regresión son métodos estadísticos comúnmente utilizados en la investigación en salud, especialmente en estudios observacionales.

**Objetivos.** Determinar la frecuencia de uso de modelos de regresión en los artículos originales de biomedicina y salud pública publicados en *Biomédica* entre 2000 y 2017, describir los parámetros utilizados en los modelos estadísticos, así como la calidad de la información reportada por los estudios para explicar el análisis estadístico.

**Materiales y métodos.** Se hizo una revisión y evaluación crítica de todos los artículos originales publicados en la revista *Biomédica* entre 2000 y 2017 que utilizaron modelos de regresión en el análisis estadístico. Se construyó una lista de verificación de 20 ítems sobre la base de cuatro guías de buenas prácticas para la presentación de los métodos estadísticos.

**Resultados.** La mayoría de los estudios incluidos eran estudios observacionales relacionados con las ciencias de la salud pública (65,7 %). En menos de la mitad (37,2 %) de ellos se informó sobre el uso de una combinación de marco conceptual y criterios estadísticos para la selección de las variables incluidas en el modelo de regresión; en menos de una cuarta parte (22,1 %) se informó de la verificación de los supuestos del modelo, y la medida de incertidumbre reportada con mayor frecuencia fue el valor de p (73,5 %).

**Conclusión.** Hay limitaciones importantes en la calidad de los informes de los modelos de regresión estadísticos necesarios para la correcta evaluación y la interpretación de los modelos estadísticos por parte de los revisores y lectores. Los resultados se ofrecen como una invitación a investigadores, revisores y editores de revistas biomédicas a que promuevan el desarrollo de una cultura adecuada de análisis estadístico y presentación de informes en Colombia.

**Palabras clave:** bioestadística; análisis de datos; análisis de regresión; sesgo (epidemiología); Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3648>

#### Author's contributions:

All the authors participated in all the phases of the study.

Evidence-based medicine and public health currently serve as the predominant paradigms in the provision of health services (1). Primary, secondary, and tertiary prevention interventions for specific diseases are largely based on clinical guidelines, while public health interventions to address health problems at a population level are largely based on proven successful programs (2). Both clinical guidelines and public health programs rely mostly on quantitative research that provides evidence of the efficacy, effectiveness, and efficiency of interventions, and indicate the strength of associations between risk factors and health outcomes. Contrary to the principles of evidence-based medicine, the quality of the evidence presented by health research is usually assessed exclusively according to the type of study design (3). This widely used approach assumes that the statistical methods related to a specific study design are unbiased and free of random error and misspecification.

Regression modeling is a statistical method commonly used in health research, and especially for observational studies. The selection of the type of regression model, the selection and inclusion of model variables, and the assessment of model diagnostics are some of the key actions that should be specified and properly conducted in order to obtain valid statistical results (4). The absence or misuse of an appropriate regression modeling technique could lead to erroneous results and conclusions, and while regression modeling plays a central role in quantitative health research, little attention has been given to the appropriateness of the statistical methods used by epidemiological studies to reach results and conclusions (5). In Colombia, the national bibliographic index *Publindex* has ranked *Biomédica* as a top journal in the health sciences field (6), and, therefore, a large amount of original health research performed in the country and the region has been published in this journal.

The objectives of this paper were to 1) determine the frequency with which regression modeling was reported in original biomedical and public health articles published in *Biomédica* between 2000 and

2017 (including online ahead of print); 2) describe the reporting of the parameters and procedures used for the statistical models, and 3) describe the quality of the information reported by the studies to explain and evaluate the statistical analyses. We also aimed at providing an overview of the statistical quality of regression modeling reported in the health literature published in *Biomédica* and based on those reports, identify the strengths and limitations of the statistical methods.

## Materials and methods

We reviewed all original articles published in *Biomédica* between 2000 and 2017 (including online ahead of print publications in the 2016 and 2017 issues), which are available at the official *Biomédica's* website ([www.revistabiomedica.org](http://www.revistabiomedica.org)). We then selected the articles that reported the use of at least one statistical regression model, according to the following selection criteria: 1) original articles that used one or more regression analyses; 2) regression analyses that were conducted in order to address the study's main objective, and 3) regression analyses that were presented in the methods and results sections. When an original study included two or more regression analyses, we selected the regression model that was related to the study's main objective. When a study had two or more main objectives, we selected one model per objective. Therefore, we included more than one regression model per original article when they corresponded to different main objectives and specifications.

We conducted a literature review to identify papers that assessed the quality of statistical reporting in biomedical journals and found four publications that presented good practice guidelines for the presentation of statistical methods (5,7-9). The first publication appeared in 1992 when the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) issued a set of publication requirements for biomedical journals. Then, in order to better address the needs of readers the ICMJE proposed the first standards for the presentation of statistical information, aimed at supporting and informing authors and editors about the statistical principles behind the studies published in biomedical journals (7). The second article was published in 2013 and its purpose was to develop a checklist to determine the frequency of the use of regression models in economics, and the parameters and the amount of information reported. That checklist grouped items according to four consecutive stages of the

Corresponding author:

Laura Andrea Rodríguez-Villamizar, Escuela de Medicina, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander, Carrera 32 N° 29-31, oficina 301, Bucaramanga, Colombia  
Telephone: (577) 634 4000; extension 3195  
[laurovi@uis.edu.co](mailto:laurovi@uis.edu.co)

Received: 18/10/16; accepted: 08/08/17

statistical process (8). Later, the proposal titled “Strategies for the Development of Statistical Regression Models” described important points to consider when using a regression model, such as data manipulation, modeling strategies, final model evaluation, and presentation (9). Lastly, Lang and Altman recently published a general guideline for reporting methods and statistical analyses in biomedical journals, which included 12 items specific to regression analyses (5).

Some of the important items in one or two of the checklists mentioned were missing from the others, and none of the lists was comprehensive enough to assess the quality of the presentations of the statistical regression models. Therefore, we consolidated all of the items in the four publications relevant for the evaluation of regression modeling into one checklist containing 20 statistical procedures or parameters. These were evaluated based on the four different stages proposed by Kearns, *et al.* (8): I) pre-statistical modeling considerations; II) specification of the final model; III) presentation of the final model; and IV) validation of the final model.

In general, the guidelines on good practices for statistical reporting (5,7,8), and the checklist based on these guidelines used for this critical assessment, can be summarized by the following standards: 1) agreement of the statistical method with the measurement scale and data structure of the study variables; 2) coherence between the statistical method and the study objective; 3) verification of the statistical model's assumptions and understanding of the theoretical basis of the statistical tests used; 4) assessment of the diagnostics and goodness of fit of the final model according to the regression method used; 5) evaluation of the final model and comparing it to alternative models, and 6) discussion of the strengths and limitations of the final model.

The checklist used for this work was reviewed by two experts in statistical analyses, and then adapted based on their recommendations. Appendix 1 presents the full checklist and Appendix 2 compares the four checklists with the items included in the one used for this review. It is important to mention that we did not evaluate or validate the regression models themselves but only the reporting, according to each stage of the process.

Two independent reviewers with statistical and biomedical experience performed a critical assessment of the 20 items included in the checklist. The reviewers were blinded to the authorship of the

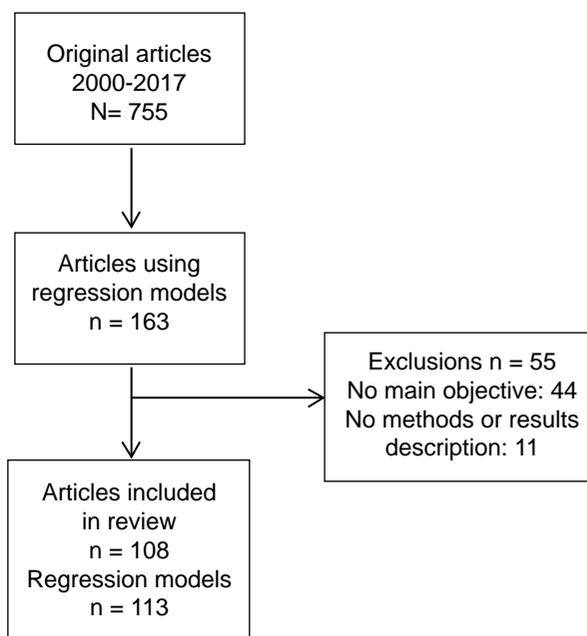
original articles. In addition, a third reviewer was assigned to assess three articles that were written by the other reviewers.

Most of the checklist items were dichotomized as “yes/no” responses and accompanying observations and explanations about the selections were included. A third reviewer resolved disagreements. We used the Cohen’s kappa statistic to assess agreement among the independent reviewers’ responses and we calculated a pooled (inter-rater) kappa for multiple items since the checklist contained several items. We present a descriptive analysis of the results using frequencies and grouped by six-year periods. We conducted the statistical analyses using Stata 12™ (Stata Corporation, College Station, TX, USA).

**Results**

We reviewed 755 original articles published in *Biomédica* during the study period. Regression analyses were used in 163 articles (21.6%) and after exclusions, 108 original studies and 113 regression models were included in the review (figure 1). Appendix 3 presents a full list of the articles included. The review process had an inter-rater agreement of 0.94.

Most of the studies were related to public health sciences (65.7%) and the remaining ones to biomedical sciences. In terms of study design, cross-



**Figure 1.** Flow diagram of the process to select the studies included in this review

sectional studies were the most frequent (38.9%), followed by cohort studies (23.2%). Table 1 presents the characteristics of the studies.

With regard to stage I, “pre-statistical modeling considerations”, 37.2% of the models reported using a combination of conceptual frameworks and statistical criteria to select the variables to be included in the regression models. With regard to the models that used statistical procedures or a combination of conceptual frameworks and statistical criteria to select the variables (n=49), the stepwise strategy was the most frequently (50%) reported. The logistic regression model was the most frequent type of model (56.6%), followed by the linear regression model (25.7%). A small proportion of studies (8.9%) mentioned “missing data” in their reporting of data quality. Table 2 presents the reporting of the statistical information related to the regression models according to checklist stages, items, and six-year periods.

With respect to stage II, “specification of the final model”, 22.1% of the models reported the verification of the assumptions of the model with normality and linearity being the most and least frequent assumptions verified (65.0% and 12.0%, respectively). Model comparisons (9.7%) and model equations (8.0%) were the least frequent items reported by the studies.

With regard to stage III, “presentation of the final model”, 90.3% of the studies reported regression coefficients and the uncertainty measure reported with the highest frequency was the p value (73.5%), which increased over the six-year periods.

For stage IV, “validation of the final model”, 46% of the studies reported the goodness of fit of the model and 1.7% reported on tests for model performance. Regression models were discussed only in 15.9% of the articles.

In terms of the frequency of reporting by six-year periods, a decreasing pattern was found in the reporting of the following checklist items: Sufficient explanations for all variables used in the analysis; alpha parameter for variable inclusion, missing data; bias assessment for data quality; verification of the model's assumptions, and goodness of fit measures. The discussion on the statistical models presented in the studies also decreased over time. In contrast, there was an increase in reporting on the combined use of conceptual frameworks and statistical criteria for the inclusion of variables in models of association.

## Discussion

We conducted a critical assessment review of original studies that used statistical regression models and were published in *Biomédica* between 2000 and 2017. The results show significant weaknesses in the reporting of the statistical information or parameters needed by reviewers and readers in order to correctly assess and interpret statistical models. While the number of studies that use regression models has increased since 2000, the descriptive analysis which we performed by six-year periods showed that rather than having improved, the reporting of statistical information has worsened over time for a large number of key items in the checklist.

**Table 1.** Characteristics of the included original studies that used regression models by six-year periods, *Biomédica*, 2000-2017

General characteristics of studies	Six-year periods							
	2000/2005		2006/2011		2012/2017*		All	
	n=15	%	n=38	%	n= 55	%	N=108	%
Area of study								
Public health	13	86.7	23	60.6	35	63.6	71	65.7
Biomedicine and others	2	13.3	15	39.4	20	36.4	37	34.3
Study design								
Clinical trial	0	0	2	5.3	1	1.8	3	2.8
Cohort study	2	13.3	9	23.7	14	25.5	25	23.2
Case and control study	2	13.3	4	10.5	9	16.4	15	13.9
Cross-sectional study	9	60	10	26.3	23	41.8	42	38.9
Ecologic study	0	0	1	2.6	3	5.4	4	3.7
Basic research study	0	0	7	18.4	1	1.8	8	7.4
Economic analysis	0	0	2	5.3	0	0.0	2	1.9
Quasi-experimental	1	6.7	3	7.9	0	0.0	4	3.7
Others**	1	6.7	0	0.0	4	7.3	5	4.6

\*Including online ahead-of-print publications for 2016 and 2017 issues

\*\* Analysis of secondary and/or administrative sources without a specified design (more than two sources or information systems)

**Table 2.** Information about regression models as reported by the original studies by six-year periods, *Biomédica*, 2000-2017

Stages/Items	Six-year periods							
	2000-2005		2006-2011		2012-2017*		All	
	n=20	%	n=38	%	n=55	%	N**=113	%
<b>Stage I "Pre-statistical modeling considerations"</b>								
1. Objectives of the analysis	12	60	32	84.2	43	78.2	87	77.0
2. Type of analysis								
Linear regression	7	35	12	31.6	10	18.2	29	25.7
Logistic regression	12	60	19	50.0	33	60.0	64	56.6
Poisson regression	0	0	1	2.6	6	10.9	7	6.2
Negative binomial regression	0	0	2	5.3	1	1.8	3	2.7
Cox regression	1	5	2	5.3	2	3.6	5	4.4
Log-binomial regression	0	0	1	2.6	1	1.8	2	1.8
Other	0	0.0	1	2.6	2	3.6	3	2.7
3. Sample size of the final model	9	45	11	29	9	16.4	29	25.7
4. Sufficient explanations for all variables used in the analysis	15	75.0	29	76.3	38	69.1	82	72.6
5. Scale of the response variable								
Continuous	4	20.0	11	29.0	12	21.8	27	23.9
Count	1	5.0	3	7.9	3	5.5	7	6.2
Binary	10	50.0	11	29.0	28	50.9	49	43.4
Polynomial ordinal	0	0.0	0	0.0	1	1.8	1	0.9
Logarithmic	0	0.0	4	10.5	1	1.8	5	4.4
Unclear	5	25.0	9	23.7	10	18.2	24	21.2
6. Transformation of variables	7	35.0	14	36.8	17	30.9	38	33.6
7. Selection process for including variables in the regression analysis								
Literature or conceptual framework	11	55.0	22	57.9	26	47.3	59	52.2
7.1.1 Statistical (bivariate and/or stepwise)	5	25.0	0	0.0	2	3.6	7	6.2
Literature/conceptual framework and statistical	3	15.0	13	34.2	26	47.3	42	37.2
Not specified	1	5.0	3	7.9	1	1.8	5	4.4
7.1.2 Alpha for inclusion of variables	6	75.0	8	50.0	14	48.3	28	52.8
8. Quality of data								
Reporting of missing data	5	25.0	2	5.3	3	5.5	10	8.9
Reporting of outliers	0	0.0	3	7.9	2	3.6	5	4.4
Bias reporting	10	50.0	11	29.0	9	16.4	30	26.6
9. Statistical package or program used for the analysis								
SPSS	10	50.0	13	34.2	17	30.9	40	35.4
STATA	4	20.0	8	21.1	21	38.2	33	29.2
Epi Info	3	15.0	2	5.3	0	0.0	5	4.4
R package	0	0.0	0	0.0	5	9.1	5	4.4
Other	0	0.0	8	21.1	7	12.7	15	13.3
Not specified	3	15.0	7	18.4	5	9.1	15	13.3
<b>Stage II "Specification of the final model"</b>								
10. Analysis assumptions								
10.1 Independence	5	20.0	3	12.0	1	4.0	9	36.0
10.1 Normality	2	8.0	9	36.0	3	12.0	14	56.0
10.1 Homocedasticity	2	8.0	4	16.0	3	12.0	9	36.0
10.1 Linearity	2	8.0	1	4.0	0	0.0	3	12.0
11. Collinearity	2	10.0	7	18.4	8	14.6	17	15.0
12. Strategy for the verification of assumptions	3	42.9	4	33.3	3	50.0	10	40.0
13. Comparison of models								
Yes, but no mention of strategy	1	5	7	18.4	3	5.5	11	9.7
Yes and strategy mentioned	2	10	1	2.6	3	5.5	6	5.3
14. Report of the model equation	0	0	6	15.8	3	5.5	9	8.0
<b>Stage III. "Presentation of the final model"</b>								
15. Graphs or tables that communicate the results								
Graphics	1	25.0	4	40.0	5	38.5	10	37.0
Tables	16	84.2	29	82.9	44	84.6	89	84.0
16. Measures of association and uncertainty								
Coefficient	18	90.0	33	86.8	51	92.7	102	90.3
p values	14	70.0	28	73.7	41	74.6	83	73.5
Confidence intervals (CI)	14	70.0	25	65.8	38	69.1	77	68.1
Standard error	6	30.0	2	5.3	7	12.7	15	13.3
<b>Stage IV "Validation of the final model"</b>								
17. Goodness of fit								
***Hosmer-Lemeshow	2	22.2	2	22.2	14	48.3	9	31.4
R <sup>2</sup> or pseudo R <sup>2</sup>	4	7.7	8	15.4	8	15.4	20	38.5
Other	5	9.6	2	3.8	13	25.0	20	38.5
19. Akaike, BIC, LR test or related performance tests	0	0	0	0	2	3.6	2	1.77
20. Discussed statistical models	4	20	7	18.4	7	12.73	18	15.9

\* Including online ahead-of-print publications for 2016 and 2017 issues; \*\* For this table, the unit of analysis is the regression model; \*\*\* This item only applies to studies that used logistic regression: periods 2000-2005 (n=7), 2006-2011 (n=8), 2012-2017(n=14), and n=29 for the total of periods.

According to *Publindex*, *Biomédica* is currently the journal that has the highest impact on biomedicine, public health, and epidemiology in Colombia (6). And while Colombian research groups have published an increasing number of studies in international journals, *Biomédica* continues to be the preferred journal for publishing the results of research projects with national and regional impact, and its visibility has increased over recent decades (10). Therefore, *Biomédica* provides an appropriate framework to analyze the quality of statistical reporting in Colombia.

Previous reports have found weaknesses in the training in statistical competencies offered by postgraduate epidemiological and public health programs in Colombia (11). To some extent, the weakness in statistical skills at the postgraduate level might be related to the misuse and simplification of statistical methods, including generalized linear regression methods (12). This review used the available guidelines on good practice for statistical reporting to describe reports of regression methods that have appeared in *Biomédica* over the last 17 years since these are the most common statistical methods used in observational studies. The results of this review show that most of the included studies did not meet the standards of the guidelines and the checklist used herein to assess the quality of the reporting of statistical regression modeling methods.

Good practice guidelines for statistical reporting have been established mainly by expert consensus in order to provide guidance on how to improve the quality of reporting on statistical methods (5). However, these guidelines should not be assumed as a simplification of statistical methods or used as “recipes” to conduct statistical analyses. Strictly following the guidelines does not guarantee high quality regression analyses. Assessments of the quality of statistical analyses should be comprehensive, based on statistical rationale, and meet the statistical standards discussed above.

Most of the original articles included in this review are observational studies which used regression models to control for confounders (13). The results of the analysis of “pre-statistical model considerations”, or stage I, showed an increase over time in the use of combined methods to select regression model variables for studies of association. Nevertheless, statistical criteria based exclusively on hypothesis testing methods continue to be used. That type of statistical criteria, as well as stepwise

methods, have been strongly criticized in recent decades (4,14) and modern epidemiology widely recognizes that model variables should be selected according to a more comprehensive analytical process, based on theoretical and literature reviews and using multidimensional criteria (15).

In statistics, a “misspecification error” refers to the use of incorrect procedures to build a regression model (16). The misspecification of a regression model could have an impact on the estimators obtained, thereby causing bias. The importance of this type of error has been well acknowledged (17,18) and may bias the study results. It includes omitting influential or including non-influential explanatory variables, using incorrect functional forms, violating the assumptions of the model, and using incorrect approaches to choose the final model (19). In this regard, it is important to note that most of the articles reviewed herein were weak in their reporting of the verification of model assumptions, which are key criteria for the statistical validity of the models.

Critical assessment reviews are significantly limited in their ability to distinguish between the absence of analysis versus a lack of reporting since quality is judged exclusively based on published documents. However, even when statistical methods are used, not reporting on them in itself weakens an original article in terms of demonstrating the validity of its methods and results. In the case of *Biomédica*, there are no constraints on the complete reporting of statistical methods since there is no word limit for original articles.

One important limitation of the present review is the use of the new checklist. Although two experts in statistical analyses reviewed it, it has not been widely reviewed by the scientific statistics community and, therefore, it can not be considered a validated instrument. In addition, since the checklist assigned equal weight to all items, it does not take into account that some of the elements used to judge the quality of reporting may be more important than others. On the other hand, its strength is that it is a comprehensive list based on previous guidelines and checklists that have been specifically used to assess the quality of reporting on statistical regression modeling analyses.

In conclusion, this critical assessment review of original articles published over the last 17 years in a top biomedical journal in Colombia shows that there are important limitations in the quality of reporting on statistical regression models. An improvement

over time in the use of multidimensional statistical procedures for the selection of model variables was evident. However, there was a lack of reporting on important statistical information related to the four stages of analysis, thereby creating uncertainty about the validity of the statistical models, which in turn calls into question study results and conclusions.

Finally, we invite researchers, reviewers, and editors of biomedical journals in Colombia to use the results of this critical assessment review to develop, promote, and control an appropriate culture for statistical analysis and reporting. Attaining this goal through the use of good practice guidelines for statistical reporting will lead to a more rational and efficient use of statistical methods, higher confidence and transparency in the peer-review process, and overall, higher quality biomedical, public health, and epidemiological studies in Colombia.

#### Conflicts of interest

The authors declare that they do not have any conflicts of interest.

#### Funding

This work was financed by the *Departamento de Salud Pública, Facultad de Salud, Universidad Industrial de Santander*, and the *Instituto Nacional de Salud Pública de México*.

#### References

1. **Jenicek M.** Epidemiology, evidenced-based medicine, and evidence-based public health. *J Epidemiol.* 1997;7:187-97. <https://doi.org/10.2188/jea.7.187>
2. **Tang JL, Griffiths S.** Review paper: epidemiology, evidence-based medicine, and public health. *Asia Pac J Public Health.* 2009;21:244-51. <https://doi.org/10.1177/1010539509335516>
3. **Burns PB, Rohrich RJ, Chung KC.** The levels of evidence and their role in evidence-based medicine. *Plast Reconstr Surg.* 2011;128:305-10. <https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e318219c171>
4. **Ryan T.** *Modern Regression Methods.* 2nd ed. Hoboken, N.J.: Wiley; 2009. p. 672.
5. **Lang T, Altman D.** Basic statistical reporting for articles published in clinical medical journals: the SAMPL guidelines. In: Smart P, Maisonneuve H, Polderman A, editors. *Science Editors' Handbook.* London: European Association of Science Editors; 2013.
6. **Departamento Administrativo Nacional de Ciencia y Tecnología COLCIENCIAS.** Publiindex. Fecha de consulta: 12 de octubre de 2016. Disponible en: <http://scienti.colciencias.gov.co:8084/publiindex/>
7. **Bailar J, Mosteller F.** La información estadística que deben proporcionar los artículos publicados en revistas médicas. *Salud Públ Méx.* 1992;34:103-15.
8. **Kearns B, Ara R, Wailoo A, Manca A, Alava MH, Abrams K, et al.** Good practice guidelines for the use of statistical regression models in economic evaluations. *Pharmacoeconomics.* 2013;31:643-52. <https://doi.org/10.1007/s40273-013-0069-y>
9. **Núñez E, Steyerberg E, Núñez J.** Estrategias para la elaboración de modelos estadísticos de regresión. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64:501-7. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2011.01.019>
10. **Gómez LA, Nicholls RS.** Avances en visibilidad, acceso y reconocimiento internacional de la revista *Biomédica.* *Biomédica.* 2008;28:5-6.
11. **Idrovo AJ, Fernandez-Nino JA, Bojorquez-Chapela I, Ruiz-Rodriguez M, Agudelo CA, Pacheco OE, et al.** Perception of epidemiological competencies by public health students in Mexico and Colombia during the influenza A (H1N1) epidemic. *Rev Panam Salud Publica.* 2011;30:361-9. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892011001000010>
12. **Fernandez-Nino JA, Trejo-Valdivia B.** Costumbres, mal uso y abuso en estadística. *Rev Univ Ind Santander Salud.* 2016;48:5-6.
13. **Lu CY.** Observational studies: a review of study designs, challenges and strategies to reduce confounding. *Int J Clin Pract.* 2009;63:691-7. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2009.02056.x>
14. **Whittingham M, Stephens P, Bradbury R, Freckleton R.** Why do we still use stepwise modelling in ecology and behaviour? *J Anim Ecol.* 2006;75:1182-9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2006.01141.x>
15. **Walter S, Tiemeier H.** Variable selection: current practice in epidemiological studies. *Eur J Epidemiol.* 2009;24:733-6. <https://doi.org/10.1007/s10654-009-9411-2>
16. **Goff L.** The bias from misspecification of control variables as linear. 2014. Fecha de consulta: 12 de octubre de 2016. Disponible en: <http://www.rff.org/files/sharepoint/WorkImages/Download/RFF-DP-14-41.pdf>
17. **Rao P.** Some notes on misspecification in multiple regressions. *The American Statistician.* 1971;25:37-9.
18. **Ramsey JB.** Test for specification errors in classical linear least-squares regression analysis. *The Journal of the Royal Society Series B (Methodological).* 1969;31:350-71.
19. **Hall S, Asteriou D.** *Applied Econometrics.* 2<sup>nd</sup> edition. New York: Palgrave Macmillan; 2011.

**Appendix 1.** Checklist of the dimensions and/or statistical procedures reported**Stage I “Pre-statistical modelling considerations”**

1. Have the objectives of the analysis been stated?
2. What is the type of regression analysis?
3. Is the sample size reported for every model presented?
4. Are there sufficient explanations of all variables?
5. What is the measurement scale of the response variable?
6. Is the transformation of variables presented or reported?
7. Is there any mention of the process for selecting the variables included in the final model presented? If so, what was this process?
  7. 1. Does the paper mention any statistical strategy for variable selection?
    - 7.1.1 Does the paper use a stepwise method? If so, forward or backward?
    7. 1.2 Does the paper mention any alpha criteria for including variables?
8. Has the quality of data (missing values, outliers, possible bias, etc.) been described?
9. Was the statistical package or program used in the analysis identified?

**Stage II “Specification of the final model”**

10. Have any modeling assumptions been stated?
  - 10.1 Which assumptions were verified?
11. Was colinearity evaluated?
12. Does the paper mention the strategy for assessing assumptions?
13. Did the study compare models? If so, how?
14. Does the paper report the regression equation?

**Stage III. “Presentation of the final model”**

15. Are the results reported graphically and/or in tables?
16. Are the regression coefficients (beta) reported for each explanatory variable? Are the corresponding confidence intervals and/or p-values presented?

**Stage IV “Validation of the final model”**

17. Does the paper conduct a goodness of fit analysis?
18. Are the tests of goodness of fit mentioned?
19. Does the analysis include a test of the model's performance?
20. Are the statistical analyses discussed?

**Appendix 2.** Comparison of guidelines/checklists for presenting statistical regression analyses from the literature reviewed for the comprehensive checklist used by this analysis

Guidelines for the presentation of statistics in an investigation (Bailar, <i>et al.</i> , 1979)	Strategies for the development of statistical regression models (Nuñez, <i>et al.</i> , 2011)	Proposed checklist for statistical regression analyses (Kearns, <i>et al.</i> , 2013)	General principles for reporting regression analyses (Lang, <i>et al.</i> , 2013)
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Describe the statistical methods in sufficient detail</b> so that the reader versed in the subject and having access to the original data can verify the reported results (items 2-7).</li> <li>2. Whenever possible, <b>quantify results and present them with appropriate indicators of measurement error or uncertainty</b> (e.g., confidence intervals) (item 16).</li> <li>3. <b>Do not rely solely on proofs and statistical hypotheses</b>, such as p-values, which do not convey important quantitative information (item 16).</li> <li>4. Analyze the eligibility of experimental subjects.</li> <li>5. Provide details of the randomization process.</li> <li>6. Describe the means used to mask the observations indicate the results they gave.</li> <li>7. Report on treatment complications.</li> <li>8. <b>Specify the number of observations</b> (item 3).</li> <li>9. <b>Mention loss of subjects and observation</b> (e.g., people leaving a clinical trial). (item 8)</li> <li>10. Whenever possible, references to study design will be current, rather than original articles, which were described for the first time.</li> <li>11. <b>Specify any general purpose computer program used.</b> (item 9)</li> <li>12. The general descriptions of the methods used should appear in the Methods section. When summarizing the data in the Results section, specify the statistical methods that were used.</li> <li>13. <b>Limit the number of tables and figures to the minimum necessary</b> to explain the central theme of the article and to evaluate the data on which it is based. Use graphs instead of tables subdivided into many parts; Do not duplicate data in graphs and tables (item 15)</li> <li>14. Avoid non-technical use of statistics terms</li> <li>15. Define the terms, abbreviations and most of the statistical symbols</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Objective, Structure of the data and type of regression analysis</b> (items 1 and 2)</li> <li>2. <b>Manipulation of the data</b> (items 6- 8)</li> <li>3. Strategies for modeling. - Automatic selection of variables (item 7)</li> <li>4. <b>Evaluation of the final model</b> (items 17-19)</li> <li>5. <b>Presentation of results</b> (item 15-16)</li> </ol>	<p>Pre-modeling considerations</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Have the <b>objectives</b> of the analysis been stated? (item 1)</li> <li>2. Has the need for a de novo regression analysis been justified?</li> <li>3. Has the source of the data used been stated?</li> <li>4. Has the <b>total sample size</b> available been reported? (item 3)</li> <li>5. Are sufficient <b>explanations of all variables</b> used provided? (item 4)</li> <li>6. Are sufficient <b>numerical and/or graphical summaries</b> provided? (item 15)</li> <li>7. Has the <b>quality of data</b> (missing values, outliers, possible bias, etc.) been described? (item 8)</li> <li>8. Has the <b>type/method of regression model(s) considered been stated/justified?</b> (item 19)</li> <li>9. Have any <b>modelling assumptions</b> been stated? (item 10)</li> <li>10. Is a convincing rationale given for the <b>inclusion of explanatory variables?</b> (item 4)</li> </ol> <p>Arriving at the Final Model</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>11. Are sufficient details about the computational methods used provided?</li> <li>12. If more than one model was considered, has <b>justification been given for why the preferred model has been selected?</b> (item 13)</li> <li>13. Has the <b>choice of covariates</b> been justified? (item 4)</li> <li>14. Is the <b>sample size reported for every model presented?</b> (item 3)</li> <li>15. Has the handling of missing values (if any) been described?</li> </ol> <p>Presentation of the Final Model</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>16. Are the <b>coefficient estimates</b> provided? (item 16)</li> <li>17. Are appropriate <b>measures of uncertainty and significance</b> provided? (item 6)</li> </ol> <p>Validating the Final Model</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>18. Are summary <b>measures of goodness of fit</b> presented? (item 17-18)</li> <li>19. Are details of the <b>results of a residual analysis</b> provided? (item 12)</li> <li>20. Has the model been validated on external (or quasi-external) data?</li> <li>21. Is the <b>plausibility of the modeled predictions and/or coefficients discussed?</b> (item 20)</li> <li>22. Are the <b>results compared to the literature</b> and/or other data? (item 13)</li> <li>23. Has the method for handling parameter uncertainty been reported?</li> <li>24. Is sufficient detail given for how parameter uncertainty was handled (e.g. if a variance/covariance matrix is used, is this available in some form?)</li> <li>25. Is parameter uncertainty appropriately reflected in the DAM?</li> <li>26. Has any structural (model) uncertainty been explored (in the DAM)?</li> <li>27. Have the <b>model's limitations</b> been discussed (and explored if possible)? (item 20)</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Describe the <b>purpose of the analysis</b> (item 1)</li> <li>• Identify the <b>variables used in the analysis</b> and summarize each with descriptive statistics (items 5 and 6)</li> <li>• Confirm that the <b>assumptions of the analysis</b> were met (item 10)</li> <li>• If relevant, report how any <b>outlying values</b> were treated in the analysis. (item 8)</li> <li>• Report how any missing data were treated in the analyses.</li> <li>• For either simple or multiple (multivariable) regression analyses, <b>report the regression equation.</b> (item 14)</li> <li>• For <b>multiple regression analyses:</b> 1) report the alpha level used in the univariate analysis; (item 16) 2) report whether the variables were assessed for a) colinearity and (item 11) b) interaction; and 3) describe the variable selection process by which the final model was developed (e.g., forward-stepwise; best subset). (item 7)</li> <li>• Report the <b>regression coefficients</b> (beta weights) of each explanatory variable <b>and the associated confidence intervals and P values</b>, preferably in a table. (item 16)</li> <li>• Provide a <b>measure of the model's "goodness-of-fit"</b> to the data (the coefficient of determination, <math>r^2</math>, for simple regression and the coefficient of multiple determination, <math>R^2</math>, for multiple regression). (items 17- 18)</li> <li>• Specify whether and <b>how the model was validated.</b> (items 18-19)</li> <li>• For primary comparisons analyzed with simple linear regression analysis, consider <b>reporting the results graphically</b>, in a scatter plot showing the regression line and its confidence bounds. (item 15)</li> <li>• Name the <b>statistical package or program used</b> in the analysis. (item 9)</li> </ul>

\*The items in bold in each guideline/checklist were the ones related specifically to the regression models used to generate this paper's checklist. For these items, the item number corresponding to this paper's checklist is indicated in parentheses and italics. The gray items were not included in this paper's checklist as they were general guidelines related to the study design and not specifically related to the presentation of regression models. Some items were excluded because they were related to terminology (Nuñez' item 2) or advanced statistical methods (Nuñez' item 3) used in economics but not commonly used in public health or biomedicine. The items excluded from the Lang and Altman's principles corresponded to a detailed explanation of the treatment of missing values, an aspect that was already included in this paper's checklist as a presence/absence item.

## Appendix 3. Studies included in the review

1. **Ramírez O, Cárdenas V, Peña G, Galindo L, Lozano JM.** Retardo del crecimiento intrauterino asociado con el consumo de pasta básica de cocaína por mujeres gestantes de Bogotá, D.C., Colombia. *Biomédica*. 2000;20:289-99. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v20i4.1072>
2. **Noy V, Baracaldo CM, Forero Y, Poveda E, Sánchez MR, Castro L.** Estabilidad y efecto de la ingestión sobre los niveles de folatos en plasma. *Biomédica*. 2002;22:46-50. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22i1.1139>
3. **Isaza CA, Osorio FJ, Mesa G, Moncada JC.** Patrones de uso de antihipertensivos en 11.947 pacientes colombianos. *Biomédica*. 2002;22:476-85. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22i4.1174>
4. **Ordóñez LE, Angulo ES.** Desnutrición y su relación con parasitismo intestinal en niños de una población de la Amazonia colombiana. *Biomédica*. 2002;22:486-98. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22i4.1175>
5. **Escobar SL, Kelder S, Orpinas P.** La relación entre los juegos de video violentos, la aculturación y la agresión entre adolescentes latinos. *Biomédica*. 2002;22:398-406. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22iSupp2.1188>
6. **Sánchez R, Cáceres H, Gómez D.** Ideación suicida en adolescentes universitarios: prevalencia y factores asociados. *Biomédica*. 2002;22:407-16. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v22iSupp2.1189>
7. **Jaimes MB, Cáceres DC, De la Hoz F, Gutiérrez C, Herrera D, Pinilla J, et al.** Factores de riesgo para infección respiratoria aguda baja grave en Bogotá, 2001. *Biomédica*. 2003;23:283-92. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v23i3.1222>
8. **Anaya JM, Uribe M, Pérez A, Sánchez JF, Pinto LF, Molina JF, et al.** Factores clínicos y epidemiológicos asociados con nefritis lúpica en pacientes del noroccidente colombiano. *Biomédica*. 2003;23:293-300. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v23i3.1223>
9. **Torres MM, Acosta CP, Sicard DM, Restrepo H.** Susceptibilidad genética y riesgo de cáncer gástrico en una población del Cauca. *Biomédica*. 2004;24:153-62. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i2.1261>
10. **Quijano S, Saavedra C, Fiorentino S, Orozco O, Bravo MM.** Presencia del virus de Epstein-Barr en casos colombianos de linfoma de Hodgkin y su relación con la respuesta al tratamiento. *Biomédica*. 2004;24:163-73. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i2.1262>
11. **Isaza CA, Moncada JC, Mesa G, Osorio FJ.** Efectividad del tratamiento antihipertensivo en una muestra de pacientes colombianos. *Biomédica*. 2004;24:273-81. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i3.1273>
12. **Biondo E, Khoury MC.** Información de salud en la prensa diaria argentina: adaptación al español y validación del cuestionario *Index of Scientific Quality* para medir su calidad. *Biomédica*. 2005;25:366-76. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i3.1361>
13. **Martínez JA, Amaya W, Campillo HA, Campo A, Díaz LA.** Factores asociados con el consumo diario de cigarrillo en adolescentes estudiantes de básica secundaria de Bucaramanga, Colombia. *Biomédica*. 2005;25:518-26. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i4.1378>
14. **García R, Prieto F, Arenas C, Rincón J, Caicedo S, Rey G.** Reducción de la transmisión madre hijo del VIH en Colombia: dos años de experiencia nacional, 2003-2005. *Biomédica*. 2005;25:547-64. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i4.1382>
15. **Díaz FA, Martínez RA, Villar LA.** Criterios clínicos para diagnosticar el dengue en los primeros días de enfermedad. *Biomédica*. 2006;26:22-30. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1391>
16. **Tribiño G, Maldonado C, Segura O, Díaz J.** Costos directos y aspectos clínicos de las reacciones adversas a medicamentos en pacientes hospitalizados en el servicio de medicina interna de una institución de tercer nivel de Bogotá. *Biomédica*. 2006;26:31-41. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1392>
17. **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>
18. **González M, González CP, Sanabria A.** Determinación ecográfica del volumen normal de la glándula tiroides en una población pediátrica de Bogotá, Colombia. *Biomédica*. 2006;26:95-100. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1398>
19. **Serrano ML, Romero A, Cendales R, Sánchez M, Bravo MM.** Niveles séricos de los factores de crecimiento similares a la insulina I y II y su proteína 3 de enlace en mujeres con lesiones escamosas intraepiteliales y cáncer de cuello uterino. *Biomédica*. 2006;26:258-68. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i2.1415>
20. **Alvarado BE, Gómez E, Serra M, Carvajal R, Carrasquilla G.** Evaluación de una estrategia educativa en malaria aplicada en localidades rurales del Pacífico colombiano. *Biomédica*. 2006;26:342-52. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i3.353>
21. **Carmona J.** Correlación y conversión entre valores de colinesterasa eritrocitaria medida con las técnicas de Michel y EQM®. *Biomédica*. 2006;26:546-55. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i4.324>
22. **Escobar P, Hernández IP, Rueda CM, Martínez F, Páez E.** Actividad fotodinámica de ftalocianina de aluminio (iii) y zinc (ii) en promastigotes de *Leishmania*. *Biomédica*. 2006;26(Supl.1):49-56. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1499>
23. **Rojas CA, Weigle KA, Tovar R, Morales AL, Alexander B.** Prevención de leishmaniasis cutánea americana en Colombia mediante una intervención múltiple: resultados de un ensayo de grupos aleatorios. *Biomédica*. 2006;26(Supl.1):152-66. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1509>
24. **Narváez G, Lareo L, Rincón J.** Generación de modelos matemáticos correlacionales entre afinidad y descriptores topológicos moleculares de antagonistas de glicina en receptores de glutamato. *Biomédica*. 2007;27:116-32. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i1.238>
25. **Cáceres FM, Orozco LC.** Incidencia y factores asociados al abandono del tratamiento antituberculoso. *Biomédica*. 2007;27:498-504. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i4.170>

26. **Arbeláez MP, Arbeláez A, Gómez R, Rojas C, Vélez L, Arias SL, et al.** Efectividad de la profilaxis para enfermedad tuberculosa en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana, Medellín, 2002-2005. *Biomédica*. 2007;27:515-25. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v27i4.120>
27. **Ocampo CB, Giraldo GI, Pérez M, Morales CA.** Evaluación del triflumurón y la mezcla de *Bacillus thuringiensis* más *Bacillus sphaericus* para el control de las formas inmaduras de *Aedes aegypti* y *Culex quinquefasciatus* en sumideros en Cali, Colombia. *Biomédica*. 2008;28:224-33. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i2.93>
28. **Arbeláez MP, Grisales H, Vanegas AP, Gaviria AM, Castaño J, Mora M, et al.** Prevalencia de anomalías de células epiteliales y factores asociados en mujeres de un municipio rural colombiano. *Biomédica*. 2008;28:271-83. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i2.98>
29. **González AL, Martínez RA, Villar LA.** Evolución clínica de pacientes hospitalizados por dengue en una institución de salud de Bucaramanga, Colombia. *Biomédica*. 2008;28:531-43. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i4.58>
30. **Jaramillo N, Calle DA, Quiñones ML, Erazo HF.** Discriminación por morfometría geométrica de once especies de *Anopheles* (Nyssorhynchus) presentes en Colombia. *Biomédica*. 2008;28:371-85. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i3.75>
31. **Yepes D, Molina F, Ortiz G, Aguirre R.** Factores de riesgo asociados a neumonía en pacientes. *Biomédica*. 2009;29:253-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i2.27>
32. **Ocampo CB, González C, Morales CA, Pérez M, Wesson D, Apperson CS.** Evaluación de estrategias comunitarias para el control de *Aedes aegypti* en Cali, Colombia. *Biomédica*. 2009;29:282-97. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i2.30>
33. **Alava JJ, Jiménez PJ.** Infección por *Gnathostoma* (Spirurida: Gnathostomatidae) en *Hoplias microlepis*: prevalencia, correlación con la talla del pez, huéspedes e implicaciones para salud pública en Ecuador. *Biomédica*. 2009;29:591-603. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i4.137>
34. **Torres K, Avendaño F, Lizano E, Rojas M, Rodríguez C, Bonfante R, et al.** Evaluación de la estructura espacial de *Triatoma maculata* del centro-occidente de Venezuela y su viabilidad alimentado con sangre humana en condiciones de laboratorio. *Biomédica*. 2010;30:72-81. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i1.155>
35. **Murillo R, Cendales R, Wiesner C, Piñeros M, Tovar S.** Efectividad de la citología cérvico-uterina para la detección temprana de cáncer de cuello uterino en el marco del sistema de salud de Colombia. *Biomédica*. 2009;29:354-61. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i3.7>
36. **Gómez JP, Quintana JC, Arbeláez P, Fernández J, Silva JF, Barona J, et al.** Picaduras por escorpión *Tityus asthenes* en Mutatá, Colombia: aspectos epidemiológicos, clínicos y toxicológicos. *Biomédica*. 2009;29:392-402. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i1.160>
37. **Pardo C, Cendales R.** Supervivencia de pacientes con cáncer de cuello uterino tratadas en el Instituto Nacional de Cancerología. *Biomédica*. 2009;29:437-47. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i3.2>
38. **Isaza C, Beltrán L, Henao J, Porras G, Pinzón A, Vallejos A, et al.** Factores genéticos y ambientales asociados con la respuesta a warfarina en pacientes colombianos. *Biomédica*. 2010;30:410-20. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i3.275>
39. **Zapata DM, Estrada A.** Calidad de vida relacionada con la salud de las personas afectadas por quemaduras después de la cicatrización, Medellín, Colombia. *Biomédica*. 2010;30:492-500. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i4.287>
40. **Valencia CA, Fernández JA, Cucunubá ZM, Reyes P, López MC, et al. Falta un autor.** Correlación entre la incidencia de malaria y la prevalencia de las geohelmintiasis en Colombia: enfoque ecológico. *Biomédica*. 2010;30:501-8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i4.288>
41. **Saldarriaga CI, Franco G, Garzón AM, García I, Mejía N, Restrepo A.** Factores de riesgo para la enfermedad coronaria temprana en mujeres. *Biomédica*. 2010;30:559-66. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i4.294>
42. **Sarmiento MP, Suárez O, Sanabria JA, Pérez CE, Cadena LP, Niño ME.** Conocimientos y prácticas sobre la prevención y el control de la influenza AH1N1 en una comunidad de Floridablanca, Santander. *Biomédica*. 2011;31:91-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i1.339>
43. **Aldana E, Heredia E, Avendaño F, Lizano E, Concepción JL, Bonfante R, et al.** Análisis morfométrico de *Panstrongylus geniculatus* de Caracas, Venezuela. *Biomédica*. 2011;31:108-17. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i1.341>
44. **Pinzón JF, Maldonado C, Díaz JA, Segura O.** Costos directos e impacto sobre la morbimortalidad hospitalaria de eventos adversos prevenibles a medicamentos en una institución de tercer nivel de Bogotá. *Biomédica*. 2011;31:307-15. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i3.320>
45. **Filigrana PA, Gómez OL, Méndez F.** Impacto de un sitio de disposición final de residuos sólidos en la salud respiratoria de los adultos mayores. *Biomédica*. 2011;31:322-34. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i3.346>
46. **Herrera AB, Rodríguez LA, Niedbacher J.** Contaminación biológica intradomiciliaria y su relación con síntomas respiratorios indicativos de asma bronquial en preescolares de Bucaramanga, Colombia. *Biomédica*. 2011;31:357-71. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i3.364>
47. **Acuña G, Medina CE, Maupomé G, Escoffie M, Hernández J, Márquez ML, et al.** Factores de riesgo hereditarios y socioeconómicos para labio o paladar hendido no asociados a un síndrome en México: estudio de casos y controles pareado. *Biomédica*. 2011;31:381-91. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i3.378>
48. **Estrada A, Cardona D, Segura AM, Chavarriaga LM, Ordóñez J, Osorio JJ.** Calidad de vida de los adultos mayores de Medellín. *Biomédica*. 2011;31:492-502. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i4.399>
49. **Fajardo R, Valenzuela JI, Olaya SC, Quintero G, Carrasquilla G, Pinzón CE, et al.** Costo-efectividad de la colecistectomía laparoscópica y de la abierta en una muestra de población colombiana. *Biomédica*. 2011;31:514-24. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i4.405>
50. **Cardona J, Peláez L, López J, Duque M, Leal O.** Calidad de vida relacionada con la salud en adultos con VIH/sida, Medellín, Colombia, 2009. *Biomédica*. 2011;31:532-44. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v31i4.422>

51. **Tobón A, Giraldo C, Blair S.** Utilidad de los signos clínicos y parasitológicos en el pronóstico de la malaria grave en Colombia. *Biomédica*. 2012;32(Supl.1):79-94. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i0.613>
52. **Múnera NE, Uscátegui RM, Parra BE, Manjarrés LM, Patiño F, Velásquez CM, et al.** Factores de riesgo ambientales y componentes del síndrome metabólico en adolescentes con exceso de peso. *Biomédica*. 2012;32:77-91. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i1.595>
53. **Leal LC, Rojas JL, Jaimes AL, Montoya JD, Montoya N, Leiva L, et al.** Estandarización en Colombia de una prueba ELISA para la evaluación de los niveles séricos de anticuerpos IgG contra diez serotipos de *Streptococcus pneumoniae*. *Biomédica*. 2012;32:92-102. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i1.393>
54. **Aristizábal D, González G, Suárez JF, Piedad R.** Factores asociados al trauma fatal en motociclistas en Medellín, 2005-2008. *Biomédica*. 2012;32:112-24. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i1.603>
55. **Sánchez R, Téllez G, Jaramillo LE.** Edad de inicio de los síntomas y sexo en pacientes con trastorno del espectro esquizofrénico. *Biomédica*. 2012;32:206-13. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i2.423>
56. **Del Castillo SE, Patiño GA, Herrán OF.** Inseguridad alimentaria: variables asociadas y elementos para la política social. *Biomédica*. 2012;32:545-56. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i4.766>
57. **Chaparro P, Padilla J.** Mortalidad por paludismo en Colombia, 1979-2008. *Biomédica*. 2012;32(Supl.1):95-05. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i0.620>
58. **Ruiz AJ, Aschner PJ, Puerta MF, Alfonso R.** Estudio IDEA (*International Day for Evaluation of Abdominal Obesity*): prevalencia de obesidad abdominal y factores de riesgo asociados en atención primaria en Colombia. *Biomédica*. 2012;32:610-6. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i4.799>
59. **Villalobos JJ, Medina CE, Verdugo L, Islas H, García RA, Escoffié M, et al.** Lesiones cariosas reversibles e irreversibles en escolares mexicanos de 11 y 12 años de edad: un análisis de regresión binomial negativa. *Biomédica*. 2013;33:88-98. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i1.841>
60. **Camargo DM, Orozco LC.** Factores asociados a la disponibilidad y uso de medios electrónicos en niños desde preescolar hasta 4° grado. *Biomédica*. 2013;33:175-85. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.779>
61. **Forero Y, Morales GE, Benítez E.** Comparación de dos metodologías utilizadas para la determinación del síndrome metabólico en población adulta. *Biomédica*. 2013;33:233-40. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.704>
62. **Sánchez M, Lefebvre C, García LF, Barrera LF.** Variantes en los factores de transcripción para IFN $\gamma$ , TBET, STAT1, STAT4 y HLX, y el riesgo de desarrollar tuberculosis pulmonar en un estudio de casos y controles de una población colombiana. *Biomédica*. 2013;33:259-67. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.790>
63. **Sánchez R, Jaramillo LE, Herazo MI.** Factores asociados a rehospitalización temprana en psiquiatría. *Biomédica*. 2013;33:276-82. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.705>
64. **Muñoz ÁB, Chaves JA, Rodríguez EC, Realpe ME.** *Listeria monocytogenes* en manipuladores de alimentos: un nuevo enfoque para tener en cuenta en los peligros de la industria alimentaria. *Biomédica*. 2013;33:283-91. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i2.716>
65. **Ruiz JG, Charpak N.** Epidemia de displasia broncopulmonar: incidencia y factores asociados en una cohorte de niños prematuros en Bogotá, Colombia. *Biomédica*. 2014;34:29-39. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1463>
66. **Suárez MF, Arbeláez A, Mosquera M, Ramírez R, Aguilar C.** Evaluación de la relación de actividad física autorreportada con el síndrome metabólico y sus componentes en mujeres aparentemente sanas. *Biomédica*. 2014;34:60-6. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1442>
67. **Jiménez A, Alvarado A, Gómez F, Carrero G, Fajardo C.** Factores de riesgo asociados al aislamiento de *Escherichia coli* o *Klebsiella pneumoniae* productoras de betalactamasas de espectro extendido en un hospital de cuarto nivel en Colombia. *Biomédica*. 2014;34(Supl.1):16-22. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1650>
68. **González AL, Leal AL, Cortés JA, Sánchez R, Barrero L, Castillo JS, et al.** Efecto del tratamiento antibiótico inicial adecuado sobre la mortalidad en pacientes en estado crítico con bacteriemia por *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomédica*. 2014;34:58-66. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1691>
69. **Pallares CHJ, Martínez E.** Factores de riesgo asociados a mortalidad en infecciones relacionadas con la atención en salud en un hospital universitario de tercer nivel en Colombia. *Biomédica*. 2014;34(Supl.1):148-55. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i0.1646>
70. **Barrero LI, Castillo JS, Leal AL, Sánchez R, Cortés JA, Álvarez CA, et al.** Impacto económico de la resistencia a la meticilina en pacientes con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* en hospitales de Bogotá. *Biomédica*. 2014;34:345-53. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i3.1692>
71. **González S, Sarmiento OL, Lozano Ó, Ramírez A, Grijalba C.** Niveles de actividad física de la población colombiana: desigualdades por sexo y condición socio-económica. *Biomédica*. 2014;34:447-59. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i3.2258>
72. **Orozco AC, Muñoz AM, Velásquez CM, Uscátegui RM, Parra MV, Patiño FA, et al.** Una variante del gen CAPN10 y los factores ambientales muestran asociación con el exceso de peso en jóvenes colombianos. *Biomédica*. 2014;34:546-55. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i4.2246>
73. **Machado JE, Echeverri LF, Londoño MJ, Moreno PA, Ochoa SA, Ruiz JO, et al.** Factores económicos, sociales y culturales asociados con la automedicación. *Biomédica*. 2014;34:580-8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i4.2229>
74. **Ferro C, De las Salas J, González M, Díaz A, Cabrera C, Flórez Z, et al.** ¿Existen condiciones que favorecen la reaparición del virus de la encefalitis equina venezolana en la Alta Guajira colombiana? *Biomédica*. 2015;35:43-52. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2212>
75. **Rybertt C, Cuevas S, Winkler X, Lavados P, Martínez S.** Parámetros funcionales y su relación con la velocidad de marcha en adultos mayores chilenos residentes en la comunidad. *Biomédica*. 2015;35:212-8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i2.2571>

76. **Rodríguez L, Jaimes D, Manquían A, Sánchez L.** Irregularidad menstrual y exposición a mercurio en la minería artesanal del oro en Colombia. *Biomédica.* 2015;35(Supl.2):38-45. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2442>
77. **Jiménez CP, Zabala IT, Idrovo AJ.** Condiciones de trabajo y morbilidad entre mineros del carbón en Guachetá, Cundinamarca: la mirada de los legos. *Biomédica.* 2015;35(Supl.2):77-89. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2439>
78. **Chaparro P, Castañeda C.** Mortalidad debida a intoxicación por plaguicidas en Colombia entre 1998 y 2011. *Biomédica.* 2015;35(Supl.2):90-102. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2472>
79. **Correal ME, Marthá JE, Sarmiento R.** Influencia de la variabilidad climática en las enfermedades respiratorias agudas en Bogotá. *Biomédica.* 2015;35(Supl.2):130-8. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2456>
80. **Sarmiento R, Hernández L, Medina E, Rodríguez N, Reyes J.** Síntomas respiratorios asociados con la exposición a la contaminación del aire en cinco localidades de Bogotá, 2008-2011, estudio en una cohorte dinámica. *Biomédica.* 2015;35(Supl.2):167-77. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2445>
81. **Domínguez MC, Salcedo M, García F.** Evaluación serológica y virológica de la infección por el virus linfotrópico de células T humanas de tipo 1 en grupos familiares de Tumaco, Colombia. *Biomédica.* 2015;35:337-46. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i3.2601>
82. **Cardona D, Cerezo MP, Parra H, Quintero L, Muñoz L, Cifuentes OL.** Desigualdades en la mortalidad por enfermedades cardiovasculares en los municipios del Eje Cafetero, 2009-2011. *Biomédica.* 2015;35:379-94. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i3.2588>
83. **Sánchez G, Niño CG, Estupiñán C.** Factores asociados con el tratamiento oportuno de mujeres con cáncer de mama apoyadas por una organización no gubernamental en Bogotá. *Biomédica.* 2015;35:505-12. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i4.2378>
84. **Rodríguez I, Manterola C.** Validación inicial de la escala de medición de esfuerzo percibido infantil (EPInfant) en niños chilenos. *Biomédica.* 2016;36:29-38. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2720>
85. **Cifuentes R, Murillo J, Vella E.** Predicción de la sensibilidad a la warfarina con base en polimorfismos de los genes VKORC1 y CYP2C9 en pacientes colombianos. *Biomédica.* 2016;36:91-100. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2795>
86. **Herrán OF, Patiño A, Del Castillo SE.** La transición alimentaria y el exceso de peso en adultos evaluados con base en la Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010. *Biomédica.* 2016;36:109-20. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i1.2579>
87. **Nieto JF, Serna LM, Ocampo C, Aristizábal A, Vélez C, Vanegas JJ, et al.** La lipocalina asociada con la gelatinasa de neutrófilos como factor temprano de predicción de la función retardada del injerto renal. *Biomédica.* 2016;36:213-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2703>
88. **Hurtado JE, Rodríguez Y, Gonzáles M, Astete L, Loyola J, Vigo WE, et al.** Factores asociados con la anemia en niños menores de tres años en Perú: análisis de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar, 2007-2013. *Biomédica.* 2016;36:220-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2896>
89. **Latorre PA, Arévalo JM, García F.** Asociación entre la fuerza de las piernas y el área de sección muscular transversal del músculo cuádriceps femoral y el grado de actividad física en octogenarios. *Biomédica.* 2016;36:258-64. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2654>
90. **Támara JR, Álvarez CA, Rodríguez J.** Pérdida de seguimiento y factores asociados en pacientes inscritos en el programa de HIV/sida del Hospital Universitario San Ignacio, Colombia, 2012-2013. *Biomédica.* 2016;36:265-75. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2939>
91. **Pérez I, Bustamante D, Ibáñez M.** Polimorfismo del gen del transportador de serotonina (5-HTT) y trastorno de depresión mayor en pacientes en Bogotá, Colombia. *Biomédica.* 2016;36:285-94. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3069>
92. **Martínez J.** Factores asociados a la mortalidad por enfermedades no transmisibles en Colombia, 2008-2012. *Biomédica.* 2016;36:535-46. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3069>
93. **Arias PM, Calderón LP, Castillo JS, Moreno J, Leal AL, Cortés JA, et al.** Factores de riesgo de la resistencia a meticilina de *Staphylococcus aureus* causante de bacteriemia: estudio multicéntrico de casos y controles emparejados. *Biomédica.* 2016;36:612-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i4.3193>
94. **Carvajal C, Pacheco C, Jaimes F.** Perfil clínico y demográfico y factores de riesgo frente a la infección por *Clostridium difficile*. *Biomédica.* 2017;37:53-61. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.2915>
95. **Torres J, Rojas C, Mendoza D, Marín D, Orobio S, Echandia C.** Factores de riesgo asociados con el desarrollo de asfisia perinatal en neonatos en el Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia, 2010-2011. *Biomédica.* 2017;37:51-6. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.2844>
96. **Cano C, Borda MG, Reyes C, Arciniegas AJ, Samper R.** Evaluación de factores asociados al estado funcional en ancianos de 60 años o más en Bogotá, Colombia. *Biomédica.* 2017;37:57-65. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3197>
97. **Osorio K, Beltrán M, Arias Y, Prieto F, Robayo A.** Supervivencia de receptores de trasplante renal en Colombia, 2008-2012. *Biomédica.* 2017;37:175-83. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i2.3246>
98. **Pedraza AM, Rodríguez CE, Acuña R.** Validación inicial de una escala para medir el nivel de sobrecarga de padres o cuidadores de niños asmáticos. *Biomédica.* 2013;33:361-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i3.813>
99. **Machado JE, Morales CH.** Patrones de prescripción de antipsicóticos en pacientes afiliados al Sistema General de Seguridad Social en Salud de Colombia. *Biomédica.* 2013;33:418-28. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i3.1529>
100. **Valencia D, Naranjo C, Parra M, Caro M, Valencia A, Jaramillo C, et al.** Asociación y efectos de interacción en los genes AGT, AGTR1, ACE, ADRB2, DRD1, ADD1, ADD2, ATP2B1, TBXA2R y PTGS2 sobre la hipertensión en la población antioqueña. *Biomédica.* 2013;33:598-614. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.1489>

101. **Velásquez S, Matute JD, Gámez LY, Enríquez LE, Gómez ID, Toro F, et al.** Caracterización de la expresión de nCD64 en neutrófilos y de los niveles de s-TREM-1 y HMGB-1 en pacientes con sospecha de infección admitidos en el departamento de emergencias. *Biomédica*. 2013;33:643-52. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.805>
102. **Yusti D, Arboleda M, Agudelo P.** Factores de riesgo sociales y ambientales relacionados con casos de leptospirosis de manejo ambulatorio y hospitalario, Turbo, Colombia. *Biomédica*. 2013;33(Supl.1):117-29. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1457>
103. **Carabalí M, Ocampo C, Toledo ME, Osorio I.** Difusión masiva de reportes situacionales sobre dengue: efectos de la intervención en Guadalajara de Buga, Colombia. *Biomédica*. 2013;33(Supl.1):130-41. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.724>
104. **García I, De la Hoz F, Reyes Y, Montoya P, Guerrero MI, León CI.** Prevalencia de sintomáticos respiratorios, de infección y enfermedad tuberculosa y factores asociados: estudio basado en población, Mitú, Vaupés, 2001. *Biomédica*. 2004;24(Supl. 1):124-31. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24iSuppl1.1311>
105. **Alvarado BE, Alzate A, Mateus JC, Carvajal R.** Efectos de una intervención educativa y de participación comunitaria en el control de la malaria en Buenaventura, Colombia. *Biomédica*. 2006;26:266-78. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i3.355>
106. **Girón SL, Mateus JC, Méndez F.** Impacto de un botadero a cielo abierto en el desarrollo de síntomas respiratorios y en costos familiares de atención en salud de niños entre 1 y 5 años en Cali, Colombia. *Biomédica*. 2009;29:392-402. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v29i3.11>
107. **Ferro C, De las Salas J, González M, Díaz A, Cabrera C, Flórez Z, et al.** ¿Existen condiciones que favorecen la reaparición del virus de la encefalitis equina venezolana en la Alta Guajira colombiana? *Biomédica*. 2015;35:43-52. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2212>
108. **Machado-Duque ME, Alzate-Carvajal C, Zapata-Castañeda K, Machado-Alba JE.** Perfil de utilización del carbonato de litio en pacientes con trastorno afectivo bipolar en 25 ciudades de Colombia. *Biomédica*. 2017;37:43-50. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.2815>

ORIGINAL ARTICLE

## Tuberculosis and comorbidities in urban areas in Argentina. A gender and age perspective

Alberto Echazarreta (†)<sup>1</sup>, Elsa Zerbini<sup>2</sup>, José De Sandro<sup>3</sup>, César Sáenz<sup>4</sup>, Leila Yessi<sup>5</sup>,  
Romina Saad<sup>6</sup>, Gabriela Manonelles<sup>7</sup>, Mónica Cuello<sup>8</sup>

- <sup>1</sup> Sección de Tuberculosis, Asociación Argentina de Medicina Respiratoria, Ciudad de Buenos Aires, Argentina  
<sup>2</sup> Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni", Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud - ANLIS, Santa Fe, Argentina  
<sup>3</sup> Hospital San Martín, La Plata, Argentina  
<sup>4</sup> Hospital Ramos Mejía, Ciudad de Buenos Aires, Argentina  
<sup>5</sup> Hospital San Juan de Dios, La Plata, Argentina  
<sup>6</sup> Hospital Presidente Perón, Avellaneda, Argentina  
<sup>7</sup> Programa de Control y Tratamiento de la Tuberculosis, Río Gallegos, Argentina  
<sup>8</sup> Hospital Carrasco, Rosario, Argentina  
(†) Deceased

**Introduction:** Tuberculosis continues to be a major health problem in the world with an incidence of more than 10 million cases in 2015. There are factors that change the risk of developing the disease after infection, as well as the presentation of the disease.

**Objective:** To determine the main comorbidities and demographic, clinical and microbiological characteristics of tuberculosis adult patients in Argentina from a gender and age perspective.

**Materials and methods:** We conducted a cross-sectional study in urban referral hospitals for patients with tuberculosis. We included tuberculosis patients of 15 years or more of age who were hospitalized or treated in outpatient clinics with bacteriologically confirmed pulmonary or extrapulmonary forms of the disease, as well as those who, although not bacteriologically confirmed, had clinical and radiological characteristics consistent with tuberculosis. The study period was from August 1<sup>st</sup>, 2015 to August 31<sup>st</sup>, 2016.

**Results:** We included 378 patients. The median age was 37 years. Male gender was associated with extrapulmonary tuberculosis, hospitalization, smoking, drug addiction and alcoholism. Tuberculosis and aids (22.6%) was related to drug use, admission into hospital, extrapulmonary tuberculosis, non-addiction to tobacco, non-pathological radiology, absence of cavitation, and negative sputum smear microscopy. Patients less than 40 years of age had a higher rate of drug addiction and low weight, while those aged 40 or over had a higher proportion of diabetes, alcoholism and chronic obstructive pulmonary disease (COPD).

**Conclusions:** This study will help recognize tuberculosis patients' characteristics and comorbidities influencing the development and evolution of the disease from an age and gender perspective to enable the development of social and community-based strategies.

**Key words:** Tuberculosis; comorbidity; gender identity; age groups; acquired immunodeficiency syndrome; risk factors; Argentina.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3904>

### Tuberculosis y comorbilidades en áreas urbanas de Argentina. Una perspectiva de edad y sexo

**Introducción.** La tuberculosis continúa siendo un importante problema de salud en el mundo, con una incidencia de más de 10 millones de casos en el 2015. Hay factores que modifican el riesgo de desarrollar la enfermedad luego de contraer la infección, así como su forma de presentación.

**Objetivo.** Determinar las principales comorbilidades y características demográficas, clínicas y microbiológicas de pacientes adultos con tuberculosis en Argentina, mediante un análisis desde la perspectiva de sexo y edad.

**Materiales y métodos.** Se llevó a cabo un estudio transversal en hospitales de referencia para pacientes de áreas urbanas con tuberculosis. Se incluyeron pacientes de 15 años o más con

#### Author's contributions:

Alberto Echazarreta: design of the study protocol

Elsa Zerbini: design of the study protocol, analysis of the information and writing of the final report

José De Sandro: review of the study protocol, coordination of field work, data collection and review of the final report

César Saenz, Leila Yessi, Romina Saad, Gabriela Manonelles and Mónica Cuello: review of the study protocol, data collection and review of the final report

tuberculosis pulmonar o extrapulmonar, confirmada bacteriológicamente y en tratamiento hospitalario o ambulatorio, y también, pacientes sin confirmación bacteriológica, pero con características clínicas y radiológicas indicativas de tuberculosis. El período de estudio fue del 1º de agosto de 2015 al 31 de agosto de 2016.

**Resultados.** Se incluyeron 378 pacientes. La mediana de edad fue de 37 años. El sexo masculino estuvo asociado con tuberculosis extrapulmonar, hospitalización, tabaquismo, adicción a drogas y alcoholismo. Los menores de 40 años presentaron adicción a drogas y bajo peso con mayor frecuencia, en tanto que los de 40 años o más presentaron, en mayor proporción, diabetes, alcoholismo y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Se observaron más casos de sida en el sexo masculino, y en edades de 40 años y más.

**Conclusiones.** Este trabajo permitió conocer las características y las comorbilidades de enfermos de tuberculosis, que influyen en el desarrollo y la evolución de la enfermedad, desde una perspectiva de edad y sexo, con el objetivo de facilitar enfoques de manejo que incorporan aspectos sociales y comunitarios.

**Palabras clave:** tuberculosis; comorbilidad; identidad de género; grupos de edad; síndrome de inmunodeficiencia adquirida; factores de riesgo; Argentina.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3904>

In 2015, an estimate of 10.4 million tuberculosis (TB) incident cases occurred on a global scale, 142 per 100,000 inhabitants; 62% were male, 90% were adult and 11% were HIV-positive. In the National TB Programs (NTP, 6.1 million new TB cases were reported, with the extrapulmonary form accounting for 15%; 57% of pulmonary TB (PTB) new and relapse cases were bacteriologically confirmed (1).

In Argentina, 10,713 TB cases were reported to the NTP in 2015 (24.8 per 100,000 inhabitants); new cases and relapses accounted for 91.1%, the highest notification rate being observed between 20 and 24-year-old patients, with 85.5% of pulmonary localization, 70.0% with bacteriological confirmation, sputum smear microscopy, SSM, or culture and 63.8% with positive SSM (SSM +). Among extrapulmonary localizations, the pleural was the most frequent, followed by the lymph node and meningeal localizations. Coverage of HIV testing in patients with TB was 19.8%, of whom 33.4% were positive; positivity dropped to 6.5% when the total number of cases was considered (2).

The risk of developing TB after contracting infection is variable. Some risk factors are known to facilitate the development of the disease and to provoke a greater or lesser degree of immunodeficiency, increasing up to 1,000 times the odds of suffering from TB as opposed to people without such risk factors (3).

Corresponding author:

Elsa Zerbini, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni", Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud - ANLIS, Santa Fe, Argentina  
Telephone and fax: (54-0342) 489 2827/6851; int. 107  
[elsazerbini@arnet.com.ar](mailto:elsazerbini@arnet.com.ar)

Received: 07/06/17; accepted: 28/08/17

Common immunocompromised conditions include HIV/AIDS, advanced age, cancer, immunosuppressive therapies, diabetes mellitus, renal diseases requiring dialysis, malnutrition and liver cirrhosis (4).

HIV infection has been the most important risk factor for developing TB in countries with a high burden of the disease. However, epidemiological studies have highlighted the relevance of other factors in perpetuating epidemic TB, including smoking and diabetes mellitus (5).

Risk factors may also change PTB presentation, including age, diabetes mellitus, AIDS, chronic kidney disease, and malnutrition. Some authors found that age can influence clinical symptoms and radiographic manifestations, with less cavitation frequency in very advanced age or very young groups. Conversely, diabetes mellitus is associated with higher odds of having cavities (6).

The aforementioned risk factors, along with pregnancy and breastfeeding, also impact on treatment. Although standard treatment regimens are used, close patient follow-ups should be performed and each case individually assessed (3). In patients with comorbidities and other conditions, such as HIV and smoking, a higher percentage of TB recurrence has been reported (7,8). In Istanbul, Turkey, the presence of alcoholism and smoking, old age, low weight and SSM positivity, was associated with male gender (9). Other authors reported an association between addiction and gender (10-12).

A study conducted in a Buenos Aires city hospital in Argentina between 1997 and 2010 determined that the most frequent TB comorbidities and other conditions were smoking (14%); HIV (6.5%); asthma (5.6%) and alcoholism (4.8%) (13). Another

study conducted with TB patients over 15 years old in Córdoba city, Argentina, reported low weight (63%), smoking (61%), alcoholism (23%), illicit drugs (22%) and diabetes mellitus (19%), as major comorbidities (14).

Eighty percent of the Latin American and Caribbean population lives in cities, a proportion that grew twofold between 1950 and 2010. The burden of TB is higher in urban than in rural areas, both in developed and developing countries, this being largely attributed to living conditions of the population living in peripheral slums (15).

In order to control TB, comprehensive health care with an inter-programmatic and cross-sector approach is required, coordinating different actors and sectors, addressing the main health determinants which promote and aggravate the TB endemic, especially in marginal slum populations from large cities. This study aimed to determine the main comorbidities, associated conditions and demographic, clinical and microbiological characteristics of adult TB patients from urban centers in Argentina from a gender and age perspective.

### Materials and methods

We conducted a cross-sectional study in referral hospitals for TB patients from urban areas with more than 90,000 inhabitants located in the provinces of Buenos Aires, Santa Fe, Santa Cruz and the Autonomous City of Buenos Aires. Three provinces are in the central region of the country and they have a temperate climate and four well-defined seasons; the two cities in Santa Cruz province belong to the semi-desert region of Patagonia, where the climate is cold, dry, and continuously drafty. The cities or municipalities where the study hospitals are located were selected for convenience: Caleta Olivia and Río Gallegos (Santa Cruz), Avellaneda, Florencio Varela, Lanús, Lomas de Zamora, La Plata, Merlo, Quilmes, and San Fernando (Buenos Aires), Rosario (Santa Fe), and Buenos Aires city. We included TB patients of  $\geq 15$  years of age who were hospitalized or treated by outpatient clinics with bacteriologically confirmed pulmonary or extrapulmonary TB, as well as patients who, although not bacteriologically confirmed, had clinical and radiological characteristics consistent with TB and were prescribed TB treatment.

The study period was from August 1<sup>st</sup>, 2015, to August 31<sup>st</sup>, 2016. Information was obtained from patients' medical records and/or treatment cards. A form was specifically designed for the study

observing enough caution to keep confidentiality and not to reveal identities. In the event that by error or omission this information was not available or not clear enough, an interview was conducted with the patients and/or their companions, where their consent was requested. Patients whose information records could not be completed or clarified were excluded. The study was authorized by hospital officers and approved by the ethics committee within each of them.

Variables in the study included: gender, age, place of residence, nationality (based on the birthplace), years of residence in Argentina, height and weight, TB type (pulmonary or extrapulmonary), type of extrapulmonary TB, type of comorbidity or condition at the time of diagnosis, pregnancy or puerperium, history of previous TB treatment; SSM results, culture and chest X-ray at the time of diagnosis; HIV serology and treatment results, and need of hospitalization during treatment.

Two types of patients were considered: New and with a history of treatment. New patients were considered as those who had never had TB treatment, or else were treated for TB for less than a month; patients with a history of treatment were those who were previously treated for TB for more than one month and diagnosed again as having active TB.

Anyone who smoked at least 100 cigarettes in his life and smoked some days or every day at the time was considered a smoker.

For the calculation of the body mass index (BMI), weight and height were measured at the beginning of treatment.

The World Health Organization (WHO) definition of alcoholism was adopted: daily ingestion of alcohol in excess of 50 g in women and 70 g in men. This condition was recorded when this daily alcohol consumption was determined by the interview. To define drug addiction, we considered those substances that patients declared in the interview as having used in a compulsive fashion.

### Data analysis

Data analysis was performed using EpiInfo software 7.1.5.2. For continuous variables, the mean, median and range were determined. To evaluate the association between TB patients' comorbidities or characteristics and gender, the presence of aids and age groups, we performed a univariate analysis; for categorical variables, we used the

chi square test or the Fischer exact test. When  $p$  was less than 0.050, the result was considered statistically significant.

Variables with information from more than 300 TB cases that resulted in a significance of  $p < 0.100$  in the univariate analysis were included in a multivariate logistic regression model. The strength of the association was determined with odds ratios (OR) and their 95% confidence intervals (CI). When  $p$  was less than 0.050, the result was considered statistically significant.

## Results

We included 378 patients: 163 (43.1%) from Buenos Aires province, 120 (31.7%) from Buenos Aires city, 49 (13.0%) from Rosario city, Santa Fe province, and 46 (12.2%) from Santa Cruz province. The mean age was 39.7 and the median age 37 (range: 15-89 years). Sixty-five percent of TB patients were between 15 and 45 years and the highest frequency (36.4%) was registered in the 15 to 30 year group. Fifty-eight percent (58.2%) of TB patients were male; the male/female ratio was 1.34 in new patients and relapses, and 2.27 in those with a history of treatment.

Among the 327 patients who had the SSM result, the culture result of 216 was known, with 139/216 SSM (+) having positive culture. Only 1/140 patients with positive SSM resulted in a negative culture. None of the patients in the study was diagnosed by molecular methods.

The characteristics and comorbidities of patients by gender are shown in table 1. Those showing a statistically significant association with male gender were: extrapulmonary TB (including mixed: pulmonary and extrapulmonary TB), hospitalization, smoking, drug addiction, and alcoholism, with the following proportions of 37.0, 31.8, 31.5, 20.5 and 15.1%, respectively, in men. Using a multivariate analysis, alcoholism (OR=2.89; 95%CI: 1.01-8.21;  $p=0.047$ ) and extrapulmonary TB (OR=2.94; 95%CI: 1.64 - 5.26;  $p=0.000$ ) were confirmed as statistically significant.

Of the 42 patients with information on the type of drug they used, 71.4% used more than one type, the most frequent combination being marijuana and cocaine.

The BMI mean was 21.6 and the median, 21.2 (range: 13.1-38.3). Of 206 TB patients, 24.3% were underweight (BMI<18.5), 14.6% were overweight (BMI: 25-29.99) and 5.3% were obese (BMI≥30).

Overweight or obese patients had a higher proportion of diabetes mellitus (OR=10.96; 95%CI: 4.60 -26.12;  $p=0.000$ ).

Other comorbidities with a frequency higher than 2% were: COPD (2.9%), rheumatic disease (2.9%), hypertension (2.6%), immunosuppressive treatment (2.6%), renal disease (2.4%), and cancer (2.1%).

There were three pregnant patients and one puerpera, accounting for 0.8% and 0.3% of total cases, respectively.

Information on the presence or absence of multi-drug resistance was obtained for 150 patients and four (2.7%) were multiresistant. Of 155 patients from whom monoresistance information was collected, eight (5.2%) were resistant to isoniazid and six (3.9%) to rifampicin.

Out of 376 TB patients 85 (22.6%) had AIDS. A statistically significant association was observed between the presence of AIDS and drug use ( $p=0.000$ ), need for hospitalization ( $p=0.000$ ), extrapulmonary TB ( $p=0.002$ ), extrapulmonary TB in localizations other than pleural ( $p=0.001$ ), non-pathological radiology ( $p=0.001$ ), cavitation absence ( $p=0.001$ ), and negative SSM ( $p=0.000$ ) (table 2). The main forms of extrapulmonary TB were miliary, meningeal, and lymph node TB. Using multivariate analysis in relation to presence of AIDS, drug use (OR: 3.45 (1.04-11.41);  $p: 0.042$ ), hospitalization (OR=4.70; 95%CI: 2.03-10.87;  $p=0.000$ ), non-pathological radiology (OR=11.11; 95%CI: 1.49-100.00;  $p=0.020$ ) and SSM (-) (OR= 10; 95%CI: 4-25;  $p=0.000$ ) were confirmed as statistically significant.

Of 25 HIV-infected patients whose CD4 T-lymphocyte counts were known, 22 had counts below 200 cells/mm<sup>3</sup>.

On the basis of the median age of TB patients, the population was divided into two groups: <40 years and ≥40 years. A statistically significant association was observed between those <40 years and drug addiction ( $p= 0.015$ ) and low weight ( $p=0.004$ ) (table 3). Patients ≥40 years of age showed a statistically significant association with the presence of diabetes mellitus ( $p=0.000$ ), alcoholism ( $p=0.010$ ) and COPD presence ( $p=0.027$ ). Using multivariate analysis, an association was confirmed between TB patients <40 and drug addiction (OR=2.71; 95%CI: 1.34-5.49;  $p=0.042$ ), and between those >40 and alcoholism (OR=3.45; 95%CI: 1.54-7.69;  $p=0.002$ ), and diabetes mellitus (OR=4.35; 95%CI: 2.08-9.09;  $p=0.000$ ).

**Table 1.** Comorbidities, other associated conditions and demographic, clinical, and microbiological characteristics of tuberculosis adult patients in urban conglomerates of Argentina, according to gender. August 2015-August 2016

Characteristic		Total <sup>1</sup>	Male	Female	OR <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
Argentinian <sup>4</sup>	Yes	284 (79.8)	162 (77.9)	122 (82.4)	0.75 (0.44-1.28)	0.293
	No	72 (20.2)	46 (22.1)	26 (17.6)		
	Total	356 (100.0)	208 (100.0)	148 (100.0)		
Hospitalized <sup>5</sup>	Yes	84 (26.3)	57 (31.8)	27 (19.3)	1.95 (1.16-3.30)	0.012
	No	235 (73.7)	122 (68.2)	113 (80.7)		
	Total	319 (100.0)	179 (100.0)	140 (100.0)		
Low weight	Yes	49 (23.9)	27 (23.7)	22 (24.2)	0.97 (0.51-1.86)	0.935
	No	156 (76.1)	87 (76.3)	69 (75.8)		
	Total	205 (100.0)	114 (100.0)	91 (100.0)		
New case	Yes	318 (86.4)	180 (83.7)	138 (90.2)	0.56 (0.29-1.06)	0.074
	No	50 (13.6)	35 (16.3)	15 (9.8)		
	Total	368 (100.0)	215 (100.0)	153 (100.0)		
Extrapulmonary <sup>6</sup> TB <sup>7</sup>	Yes	109 (29.3)	80 (37.0)	29 (18.6)	2.58 (1.58-4.20)	0.000
	No	263 (70.7)	136 (63.0)	127 (81.4)		
	Total	372 (100.0)	216 (100.0)	156 (100.0)		
Cavitation	Yes	133 (51.0)	72 (50.3)	61 (51.7)	0.95 (0.58-1.54)	0.829
	No	128 (49.0)	71 (49.7)	57 (48.3)		
	Total	261 (100.0)	143 (100.0)	118 (100.0)		
SSM (+) <sup>8</sup>	Yes	210 (64.2)	114 (60.6)	96 (69.1)	0.70 (0.44-1.11)	0.128
	No	117 (35.8)	74 (39.4)	43 (30.9)		
	Total	327 (100.0)	188 (100.0)	139 (100.0)		
AIDS	Yes	85 (22.6)	57 (26.0)	28 (17.8)	1.62 (0.97-2.69)	0.061
	No	291 (77.4)	162 (74.0)	129 (82.2)		
	Total	376 (100.0)	219 (100.0)	157 (100.0)		
Diabetes	Yes	47 (12.5)	31 (14.2)	16 (10.2)	1.45 (0.76-2.76)	0.252
	No	329 (87.5)	188 (85.8)	141 (89.8)		
	Total	376 (100.0)	219 (100.0)	157 (100.0)		
Alcoholism	Yes	39 (10.4)	33 (15.1)	6 (3.8)	4.46 (1.82-10.94)	0.000
	No	337 (89.6)	124 (84.9)	213 (96.2)		
	Total	376 (100.0)	157 (100.0)	219 (100.0)		
Drug addiction	Yes	55 (14.6)	45 (20.5)	10 (6.4)	3.80 (1.85-7.81)	0.000
	No	321 (85.4)	174 (79.5)	147 (93.6)		
	Total	376 (100.0)	219 (100.0)	157 (100.0)		
Smoking	Yes	101 (26.9)	69 (31.5)	32 (20.4)	1.80 (1.11-2.91)	0.016
	No	275 (73.1)	150 (68.5)	125 (79.6)		
	Total	376 (100.0)	219 (100.0)	157 (100.0)		

<sup>1</sup> Values expressed as n (%); <sup>2</sup> OR: Odds ratio; <sup>3</sup> p: p value; <sup>4</sup> Argentinian: born in Argentina; <sup>5</sup> Hospitalized: patient who required hospitalization during treatment; <sup>6</sup> Extrapulmonary TB: includes exclusive extrapulmonary locations and mixed locations (pulmonary + extrapulmonary); <sup>7</sup> TB: tuberculosis; <sup>8</sup> SSM (+): positive sputum smear microscopy

## Discussion

Identification of the best strategies for prevention and control of coexisting diseases is vital for progress towards the fulfillment of the Sustainable Development and the End TB Strategy Goals. This can only be possible with a thorough knowledge

of how these diseases develop. Although social determinants of health are the chief factors behind the ongoing TB pandemic, there are other known risk factors of *Mycobacterium tuberculosis* infection and progression to active disease (16). This study aimed at determining the main comorbidities and conditions, and demographic, clinical, and

bacteriological characteristics of adult TB patients in urban centers in Argentina, approaching them from a gender and age perspective.

The highest frequency of ages in the 15-to-30 year group coincides with the information published by Argentina's NTP, where the highest new case and relapse notification rates occur in groups of 20 to 24, 25 to 29 and 30 to 34 years (2). The prevalence of new cases and relapses in young groups could be attributed to a TB sustained transmission in the community. In keeping with reports from the Argentinean NTP, there is a higher proportion of males, both in new and relapsed cases and in non-new ones (2).

WHO indicates that active or passive exposure to tobacco smoke is significantly associated with both TB infection and disease. Being an active smoker is also significantly associated with recurrent TB and mortality by TB (17).

Hassmiller, in a review, concludes that smoking is associated with risks of becoming infected with *M. tuberculosis*, developing TB, presenting with TB more severe forms, and dying from it, observing in many cases a strong dose-response relationship, in terms of smoking volume as well as duration (18). In this study, smoking appears as the most frequent condition among TB patients.

**Table 2.** Comorbidities, other associated conditions and demographic, clinical, and microbiological characteristics of tuberculosis adult patients in urban conglomerates of Argentina, according to their AIDS status. August, 2015-August, 2016

Characteristic	Total <sup>1</sup>	With AIDS	Without AIDS	OR <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
<40years					
Yes	202 (54.0)	40 (47.1)	162 (56.1)	0.70 (0.43-1.13)	0.144
No	172 (46.0)	45 (52.9)	127 (43.9)		
Total	374 (100.0)	85 (100.0)	289 (100.0)		
Drug addiction					
Yes	55 (14.8)	29 (33.7)	26 (9.2)	4.99 (2.75-9.07)	0.000
No	321 (85.2)	57 (66.3)	264 (90.8)		
Total	376 (100.0)	86 (100.0)	290 (100.0)		
Alcoholism					
Yes	40 (10.6)	14 (16.3)	26 (8.9)	1.99 (0.99-4.00)	0.051
No	336 (89.4)	72 (83.7)	264 (91.1)		
Total	376 (100.0)	86 (100.0)	290 (100.0)		
Hospitalized <sup>4</sup>					
Yes	85 (26.5)	35 (56.4)	50 (19.3)	5.42 (3.00-9.77)	0.000
No	236 (73.5)	27 (43.6)	209 (80.7)		
Total	321 (100.0)	62 (100.0)	259 (100.0)		
Smoking					
No	276 (73.4)	225 (77.3)	51 (60.0)	2.40 (1.41-4.00)	0.001
Yes	100 (26.6)	66 (22.7)	34 (40.0)		
Total	376 (100.0)	291 (100.0)	85 (100.0)		
Pathologic RX <sup>5</sup>					
No	12 (3.9)	7 (10.6)	5 (2.0)	5.55 (1.75-20)	0.001
Yes	299 (96.1)	59 (89.4)	240 (98.0)		
Total	311 (100.0)	66 (100.0)	245 (100.0)		
Cavitation					
No	128 (48.9)	29 (74.4)	99 (44.4)	3.70 (1.69-7.69)	0.001
Yes	134 (51.1)	10 (25.6)	124 (55.6)		
Total	262 (100.0)	39 (100.0)	223 (100.0)		
Extrapulmonary <sup>6</sup> TB <sup>7</sup>					
Yes	109 (29.1)	36 (42.4)	73 (25.3)	2.17 (1.31-3.60)	0.002
No	265 (70.9)	49 (57.6)	216 (74.7)		
Total	374 (100.0)	85 (100.0)	289 (100.0)		
Pleural <sup>8</sup> TB <sup>7</sup>					
No	50 (47.2)	27 (81.8)	23 (31.5)	10.00 (3.57-25.00)	0.000
Yes	56 (52.8)	6 (18.2)	50 (68.5)		
Total	106 (100.0)	35 (100.0)	73 (100.0)		
SSM (+) <sup>9</sup>					
No	117 (35.8)	49 (71.0)	68 (26.4)	6.67 (3.85-12.5)	0.000
Yes	210 (64.2)	20 (29.0)	190 (73.6)		
Total	327 (100.0)	69 (100.0)	258 (100.0)		

<sup>1</sup> Values expressed as n (%); <sup>2</sup> OR: Odds ratio; <sup>3</sup> p: p value; <sup>4</sup> Hospitalized: patient who required hospitalization during treatment; <sup>5</sup> Rx: radiology; <sup>6</sup> Extrapulmonary TB: includes exclusive extrapulmonary locations and mixed locations (pulmonary + extrapulmonary); <sup>7</sup> TB: tuberculosis; <sup>8</sup> Pleural TB: includes exclusive pleural locations and mixed locations (pleural + pulmonary); <sup>9</sup> SSM (+): positive sputum smear microscopy

Kirenga, *et al.*, in Uganda, reported 26.3% of patients with a history of smoking; Cruz-Hervert, *et al.*, in Vera Cruz (México) determined 25% of smokers, finding a statistically significant association between this addiction and ages <45 (5,19). These values are similar to the 26.9% found in Argentina, where there is no apparent association with age, but there is with regard to male gender. It is in this gender that, as documented, tobacco addiction prevails among the overall population (12,20,21). These findings are relevant because a positive association between smoking and a lack of adherence to anti-tuberculosis treatment (22) has been highlighted.

The specific rate of HIV cases per 100,000 inhabitants in Argentina was 21.6 in 2011 (last year with complete information), totaling 18.8/100,000 inhabitants in 2013, but with incomplete notification (23). AIDS is another comorbidity associated with TB in this study's urban centers, occurring in 22.6% of TB patients. While associations between AIDS, male gender and age of ≥40 years were observed, they were not statistically significant. Association

with male gender could be related to an increase in the male/female ratio of HIV diagnoses in all regions in Argentina, and the connection with ages of ≥40 years could reside in the fact that the median age of HIV diagnosis is 33 (23). Patients with AIDS are hospitalized almost five times more often than those without AIDS; they also have fewer pathological X-rays, less SSM positivity, and CD4+ T cell counts below 200 cells/mm<sup>3</sup>. Similar findings were also reported in a retrospective study conducted in Perú in 2016 (24). Only 18.2% of patients with TB/HIV coinfection and extrapulmonary TB presented pleural forms; in those patients without co-infection, pleural TB accounted for 68.5% of cases.

An increased risk of TB infection, as well as that of TB disease among drug users, has been highlighted even before the emergence of HIV. Outbreaks of TB, both sensitive and drug-resistant, have also been described among drug users (25). According to previous studies, transmission of TB among cocaine users could be due to the presence of multiple risk factors in the places where they gather for consumption. In these patients the odds

**Table 3.** Comorbidities, other associated conditions, and demographic and clinical characteristics of tuberculosis adult patients in urban conglomerates of Argentina according age. August 2015-August 2016

Characteristic	Total <sup>1</sup>	<40 years	≥40 years	OR <sup>2</sup>	p <sup>3</sup>
Drug addiction					
Yes	55 (14.7)	38 (18.8)	17 (9.9)	2.11 (1.14-3.9)	0.015
No	319 (85.3)	164 (81.2)	155 (90.1)		
Total	374 (100.0)	202 (100.0)	172 (100.0)		
Alcoholism					
Yes	38 (10.2)	13 (6.4)	25 (14.5)	0.40 (0.20-0.82)	0.010
No	336 (89.8)	189 (93.6)	147 (85.5)		
Total	374 (100.0)	202 (100.0)	172 (100.0)		
Hospitalized <sup>4</sup>					
Yes	84 (26.2)	47 (25.8)	37 (26.8)	0.95 (0.57-1.57)	0.843
No	236 (73.7)	135 (74.2)	101 (73.2)		
Total	320 (100.0)	182 (100.0)	138 (100.0)		
Smoking					
Yes	99 (26.5)	50 (24.7)	49 (28.5)	0.83 (0.52-1.31)	0.415
No	275 (73.5)	152 (75.3)	123 (71.5)		
Total	374 (100.0)	202 (100.0)	172 (100.0)		
Low weight					
Yes	50 (24.4)	37 (31.9)	13 (14.6)	2.74 (1.35-5.55)	0.004
No	155 (75.6)	79 (68.1)	76 (85.4)		
Total	205 (100.0)	116 (100.0)	89 (100.0)		
Diabetes					
Yes	47 (12.6)	11 (5.5)	36 (20.9)	0.22 (0.11-0.44)	0.000
No	327 (87.4)	191 (94.5)	136 (79.1)		
Total	374 (100.0)	202 (100.0)	172 (100.0)		
COPD <sup>5</sup>					
Yes	11 (2.9)	2 (1.0)	9 (5.3)	0.18 (0.04-0.84)	0.027
No	362 (97.1)	200 (99.0)	162 (94.7)		
Total	373 (100.0)	202 (100.0)	171 (100.0)		

<sup>1</sup> Values expressed as n (%); <sup>2</sup> OR: Odds ratio; <sup>3</sup> p: p value; <sup>4</sup> Hospitalized: patient who required hospitalization during treatment; <sup>5</sup> COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease

of treatment default are higher, remaining infectious for extended periods after diagnosis and developing drug resistant TB (26). In this study, drug use was one of the most common conditions (14.6%), and it was related to male gender, the presence of AIDS, and ages under 40 among TB patients. On this basis, strategies can be designed which adapt to these circumstances, thus reducing its negative outcomes.

Low weight is another common feature among TB patients, occurring in 24.3% of them and rising to 31.9% in patients <40 years of age. Other authors have found a mean BMI of 21.1, very similar to that in Argentina, which did not decrease significantly in the presence of comorbidities (4). In Córdoba, Argentina, 63% of patients had a BMI<21.63, very similar to that of this study where the median was 21.22 (14). Zachariah, *et al.* found that patients with a BMI<17 had a higher risk of dying than those with a BMI≥18.5 (27); in that case, 12.2% of patients in Argentina would be at increased risk of dying because of their low weight. Another study found that overweight was not associated with the risk of dying during TB treatment; however, low weight was (28). In this respect, in urban centers from Argentina, 24.3% of patients being treated for TB had a higher risk of dying.

In a systematic review of TB research, diabetes mellitus appears to increase about threefold the risk of developing TB disease (29). Patients with TB and diabetes mellitus have also a higher baseline bacterial burden, longer bacteriological conversion time during treatment, higher risk of having multi-drug resistance, treatment failure, and recurrence and death, compared to patients without diabetes mellitus (30,31). In Argentina 4 out of 10 adult people were overweight and 2 out of 10 were obese; 1 out of 10 (9.8% of the total population aged ≥18) had diabetes mellitus, according to data from the Third National Risk Factor Survey conducted in 2013 (32). This prevalence of diabetes mellitus is consistent with the 12.5% by TB patients in this study. The association between diabetes mellitus and overweight or obesity and age of ≥40 suggests it is necessary to carry out a comprehensive TB and diabetes mellitus approach, focusing this issue on patients >40 who are overweight or obese.

One study limitation was illegibility or incomplete information in medical records available in health services. So was staff turnover in hospitals, which meant that the person to enter the patient was not aware of the information to be collected at the time or the importance of requesting HIV testing.

Another limitation is that at the time the study analysis was conducted, many patients were still under treatment, so it was not possible to know their outcome.

This study not only helps recognize the characteristics and comorbidities of TB patients influencing TB development and evolution, for their approach within clinics, it also characterizes them by age and gender, thus facilitating inter-sector approaches to cover social and community aspects. This type of study and its approach strategy should be implemented by NTPs to help reduce the scourge of TB.

### Acknowledgements

We thank pneumonology specialists Rosana Billone, Cristina Chirico, Marcela Fraga, Cristina Gaitán, Leticia Limongi, Eduardo Maniago, Cristian Muller, María Elisabet Pizarro, Alejandra Poropat, César Salomone, Ana Putruelle, Susana Tanco, and the Graduate in Social Work Leandro Iparraguirre, for the collection of information from patients in their respective services.

### Conflicts of interest

The authors declare they have no conflicts of interest regarding the content of this article.

### Funding

Authors did not receive any external funding.

### References

1. **World Health Organization.** Global tuberculosis report 2016. Geneva: WHO; 2016. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017. Available in: [http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/gtbr2016\\_main\\_text.pdf](http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/gtbr2016_main_text.pdf)
2. **Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias "Dr. Emilio Coni".** Notificación de casos de tuberculosis en la República Argentina, período 1980-2015. Santa Fe: INER; 2016. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017. Available in: <http://www.anlis.gov.ar/iner/wp-content/uploads/2016/11/Notificacion-de-casos-de-Tuberculosis-en-la-Republica-Argentina-Periodo-1980-2015.pdf>
3. **Caminero J.** Guía de la tuberculosis para médicos especialistas. Paris: UICTER; 2003. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017]. Available in: [http://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/spanish/pub\\_guia\\_medicos\\_especialistas\\_spa.pdf](http://www.theunion.org/what-we-do/publications/technical/spanish/pub_guia_medicos_especialistas_spa.pdf)
4. **Kim SY, Lee SM, Yim JJ, Yoo CG, Kim YW, Han SK, et al.** Treatment response and adverse reactions in older tuberculosis patients with immunocompromising comorbidities. *Yonsei Med J.* 2013;54:1227-33. <https://doi.org/10.3349/ymj.2013.54.5.1227>
5. **Kirenga BJ, Ssengooba W, Muwonge C, Nakiyingi L, Kyaligonza S, Kasozi S, et al.** Tuberculosis risk factors among tuberculosis patients in Kampala, Uganda: Implications for tuberculosis control. *BMC Public Health.* 2015;15:13. <https://doi.org/10.1186/s12889-015-1376-3>

6. **Wang JY, Lee LN, Hsueh PR.** Factors changing the manifestation of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005;9:777-83.
7. **El Sahly HM, Wright JA, Soini H, Bui TT, Williams-Bouyer N, Escalante P, et al.** Recurrent tuberculosis in Houston, Texas: A population-based study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2004;8:333-40.
8. **Yen YF, Yen MY, Lin YS, Lin YP, Shih HC, Li LH, et al.** Smoking increases risk of recurrence after successful antituberculosis treatment: A population-based study. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2014;18:492-8. <https://doi.org/10.5588/ijtld.13.0694>
9. **Yücege M, Sanisoğlu B, Baran R.** Gender difference in clinical presentation of Turkish patients with pulmonary tuberculosis. *Acta Medica Iranica.* 2014;52:52-5.
10. **Díaz-Mesa E, García-Portilla P, Fernández-Artamendi S, Sáiz P, BobesBascarán T, Casares MJ, et al.** Diferencias de género en la gravedad de la adicción. *Adicciones.* 2016;28:221-30.
11. **Bottorff J, Haines-Saah R, Kelly M, Oliffe J, Torchalla I, Poole N, et al.** Gender, smoking and tobacco reduction and cessation: A scoping review. *Int J Equity in Health.* 2014;13:114. <https://doi.org/10.1186/s12939-014-0114-2>
12. **Minutillo A, Pacifici R, Scaravelli G, De Luca R, Palmi I, Mortali C, et al.** Gender disparity in addiction: An Italian epidemiological sketch. *Ann Ist Super Sanità.* 2016;52:176-83. [https://doi.org/10.4415/ANN\\_16\\_02\\_08](https://doi.org/10.4415/ANN_16_02_08)
13. **Fescina P, Membriani E, Limongi L, Putruele A.** Incidencia de la resistencia a drogas en tuberculosis y su asociación a comorbilidades en pacientes tratados en un hospital universitario. *Rev Am Med Resp.* 2013;2:64-70.
14. **Rivera L, VarujanKevorkof G, Oviedo E, Acosta MA, Najó M, Granados M, et al.** Características epidemiológicas de pacientes con tuberculosis en el Hospital Tránsito Cáceres de Allende. *Rev Am Med Resp.* 2014;14:404-11.
15. **Organización Panamericana de la Salud.** Marco de trabajo para el control de la tuberculosis en grandes ciudades de Latinoamérica y el Caribe. Washington, D.C.: OPS; 2016. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017. Available in: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_topics&view=article&id=59&Itemid=40776&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=59&Itemid=40776&lang=es)
16. **Marais B, Lönnroth K, Lawn S, Migliori G, Mwaba P, Glaziou P et al.** Tuberculosis comorbidity with communicable and non-communicable diseases: Integrating health services and control efforts. *Lancet Infect Dis.* 2013;13:436-448. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70015-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70015-X)
17. **World Health Organization/The Union.** TB and tobacco control: Joining efforts to control two related global epidemics. Geneva: WHO, 2007. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017. Available in: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43812/1/9789241596220\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43812/1/9789241596220_eng.pdf)
18. **Hassmiller KM.** The association between smoking and tuberculosis. *Salud Pública Mex.* 2006;48:S201-16. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342006000700024>
19. **Cruz-Hervert L, García-García L, Ferreyra-Reyes L, Bobadilla-Del Valle M, Cano-Arellano B, Canizales-Quintero S, et al.** Tuberculosis in ageing: High rates, complex diagnosis and poor clinical outcomes. *Age Ageing.* 2012;41:488-95. <https://doi.org/10.1093/ageing/afs028>
20. **Mahfouz M, Alsanosy R, Gaffar A, Makeen A.** Tobacco use among university students of Jazan region: Gender differences and associated factors. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:279231. <https://doi.org/10.1155/2014/279231>
21. **Ministerio de Salud de Argentina.** Encuesta Mundial de tabaquismo en adultos 2012. Buenos Aires: 2013. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017. Available in: [http://www.msal.gov.ar/tabaco/images/stories/info-para-ciudadanos/pdf/2013-07\\_GYTS-2012-resumen-ejecutivo.pdf](http://www.msal.gov.ar/tabaco/images/stories/info-para-ciudadanos/pdf/2013-07_GYTS-2012-resumen-ejecutivo.pdf)
22. **Underner M, Perriot J, Peiffer G, Meurice JC, Dautzenberg B.** Smoking and adherence to anti-tuberculosis treatment. *Rev Mal Respir.* 2016;33:128-44. Accessed: August 25<sup>th</sup>, 2017. Available in: <http://www.em-consulte.com/rmr/article/1037819/>
23. **Ministerio de Salud de Argentina.** Boletín sobre el VIH-sida e ITS en Argentina. Buenos Aires, 2015. Accessed: 3<sup>rd</sup> May 2017. Available in: [http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000852cnt-2015-11-18\\_boletin-vih-sida-2015.pdf](http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000852cnt-2015-11-18_boletin-vih-sida-2015.pdf)
24. **Velásquez G, Cegielski J, Murray M, Yagui M, Asencios L, Bayona J, et al.** Impact of HIV on mortality among patients treated for tuberculosis in Lima, Perú: A prospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2016;16:45. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1375-8>
25. **Deiss RG, Rodwell TC, Garfein RS.** Tuberculosis and illicit drug use: Review and update. *Clin Infect Dis.* 2009;48:72-82. <https://doi.org/10.1086/594126>
26. **Story A, Bothamley G, Hayward A.** Crack cocaine and infectious tuberculosis. *Emerg Infect Dis.* 2008;14:1466-9. <https://doi.org/10.3201/eid1409.070654>
27. **Zachariah R, Spielmann MP, Harries AD, Salaniponi FM.** Moderate to severe malnutrition in patients with tuberculosis is a risk factor associated with early death. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2002;96:291-4.
28. **Yen YF, Chuang PH, Yen MY, Lin SY, Chuang P, Yuan MJ, et al.** Association of body mass index with tuberculosis mortality a population-based follow-up study. *Medicine (Baltimore).* 2016;95:e2300. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002300>
29. **Jeon CY, Murray MB.** Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: A systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med.* 2008;5:e152. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050152>
30. **Zahr R, Peterson R, Polgreen L, Cavanaugh J, Hornick D, Winthrop K, et al.** Diabetes as an increasingly common comorbidity among patient hospitalizations for tuberculosis in the USA. *BMJ Open Diabetes Res Care.* 2016;4:e000268. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjdr-2016-000268>
31. **Pal R, Ansari M, Hameed S, Fatima Z.** Diabetes mellitus as hub for tuberculosis infection: A snapshot. *Int J Chronic Dis.* 2016;2016:5981574. <https://doi.org/10.1155/2016/5981574>
32. **Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de Argentina.** Tercera Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades No transmisibles, Argentina 2013. Buenos Aires, 2015. Accessed: May 3<sup>rd</sup>, 2017. Available in: [http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000544cnt-2015\\_09\\_04\\_encuesta\\_nacional\\_factores\\_riesgo.pdf](http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000544cnt-2015_09_04_encuesta_nacional_factores_riesgo.pdf)

ORIGINAL ARTICLE

## Developmental stages and viability of *Toxocara canis* eggs outside the host

Iman Fathy Abou-El-Naga

Medical Parasitology Department, Faculty of Medicine, Alexandria University, Egypt

**Introduction:** Toxocariasis is a soil-transmitted zoonotic disease caused mainly by ingestion of larvated eggs of *Toxocara canis*.

**Objectives:** To study the morphology of the intraovular developmental stages of *Toxocara canis* in culture, characterize non-viable eggs and the sequences of larval molting and compare the viability of eggs at the early stages of division and at reaching full maturation.

**Material and methods:** Observation of developing embryos and characterization of non-viable eggs were done using light microscope. The proportions of viable eggs during embryonation were compared to the proportions of viable mature eggs.

**Results:** Cell division commenced after 24 hours of cultivation. Early stages were found to be present over a period of 3-5 days. The developmental stages identified were eggs with: One cell, two cells, three cells, four cells, early morula, late morula, blastula, gastrula, tadpole, pre-larva, first, second and third stage larva. Two larval molts occurred. Non-viable eggs had degenerated cytoplasm, thin or collapsed shell and the larvae did not move after exposure to light. No significant differences were found between the proportions of viable eggs from day five to day 21 as compared to viability of fully mature eggs (30 days).

**Conclusion:** Developing embryos in the environment may be considered as a potential threat to the public health. The precise identification of developmental stages and the clear differentiation of viable and non-viable eggs can help in determining an accurate baseline rate of development that could be used in studies of ovicidal compounds.

**Key words:** *Toxocara canis*; toxocariasis; zoonoses; embryonic structures; larva.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3684>

### Desarrollo y viabilidad de huevos de *Toxocara canis*

**Introducción.** La toxocariasis es una enfermedad zoonótica transmitida por contacto con el suelo contaminado y causada principalmente por la ingestión de huevos larvados de *Toxocara canis*.

**Objetivos.** Estudiar la morfología de los estadios intraovulares en desarrollo de *T. canis* en cultivo, caracterizar los huevos no viables y las secuencias de las mudas larvarias, y comparar la viabilidad de los huevos en las etapas tempranas de división y al alcanzar la maduración completa.

**Materiales y métodos.** Se observó el desarrollo de los embriones y se caracterizaron los huevos no viables, mediante microscopía de luz. Se comparó la proporción de huevos viables con embrión con la de huevos maduros viables.

**Resultados.** La división celular comenzó 24 horas después de iniciado el cultivo. Los estadios tempranos estuvieron presentes por un periodo de tres a cinco días. Los estadios de desarrollo identificados fueron: huevos con una célula, con dos células, con tres células y con cuatro células; mórula temprana, mórula tardía, blástula, gástrula, renacuajo, prelarva, primer, segundo y tercer estado larvario. Se presentaron dos mudas larvarias. Los huevos no viables tenían el citoplasma degradado, cubierta exterior delgada o colapsada, y su larva no se movía al exponerla a la luz. No se encontraron diferencias significativas entre la proporción de huevos viables del día 5 al día 21, al compararla con la viabilidad de los huevos completamente maduros (30 días).

**Conclusión.** Los embriones en desarrollo en el medio ambiente pueden considerarse como un riesgo potencial para la salud pública. La identificación precisa de los estadios de desarrollo y la clara diferenciación de huevos viables y no viables, pueden ayudar a determinar con exactitud una tasa basal de desarrollo, la cual sería útil en el estudio de compuestos ovicidas.

**Palabras clave:** *Toxocara canis*; toxocariasis; zoonosis; estructuras embrionarias; larva.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3684>

Toxocariasis is a soil-transmitted zoonotic disease caused mainly by ingestion of larvated eggs of *Toxocara canis* that are shed unembryonated with feces of dogs and other canids and reach the infectious stage in the soil. Following ingestion of infective eggs by man the larvae penetrate the small intestine, reach the circulation and spread via the systemic route to different organs where they can encyst for several years (1,2). Infection by ingestion of larvae present in the viscera and undercooked meat from infected paratenic hosts has been demonstrated experimentally in animal models (3).

The migrating larvae invade several organs in man most commonly lungs, liver, muscles, eye and nervous tissue. Human toxocariasis can be asymptomatic or might be present in different clinical syndromes depending on the organ involved, intensity of the infection and the immune status of the host. Allergic manifestations are also common (4). The disease may be classified as visceral larva migrans, ocular larva migrans, neurotoxocariasis and covert or common toxocariasis (5). Toxocariasis can persist for several years as a chronic infection and reactivation of the encysted larvae can occur in immunocompromised individuals leading to further larval migration and exaggeration of the clinical symptoms (6).

Their thick shell enables egg survival in the external environment for many years and confers them resistance to the harsh environmental conditions in soil, chemical treatment of wastewater and sewage sludge (7,8). This leads to high environmental contamination, making the control of the infection a difficult task and increases the chance of dogs becoming infected at any time (9). Contamination of soil with *Toxocara* spp. eggs is common, reaching figures as high as 90% in some cases (10).

*Toxocara canis* eggs can enter sewage through toilets or storm runoff and have been shown to pass through municipal sewage treatment and remain viable. Accordingly, there is a disease transmission risk if sludge containing parasitic eggs is used in topical soil applications (11). Thus, determining the

viability of *T. canis* eggs in soil and wastewater re-used in agriculture is particularly important to public health as a preventative measure.

Several techniques have been used to assess the viability of *Toxocara* spp. eggs, including animal infectivity, the accuracy of the morphological structure during observation under a microscope, internal structural changes, larval motility induction, use of dyes and PCR techniques (7,12,13). In the two widely used methods for wastewater and sewage sludge treatment, the standard United States Environmental Protection Agency method and that recommended by the World Health Organization, the viability is determined according to the presence or absence of larvae inside the eggs (14,15). However, the two methods do not consider a developing embryo prior to larval stages of development as potentially viable (16).

A limited number of studies were concerned with the early developmental stages of *T. canis* or were interested only on the early larval development till reaching maturity (7,17-19). There is no inclusive information about the morphological changes of the eggs from the one cell stage to the infective stage. Furthermore, there is a debate concerning the infectious stage of this important zoonotic helminth, whether it is the egg containing the second or the third stage larva (2,18,20).

The objective of the present work was to study the morphology of the intraovular developmental stages of *T. canis* in culture including the differentiation between viable and non-viable eggs as well as the sequences of larval molting. Furthermore, a comparison of the viability of eggs at the early stages of division and at reaching full maturation was carried out. This will help in determining which larval stage is the infective stage and will help also in estimating the public health hazards of presence of eggs with developing embryos in suitable environments.

## Material and methods

### *Cultivation of Toxocara canis* eggs

Adult *T. canis* worms were collected from the intestines of naturally infected puppies after they were euthanized. The worms were washed in physiological saline and the eggs were extracted from the vagina and the distal third of the uteri. Eggs were suspended in physiological saline solution, and mixed well to remove any effect of individual worm variation and then passed through a stainless steel mesh with 1 mm aperture size. The eggs were

Corresponding author:

Iman Fathy Abou-El-Naga, 12 Abdel Hamid El-Deeb Street, Tharwat, Alexandria, Egypt  
Telephone: (002 0122) 950 1834  
imanabouelnaga@hotmail.com

Received: 16/11/16; accepted: 04/09/17

washed several times in physiological saline solution by centrifugation at 50g for five minutes and were placed in five ml of 1% formalin in slightly covered 50 ml Erlenmeyer flasks at a final concentration of approximately 4,000 eggs/ml. The level of the solution was marked on the flask as a reference, and distilled water was added if evaporation was observed to maintain the desired concentration. Cultivation of eggs was performed at 28°C with continuous aeration for 30 min/day for 30 days (21). At this time the eggs were found to be at their maximum infectivity (18,22). A working egg solution with approximately 200 eggs/ml was prepared by suspending the eggs in distilled water.

#### **Observation of the developmental stages of the embryo daily during the experiment**

Approximately 200 eggs were placed on three microscope slides; each slide was covered with a cover glass, sealed with wax on the edges to prevent evaporation and examined using light microscopy. During examination, attention was given to the motility of the larvae inside the eggs under intense transmitted illumination of the microscope. The number of each developmental stage inside the eggs and the number of eggs with non-viable embryos from the first 100 eggs examined was recorded. When the first stage larvae had developed inside the eggs, examination was performed by gentle pressure using a cover slip to release the larvae. Examination of ten larvae was done every day until day 30. Daily examination was repeated three times.

#### **Assessment of egg viability**

The viability of the eggs was assessed during the early embryonic stage of development from day 5 to 21 of incubation, and compared with the viability detected at day 30.

At the early stages of development, viable eggs are those containing dividing embryos with clearly defined structure. Non-viable eggs are those that do not divide or are arrested in development at any stage. Eggs with abnormal morphology, collapsed shell, poorly defined internal structure and with degenerated contents are also non-viable. For eggs containing larvae, viability was determined by observing larval structure and motility inside the eggs under microscope light stimulation (16,23,24).

#### **Statistical analysis**

The viability of *T. canis* eggs used in this experiment from day 5-21 of cultivation was compared to the viability of eggs after one month of incubation (day

30). We performed a chi-square test for the proportions of viable embryos observed each day (between days five and 21), and the proportion of viable embryos at day 30 of incubation.

## **Results**

### **Morphology of embryonic stages in *Toxocara canis* eggs**

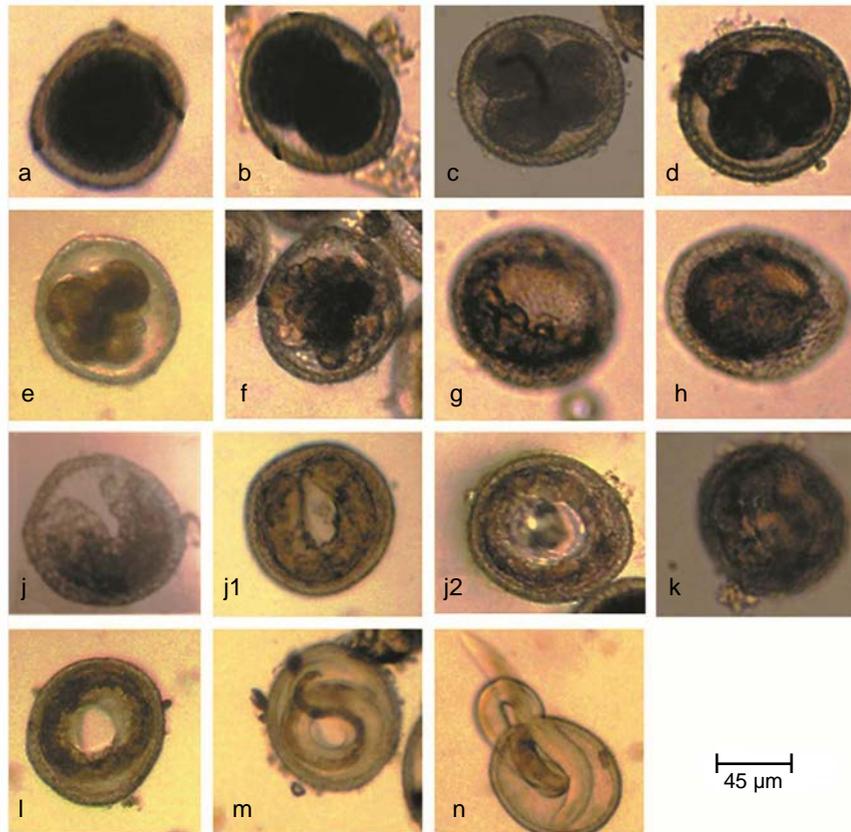
The fresh released eggs from the vagina and uteri of *T. canis* worms are ovoid to spherical. The egg shell consists of four layers; the outermost layer is pitted. The eggs are filled entirely with a cytoplasmic mass. After several hours of cultivation, the cytoplasmic mass is found condensed, forming a clear space between the embryo and the inner shell layer. The developmental stages identified inside the eggs are shown in figure 1, a-m. Some larvae were found to emerge naturally from a small hole in the eggshell (figure 1n).

### **The rate of development of the embryos**

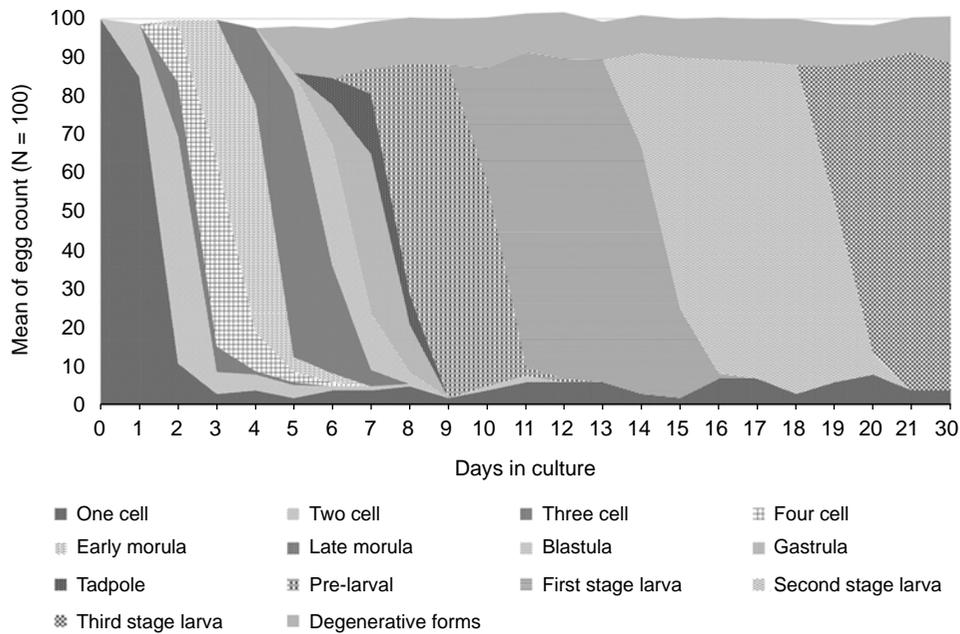
Cell division commenced after 24 hours (day one) of cultivation. The rate of development is shown in figure 2. Each stage was found to be present over a period of 3-5 days except the first and the second stage larvae that were present for longer time. Usually, at a certain time there is more than one stage but there is a peak of one developmental stage. However, the three-cell stage was observed for 36 hours only.

### **Morphology of *Toxocara canis* larvae by light microscopy**

First stage larvae released after artificial hatching of eggs using the cover-slip method at day 10 were delicate and could not tolerate being pressed. They had a blunt rounded anterior end. The region of the esophagus and that of the tail contained scattered large refractive globules and dark granules and in between a more dense intestinal region. However, the three regions were difficult to differentiate. The cuticle and the lips were not recognized. By days 12 and 13, first stage larvae were showing reduced density of granules in the esophageal and caudal regions (figure 3a). At day 13, the start of the first molt was observed where 8% of the larvae had a sheath at the buccal or caudal ends (figure 3b). At day 15 a loose sheath was seen at both extremities. The larvae showed reduce density of the granules in the esophageal and caudal regions. By day 16, the sheath is usually lost and most of the second stage larvae had no sheath (figure 3c). However, about 10% of the larvae retained the sheath.



**Figure 1.** Embryonic stages of *Toxocara canis* eggs: **a:** One cell stage. **b:** Two cell stage. **c:** Three cell stage. **d:** Four cell stage. **e:** Early morula. **f:** Late morula. **g:** Blastula. **h:** Gastrula. **i:** Tadpole. **j:** Pre-larva **j1:** The embryo becomes long enough allowing the two ends of the “U” to meet each other. **j2:** With further growth, the embryo forms a close ring and starts a new one). **k:** First-stage larva. **l:** Second-stage larva. **m:** Third stage larva. **n:** Larva naturally emerged from a small hole in the egg shell



**Figure 2.** Rate of development of *Toxocara canis* embryos incubated at 28 °C. The x-axis represents the day of incubation. The y-axis represents the number of parasite eggs in the different stages of development.

At day 19, the second molt had commenced and the larvae that had lost the 1<sup>st</sup> sheath were surrounded by a new one at day 20 indicating a second molt. The second sheath differs from the first one, being much thicker and, also, by presence of a granular cone-like structure at the anterior end (figure 3d). The larvae that had retained the first sheath had now acquired an additional sheath from the second molt thus having two sheaths, proving that two molts had occurred (figure 3e). The most differentiated third stage larvae were seen by day 21. Most of the third stage larvae could withstand the hatching pressure and were intact. They were characterized by having well developed lips, a granular intestinal region and a distinct excretory pore (figure 3f). No change in the larval morphology was detected until the end of the experiment at 30 days of cultivation (figure 3g).

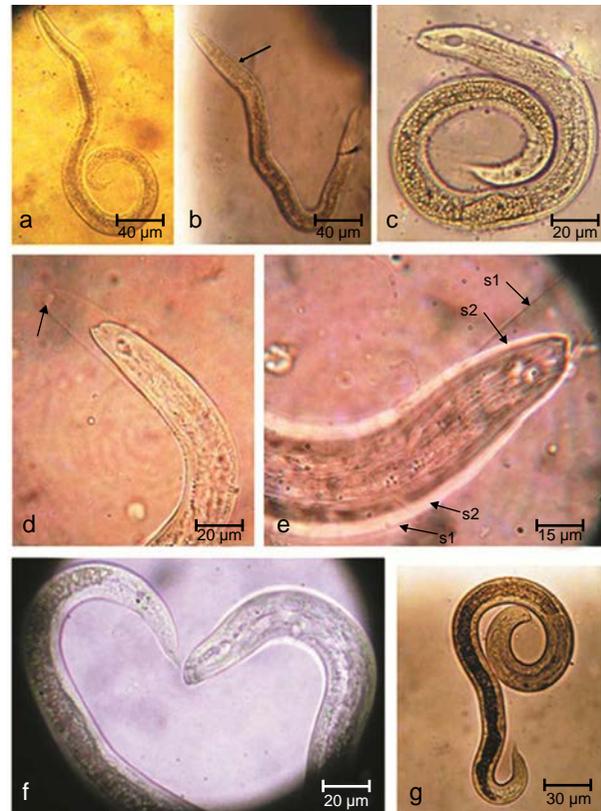
### Egg viability

Viable eggs contain dividing embryos with a clearly defined structure. Throughout the experiment, non-viable eggs had been observed. Some eggs did not divide and remained at one or rarely two-cell stage. Others showed condensed (figure 4a), vacuolated (figure 4b) or degenerated cytoplasm (figure 4c). The shell was either thin (figure 4c) or collapsed (figure 4d). Eggs with deformed embryos were also encountered (figure 4e). After larval development non-viable eggs contained ill-defined larvae (figure 4f) or larvae that did not move after exposure to microscope light stimulation. The first stage larvae inside the eggs responded immediately by movement after light stimulation during examination by light microscopy. The second and third stage larvae responded to light stimulation after three to five minutes.

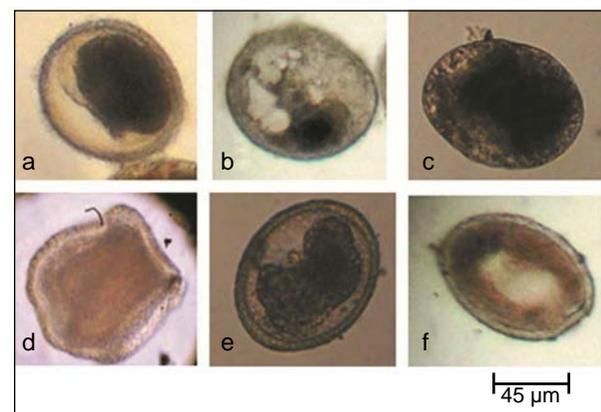
The viability of *T. canis* eggs at day 30 of incubation was  $84.7\% \pm 2.1$ . Resulting p-values ( $>0.5\%$ ) showed no significant differences between the proportions of viable eggs from day 5 to day 21 as compared to the proportion of viable eggs at day 30 of incubation, as shown in figure 5.

### Discussion

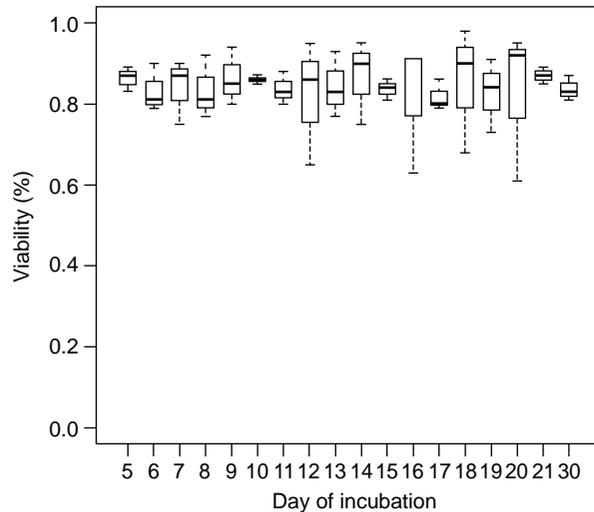
Daily observation of *T. canis* eggs incubated at 28°C in the present study revealed many developmental stages and lead to expanding the stages of intraovular development reported previously (7,19,25,26). These stages are one cell, two cells, three cells, four cells, early morula, late morula, blastula, gastrula, tadpole, pre-larva, first, second and third stage larvae. Different nomenclatures were



**Figure 3.** Morphology of *Toxocara canis* larvae by light microscopy. **a:** First stage larva with poor demarcation of the esophageal, the intestinal and the tail regions. **b:** First stage larva with a sheath at the buccal ends. **c:** Second stage larva showing reduced density of the esophageal and caudal regions. **d:** Second stage larva with a second sheath characterized by a granular cone like structure at the anterior end. **e:** Second stage larva emerging from the egg surrounded by two sheaths (arrows). **f:** Third stage larva at day 21 of cultivation having well developed lips, granular intestinal region and distinct excretory pore. **g:** Third stage larva at day 30 of cultivation



**Figure 4.** Morphology of non-viable eggs. **a:** Egg with condensed cytoplasm. **b:** Egg with vacuolated cytoplasm. **c:** Egg with degenerated cytoplasm and a thin shell. **d:** Collapsed egg. **e:** Egg with deformed embryo. **f:** Egg contains ill-defined larva



**Figure 5.** Viability proportions for *Toxocara canis* eggs during incubation. The y-axis represents the number of embryos viable in percentages. The x-axis represents the day of incubation (from day five to day 21 and day 30). Day 30 is used as a reference. The bottom and top of the box of each box represent the 25th and 75th percentiles, respectively. The band within the box is the 50th percentile (the median). The lines extending out from the top and bottom of the box represent the maximum and minimum values.

previously given concerning some developmental stages of certain ascarids in various publications, in particular those developed just before the appearance of first stage larvae. Both in the current study and the study of the intraovular development of *Toxocara pteropodis*, the U shaped embryo was given the name of tadpole (27), while Cruz, *et al.* (16), gave the name pre-larva1 to this stage during *Ascaris suum* cultivation.

The present study demonstrates for the first time the pre-larval stage in the embryogenesis of *T. canis*. In this stage, there is elongation of the U shaped embryo allowing the two ends of the "U" to meet each other and, with further growth, the embryo forms a closed ring and starts another new ring. The morphology of the embryo that forms a closed ring and starts a new stage was described before as pre-larva 2 during cultivation of *A. suum* eggs by Cruz, *et al.* (16).

The shell of *T. canis* eggs as demonstrated in the present study is thick and is formed by four layers which correspond to those of *Ascaris lumbricoides* as described by Foor (28). The shell consists of an inner lipid layer, a middle chitinous layer, a protein layer and an outer layer which is pitted similar to that of most ascarids (28-30). The function of these layers is to minimize water loss so its thickness

varied in different ascarids according to the environment in which they survive. *Toxocara pteropoides*, the parasite of the grey headed flying foxes which live in tropical environment on mangrove branches, has a thicker outer layer than that of *T. canis* eggs that live in soil and are less exposed to desiccation (30). Furthermore, eggs of *Anisakis* species, which develop in aquatic environments, lack the pitted outer layer (31). In the present work natural hatching of larvae was occasionally seen where larvae emerged from a thin area in the shell. This observation was also noticed in *A. suum* (32).

The time intervals needed for the appearance of each developmental stage of *T. canis* varies between different studies, mainly because of variations in incubating temperatures. Temperature is a capital factor influencing the rate of *T. canis* egg development and the mean daily development rate increased significantly with temperature (7,19). O'Lorcain (25) and Azam, *et al.* (7), found that the eggs of *T. canis* cannot reach full embryonation neither at 37°C nor below 11.8°C and the highest percentage of viable larvated eggs is obtained after incubation at 28°C (21).

In the present study the larvae with the first cuticular sheath appeared at day 14 and the second sheath appeared at day 19. Brunaská, *et al.* (18), found that cuticular sheaths of *T. canis* larvae have the same electron microscopic structure of the cuticles. Most of the examined larvae at day 20 had one sheath. However, 10% of the larvae was found covered by two sheaths, which provides strong evidence of intraovular development of the third larval stage of *T. canis*. Some authors described a second molt within the eggs and referred to the third larva of *T. canis* as the infectious one (18,33). Two larval molts were also observed in *T. pteropoides* and *A. suum* inside the eggs proving that the infective stage is the third stage larvae (27,32,34). There is some controversy about the infectious stage. Some authors reported only one molt within *T. canis* eggs so that the second stage larva is considered as the infectious stage (20,35).

The most differentiated larvae observed in the present study were the third stage larvae which were present at day 21 of incubation. At day 30 of culture no change in the morphology was observed. Infectivity of eggs was not tested in the present study. Brunaská, *et al.* (18) and Abou-El-Naga (22) found that the maximum infectivity of larvated eggs is reached by day 30 of incubation. Prociv (27) and Green, *et al.* (32), found that the infectivity

of *T. pteropoides* and *A. suum* appeared after the second molt and a certain time is needed before maximum infectivity is reached. Green, *et al.* (32), found that most of the third stage larvae lost their second sheath after a period of cultivation.

In the current study, the viability of the embryos at the early stage of development was determined by their continuous division and the clear defined structure. Some non-viable eggs were observed having a thin shell. Foor (28) found that the lipid droplets and granules of the infertile *A. lumbricoides* eggs persist in the cytoplasm and do not contribute in the shell formation resulting in a thin layer formation. The lipid layer plays an essential role in embryo protection (36). Few eggs were also found with abnormal morphology and were retarded in their embryogenesis which may be the result of impaired protein biosynthesis (37).

After larval development, larval integrity and motility in response to light stimulation were used as indicators of viability (15,16,24). Larvae in the eggs showed different motility intensities, where first stage larvae were very sensitive to light and showed active movement immediately after exposure to the light of the microscope during examination. The second and third stage larvae required 3-5 min of viewing time before any movement could be noticed. In agreement with the present results, Cruz, *et al.* (16), while examining *A. suum* eggs found that the first stage larvae showed active motility immediately while second stage larvae required 5-10 min of light stimulation. Johnson, *et al.* (24), observed that in most cases *A. suum* larval movement was detected within a few minutes, but some fields required 5-10 min of observation.

Determination of the viability of parasite eggs, including *Toxocara* spp. eggs, is necessary to access the hazards of environmental contamination, to monitor the safety of treated sanitary materials and to study the effect of different disinfectants. In the present work no significant difference was detected by comparing the viability of the eggs from day 5-21 with that recorded at day 30. Working on *A. suum*, Cruz, *et al.* (16), did not find any significant difference in the viability between the eggs containing embryos and those containing early larvae. Therefore, the early developing embryos of *T. canis* have the potential of achieving mature stage. Therefore, the presence of any developing embryos in *T. canis* eggs in the soil, sewage sludge and wastewater must be considered as a potential threat to the public health and hence treatment of these materials is necessary.

The eggs used in the present study were obtained from the uteri of mature female worms. These eggs are similar to eggs obtained from the feces of the definitive host as regards their infectivity and inactivation but there is a doubt as to whether the tanning process may lead to increase the resistance of the eggshell to environmental conditions (36,38). *Ascaridia galli* eggs isolated from chicken feces were found to have a higher capacity for embryonic development than uterine eggs due to maturation differences (39).

According to the results of the current experiment it could be concluded that two molts take place inside *T. canis* eggs and therefore the egg with the third stage larva is the infective stage. The precise identification of *T. canis* developmental stages in the present study and the clear differentiation of viable and non-viable parasite eggs can help in determining an accurate baseline rate of development that could be used in studies of ovicidal compounds. Furthermore, the findings of the present work may contribute to the study of larval surfaces of the nematodes and their important role in the interaction with the host. Finally, the results highlight the public health importance of the presence of early developing embryos of *T. canis* in the soil, sewage sludge and wastewater.

### Conflicts of interest

The author declares absence of any conflict of interest regarding the contents of this manuscript.

### Financial support

The research received no specific grant from any funding agency.

### References

1. **Smith H, Holland C, Taylor M, Magnaval JF, Schantz P, Maizels R.** How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. *Trends Parasitol.* 2009;25:182-8. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2009.01.006>
2. **Moreira GM, Telmo P de L, Mendonça M, Moreira AN, McBride AJ, Scaini CJ, et al.** Human toxocariasis: Current advances in diagnostics, treatment, and interventions. *Trends Parasitol.* 2014;30:456-64. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.07.003>
3. **Taira K, Saeed I, Permin A, Kapel CM.** Zoonotic risk of *Toxocara canis* infection through consumption of pig or poultry viscera. *Vet Parasitol.* 2004;121:115-24. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.01.018>
4. **Macpherson CN.** The epidemiology and public health importance of toxocariasis: A zoonosis of global importance. *Int J Parasitol.* 2013;43:999-1008. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.004>

5. **Fan CK, Liao CW, Cheng YC.** Factors affecting disease manifestation of toxocarosis in humans: Genetics and environment. *Vet Parasitol.* 2013;193:342-52. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.030>
6. **Eid MM, El-Kowrany SI, Othman AA, El Gendy DI, Saied EM.** Immunopathological changes in the brain of immunosuppressed mice experimentally infected with *Toxocara canis*. *Korean J Parasitol.* 2015;53:51-8. <https://doi.org/10.3347/kjp.2015.53.1>
7. **Azam D, Ukpai OM, Said A, Abd-Allah GA, Morgan ER.** Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. *Parasitol Res.* 2012;110:649-56. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2536-8>
8. **Zdybel J, Cencek T, Karamon J, Kłapeć T.** Effectiveness of selected stages of wastewater treatment in elimination of eggs of intestinal parasites. *Bull Vet Inst Pulawy* 2015; 59:51-7. <https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0008>
9. **Traversa D, Frangipane di Regalbono A, Di Cesare A, La Torre F, Drake J, Pietrobelli M.** Environmental contamination by canine geohelminths. *Parasit Vectors.* 2014;7: 67. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-67>
10. **Kirchheimer R, Jacobs DE.** *Toxocara* species egg contamination of soil from children's play areas in southern England. *Vet Rec.* 2008;163:394-5. <https://doi.org/10.1136/vr.163.13.394>
11. **Fitzgerald R, Ashley RF.** Differential survival of *Ascaris* ova in wastewater sludge. *J Water Pollut Control Fed.* 1977;49:1722-4.
12. **Morrondo P, Díez-Morrondo C, Pedreira J, Díez-Bañós N, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A, et al.** *Toxocara canis* larvae viability after disinfectant-exposition. *Parasitol Res.* 2006;99:558-61. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0200-5>
13. **Dąbrowska J, Zdybel J, Karamon J, Kochanowski M, Stojęcki K, Cencek T, et al.** Assessment of viability of the nematode eggs (*Ascaris*, *Toxocara*, *Trichuris*) in sewage sludge with the use of LIVE/DEAD Bacterial Viability Kit. *Ann Agric Environ Med.* 2014;21:35-41.
14. **Ayres RM, Mara DD.** Analysis of wastewater for use in agriculture: A laboratory manual of parasitological and bacteriological techniques. Geneva: WHO; 1996. p. 1-35.
15. **United States Environmental Protection Agency (USEPA).** Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. Accessed: July 1<sup>st</sup>, 2003. Available from: [https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-04/documents/control\\_of\\_pathogens\\_and\\_vector\\_attraction\\_in\\_sewage\\_sludge\\_july\\_2003.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-04/documents/control_of_pathogens_and_vector_attraction_in_sewage_sludge_july_2003.pdf)
16. **Cruz LM, Allanson M, Kwa B, Azizan A, Izurieta R.** Morphological changes of *Ascaris* spp. eggs during their development outside the host. *J Parasitol.* 2012;98:63-8. <https://doi.org/10.1645/GE-2821.1>
17. **Onorato AR.** The effects of temperature and humidity on the ova of *Toxocara canis* and *Trichuris vulpis*. *Am J Hyg.* 1932;16:266-87.
18. **Brunaská M, Dubinský P, Reiterová K.** *Toxocara canis*: Ultrastructural aspects of larval moulting in the maturing eggs. *Int J Parasitol.* 1995;25:683-90. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(94\)00183-0](https://doi.org/10.1016/0020-7519(94)00183-0)
19. **Gamboa MI.** Effects of temperature and humidity on the development of eggs of *Toxocara canis* under laboratory conditions. *J Helminthol.* 2005;79:327-31. <https://doi.org/10.1079/JOH2005287>
20. **Nichols RL.** The etiology of visceral larva migrans. I. Diagnostic morphology of infective second-stage *Toxocara* larvae. *J Parasitol.* 1956;42:349-62.
21. **De Savigny DH.** *In vitro* maintenance of *Toxocara canis* larvae and a simple method for the production of *Toxocara* ES antigen for use in serodiagnostic tests for visceral larva migrans. *J Parasitol.* 1975;61:781-2.
22. **El Naga IF.** *Toxocara canis*: Determination of the origin of antigenic materials released from infective larvae. *J Egypt Soc Parasitol.* 2000;30:669-78.
23. **Black MI, Scarpino PV, O'Donnell CJ, Meyer KB, Jones JV, Kaneshiro ES.** Survival rates of parasite eggs in sludge during aerobic and anaerobic digestion. *Appl Environ Microbiol.* 1982;44:1138-43.
24. **Johnson PW, Dixon R, Ross AD.** An in-vitro test for assessing the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes. *Int J Parasitol.* 1998; 28:627-33. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(97\)00210-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(97)00210-5)
25. **O'Lorcain P.** The effects of freezing on the viability of *Toxocara canis* and *T. cati* embryonated eggs. *J Helminthol.* 1995;69:169-71.
26. **Camparoto ML, Fulan B, Colli CM, Paludo ML, Falavigna-Guilherme AL, Fernandez MA.** Initial stage of development and migratory behavior of *Toxocara canis* larvae in BALB/c mouse experimental model. *Genet Mol Res.* 2008;7:444-50.
27. **Procriv P.** Intraovular development and moulting of *Toxocara pteropodis*. *Int J Parasitol.* 1989;19:749-55. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(89\)90062-3](https://doi.org/10.1016/0020-7519(89)90062-3)
28. **Foor WE.** Ultrastructural aspects of oocyte development and shell formation in *Ascaris lumbricoides*. *J Parasitol.* 1967;53:1245-61.
29. **Uhlíkova M, Hubner J.** A study on the morphology of early larval stages of *Toxocara cati* (Schrank, 1788). *Folia Parasitol (Praha).* 1982;29:165-6.
30. **Procriv P.** Observations on the morphology of *Toxocara pteropodis* eggs. *J Helminthol.* 1990;164:271-7.
31. **Dziekońska-Rynko J, Rokicki J.** Life cycle of the nematode *Contraecaecum rudolphii* Hartwig, 1964 (sensu lato) from northern Poland under laboratory conditions. *Helminthologia.* 2007;44:95-102. <https://doi.org/10.2478/s11687-007-0013-9>
32. **Geenen PL, Bresciani J, Boes J, Pedersen A, Eriksen L, Fagerholm HP, et al.** The morphogenesis of *Ascaris suum* to the infective third-stage larvae within the egg. *J Parasitol.* 1999;85:616-22.
33. **Overgaauw PA.** Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats. *Crit Rev Microbiol.* 1997;23:233-51. <http://dx.doi.org/10.3109/10408419709115138>
34. **Kirchgässner M, Schmahl G, Al-Quraishy S, Ghaffar FA, Mehlhorn H.** What are the infectious larvae in *Ascaris suum* and *Trichuris muris*? *Parasitol Res.* 2008;103:603-7. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-1018-0>

35. **Ooi HK, Lin CL, Wang JS.** Effect of ozone treatment on *Toxocara canis* eggs. J. Vet Med Sci. 1998;60:169-73. <https://doi.org/10.1292/jvms.60.169>
36. **Wharton D.** Nematode egg-shells. Parasitology. 1980;81:447-63.
37. **Mazurkiewicz-Zapałowicz K, Jaborowska-Jarmoluk M, Kołodziejczyk L, Kuźna-Grygiel W.** Comparison of the effect of the chosen species of saprotrophic fungi on the development of *Toxocara canis* and *Ascaris suum* eggs. Ann Parasitol. 2014;60:215-20.
38. **Oksanen A, Eriksen L, Roepstorff A, Ilsøe B, Nansen P, Lind P.** Embryonation and infectivity of *Ascaris suum* eggs: A comparison of eggs collected from worm uteri with eggs isolated from pig faeces. Acta Vet Scand. 1990;31:393-8.
39. **Rahimian S, Gulyb M, Das G.** Embryonation ability of *Ascaridia galli* eggs isolated from worm uteri or host faeces. Vet Parasitol. 2016;215:29-34. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.10.026>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Mortalidad por enfermedades huérfanas en Colombia, 2008-2013

Julio César Martínez<sup>1</sup>, Sandra Patricia Misnaza<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación y Atención en Salud del Magdalena Medio, CISMAG, Barrancabermeja, Colombia

<sup>2</sup> FETP Colombia-Grupo de Epidemiología Aplicada, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Las enfermedades huérfanas caracterizadas por su baja prevalencia, comúnmente son de origen genético y degenerativo, y amenazan la vida.

**Objetivo.** Describir la mortalidad por enfermedades huérfanas y analizar la tendencia en Colombia entre 2008 y 2013.

**Materiales y métodos.** Se trata de un estudio descriptivo. Se analizó la tendencia de las tasas de mortalidad a partir de los certificados de defunción entre el 2008 y el 2013. Se calcularon las tasas específicas de mortalidad y las ajustadas por edad y sexo.

**Resultados.** Se atribuyeron 7.135 defunciones a enfermedades huérfanas; 51,4 % ocurrieron en hombres de todas las edades. La tasa media de mortalidad fue de 2,53 muertes por 100.000 personas. La tendencia mostró un patrón de ascenso, aunque muy heterogéneo, en el territorio nacional. Las mayores tasas de mortalidad por 100.000 habitantes se registraron en Bogotá (20,0), la región Andina (5,3) y la Caribe (3,7). Las principales causas de muerte en hombres fueron: leucemia linfoblástica aguda, distrofia muscular, displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré y gastrosquisis, y en mujeres, esclerosis múltiple, leucemia linfocítica aguda, gastrosquisis, displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal, síndrome de Guillain-Barré y leucemia mielocítica aguda. La tasa media de mortalidad por leucemia linfoblástica aguda fue de 0,17 por 100.000 hombres menores de 15 años, y la de mortalidad por esclerosis múltiple fue de 0,16 en mujeres mayores de 40 años.

**Conclusiones.** Las causas de muerte mostraron un comportamiento similar en ambos sexos; sin embargo, la mayor carga de mortalidad se registró en la población masculina de todas edades en Bogotá.

**Palabras clave:** registros de mortalidad, enfermedades raras, leucemia linfocítica, esclerosis múltiple, salud pública, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3876>

### Rare diseases mortality in Colombia, 2008-2013

**Introduction:** Rare diseases are characterized by their low prevalence, often of genetic origin, degenerative and life threatening.

**Objective:** To describe mortality by orphan diseases and to analyze its trends in Colombia from 2008 to 2013.

**Materials and methods:** We conducted a descriptive study to analyze mortality rate trends from the death certificates between 2008 and 2013. We calculated specific mortality rates and adjusted by age and sex.

**Results:** Seven thousand one hundred and thirty five deaths were attributed to orphan diseases, and 51.4 % of them occurred among men of all ages. The mean mortality rate during the study period was 2.53 deaths per 100,000 people. Overall, the trend showed an increasing pattern of mortality although very heterogeneous across the country. Mortality rates were higher in Bogotá (20), and the Andes and the Caribbean regions (5.3 and 3.7 deaths per 100,000 population). The five most important causes of mortality among men were: Acute lymphoblastic leukemia, muscular dystrophy, bronchopulmonary dysplasia originating in the perinatal period, multiple sclerosis, Guillain-Barré syndrome and gastroschisis, and among women: Multiple sclerosis, acute lymphoblastic leukemia, gastroschisis, bronchopulmonary dysplasia originating in the perinatal period, Guillain-Barré syndrome and acute myeloid leukemia. The mean mortality rate by acute lymphoblastic leukemia was 0.17 deaths per 100,000 men younger than 15 years and that of multiple sclerosis was 0.16 in women over 40 years of age.

#### Contribución de los autores:

Julio Cesar Martínez: solicitud de la información ante la entidad correspondiente

Ambos autores participaron en la consolidación y el análisis de la información, y en la escritura del artículo.

**Conclusion:** The causes of death showed a similar pattern in both sexes. However, the burden of mortality was higher among men of all ages in Bogota.

**Key words:** Mortality registries; rare diseases; leukemia, lymphoid; multiple sclerosis; public health; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3876>

Las enfermedades huérfanas constituyen un grupo amplio y variado de trastornos que afectan a un reducido número de personas o a una proporción baja de la población general. Según el Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, en el mundo se han identificado entre 6.000 y 7.000 enfermedades huérfanas (1).

Los países de la Unión Europea consideran como enfermedades huérfanas a aquellas que afectan a 1 de cada 2.000 personas; Estados Unidos, como las que afectan a menos de 200.000 personas; Japón, como las que afectan a un número inferior a 50.000 personas; Taiwán establece su prevalencia como inferior a 1 por cada 10.000 personas y, Colombia, en 1 por cada 5.000 (2,3).

Este grupo de enfermedades difiere ampliamente en términos de gravedad, aunque, en promedio, la esperanza de vida de los pacientes se reduce significativamente, aunque el impacto y la expectativa de vida varían mucho de una enfermedad a otra. Algunos pacientes mueren al nacer, otros sufren enfermedades degenerativas que amenazan la vida, y otros padecen enfermedades que son compatibles con la vida si se diagnostican y manejan a tiempo y adecuadamente (4).

Las enfermedades huérfanas y raras son de baja prevalencia pero con una alta tasa de mortalidad. Por lo general, tienen una evolución crónica muy grave, con múltiples deficiencias motoras, sensoriales y cognitivas. Por lo tanto, suelen presentar gran complejidad clínica, lo que dificulta su reconocimiento y diagnóstico. Entre el 75 y el 80 % de estas dolencias infrecuentes se deben a una alteración en los genes, y el 20 al 25 % restante son enfermedades autoinmunitarias (5).

Entre los antecedentes normativos de Colombia, encontramos que en el año 2010 se expidió la Ley 1392, por medio de la cual se reconoce a las enfermedades huérfanas como de especial interés y se adoptan las normas tendientes a garantizar la

protección social por parte del Estado colombiano a la población que las padece y a sus cuidadores (6). En el año 2013, mediante la Resolución 430, se estableció un listado integrado por 1.920 enfermedades, producto de la revisión bibliográfica sistemática de literatura y el análisis de la información disponible sobre las enfermedades huérfanas listadas en Orphanet (7), y en el 2015 se actualizó dicho listado, definiendo para Colombia 2.149 enfermedades huérfanas (8). En el 2017, el Instituto Nacional de Salud publicó en el protocolo de vigilancia en salud pública (2), los códigos de la Clasificación Internacional de Enfermedades en su décima versión (CIE-10) correspondientes a enfermedades huérfanas o raras, de acuerdo con la revisión de la codificación realizada por el Ministerio de Salud y Protección Social.

Se desconoce el impacto, la carga de morbilidad y mortalidad, los medios diagnósticos, los tratamientos y las repercusiones en cuanto a discapacidad, de muchas de las enfermedades huérfanas. Esto puede deberse a que, por su baja prevalencia, aún son nuevas para la comunidad científica. También, la dificultad para su análisis tiene que ver con que no todas las enfermedades huérfanas cuentan con un código CIE-10.

Debido a que este grupo de enfermedades suele presentar una alta tasa de mortalidad y al desconocimiento de las mismas en nuestro medio, el objetivo de este estudio fue describir el comportamiento de la mortalidad y analizar la tendencia en Colombia, durante el periodo comprendido entre el 2008 y el 2013, en consonancia con la Ley 1392 de 2010.

### Materiales y métodos

Se hizo un estudio descriptivo para caracterizar la mortalidad por las enfermedades huérfanas en Colombia entre 2008 y 2013, a partir de los certificados individuales de defunción registrados en la base oficial de datos del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), como única fuente secundaria de información.

Se revisó la Resolución 2048 de 2015, que listó y priorizó dichas enfermedades en Colombia. El listado inicial incluía 2.149 enfermedades huérfanas,

#### Correspondencia:

Julio César Martínez, Carrera 24S N° 43-60, Barrancabermeja, Colombia

Teléfono: (577) 612 4956

[jucer1023@hotmail.com](mailto:jucer1023@hotmail.com)

Recibido: 25/04/17; aceptado: 07/09/17

las cuales no contaban con codificación CIE-10, por lo cual se revisó el anexo 1 del protocolo de vigilancia en salud pública del Instituto Nacional de Salud. En dicho anexo, se encontró que 897 enfermedades contaban con CIE-10; sin embargo, la gran mayoría eran códigos inespecíficos, por lo cual se hizo una nueva revisión código a código, estableciendo que 147 tenían códigos específicos o compatibles en el CIE-10, constituyéndose estos en los códigos por depurar en las bases de defunciones no fatales de las estadísticas vitales del DANE (anexo 1).

Se revisaron todas las causas de muerte del certificado de defunción (causa directa, causas antecedentes 1, 2 y 3, causas patológicas 1 y 2 y causa básica).

El universo incluyó 1'193.048 muertes registradas por todas las causas en las defunciones no fatales de 2008 a 2013. Tras la depuración de la base de datos, se analizaron 7.135 registros de defunción cuyas causas de muerte eran las enfermedades huérfanas, de los cuales se excluyeron aquellos en los que no se determinaba la edad y los de personas que residían en el extranjero.

Se evaluó la calidad de los datos con respecto a la integridad de las variables (completitud de los datos en los campos del certificado de defunción), evaluando la proporción de datos recopilados frente a aquellos sin información o sin diligenciar. Se incluyeron todas las defunciones cuyas variables de estudio cumplieran con una integridad de información superior al 85 %. La integridad promedio de celdas vacías superó el 99,9 % en todas las variables analizadas; en cuanto a casillas sin información, la integridad superó el 99,7 % en la mayoría de las variables, excepto en el nivel educativo, cuyo resultado fue de 87 %.

Mediante un análisis univariado, se caracterizó el comportamiento de las defunciones registradas según las variables sociodemográficas: año de defunción, sexo, edad, departamento de residencia habitual, nivel educativo, tipo de afiliación al sistema general de seguridad social en salud, pertenencia étnica y códigos de causas de defunción.

Las muertes debidas a enfermedades huérfanas se analizaron en términos de frecuencias absolutas y relativas. Se estimaron las tasas de mortalidad específica por sexo y grupos de edad, y se expresaron por 100.000 personas al año. Como denominador, se empleó la población a mitad de periodo de los respectivos grupos de edad

reportada por el DANE durante los años de estudio. Para comparar la evolución de la mortalidad en el tiempo, se calcularon las tasas anuales ajustadas por edad, utilizando el método directo (9) y tomando como población de referencia la población de Colombia por grupos de edad y por quinquenios según el censo de 2005. Las tasas de mortalidad se analizaron por tipo de enfermedad huérfana para los diez diagnósticos más frecuentes, por años de estudio y por sexo, y los diagnósticos restantes se agruparon en "otras enfermedades huérfanas".

El procesamiento de los datos y el análisis de la información se hicieron mediante el empleo de hojas de cálculo Microsoft Excel™ de 2013 y el paquete estadístico R Studio, versión 0.99.878.

### Consideraciones éticas

En el diseño de este estudio, se contemplaron los principios metodológicos para salvaguardar el interés de la ciencia y el respeto a los derechos de las personas. Las bases de defunciones no contenían información sobre la identidad de los individuos; en los procedimientos realizados no se intervino ninguna persona, no se violó el derecho a la privacidad y los resultados se presentaron de manera agrupada.

### Resultados

Entre el 2008 y el 2013, en Colombia se registraron 1'193.048 defunciones por todas las causas, de las cuales 7.135 presentaron, al menos, un diagnóstico de enfermedad huérfana como causa de muerte, en residentes de alguno de los 32 departamentos y 5 distritos de Colombia (cuadro 1).

Las defunciones por este grupo de enfermedades se presentaron con mayor frecuencia en los hombres, una proporción importante de las personas fallecidas no contaba con ningún grado de escolaridad y una alta proporción residía en

**Cuadro 1.** Distribución de muertes por enfermedades huérfanas, Colombia, 2008-2013

Año	Defunciones*	Enfermedades huérfanas	%
2008	196.943	1.058	0,54
2009	196.931	831	0,42
2010	200.524	1.353	0,67
2011	195.823	1.282	0,65
2012	199.756	1.250	0,63
2013	203.071	1.361	0,67
Total	1.193.048	7.135	0,60

\*\* Defunciones por todas las causas  
Fuente: DANE. Estadísticas vitales, Colombia

la cabecera municipal. En relación con el tipo de afiliación al Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS), el 45,5 % pertenecía al régimen contributivo. De las defunciones registradas, el 6,5 % de la población se reconocía como afrocolombiana, afrodescendiente o mulata. En cuanto a los grupos de edad más afectados, se encontró una mayor proporción de fallecimientos en los extremos de la vida (cuadro 2).

La tasa media de mortalidad cruda para el periodo, fue de 2,53 por 100.000 personas; la tasa más alta se observó en el 2010 y se presentó una leve reducción a lo largo de los dos años siguientes, para volver a aumentar en el 2013 (figura 1).

La tasa media de mortalidad debida a enfermedades huérfanas según grupos de edad, mostró un comportamiento similar en ambos sexos, pero las tasas fueron mayores en la población masculina y en los extremos de la vida. Las tasas más altas se alcanzaron a partir de los 75 años (figura 2).

Según el tipo de enfermedades huérfanas, en general, en los hombres de todos los grupos de edad se registraron las mayores tasas de mortalidad. Sin embargo, se encontró que la leucemia linfoblástica aguda aportó la mayor en menores de 15 años, seguida por la distrofia muscular en el grupo de 15 a 19 años, la gastrosquisis, la displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal y, en adultos mayores de 45 años, la esclerosis múltiple y el síndrome de Guillain-Barré (cuadro 3).

En cuanto a las mujeres, las mayores tasas de esclerosis múltiple se registraron en mayores de 40 años y, las de leucemia linfoblástica aguda, en menores de 15 años, seguidas por las de la gastrosquisis y la displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal, las cuales presentaron un comportamiento similar en los hombres, aunque en términos generales fueron más bajas (cuadro 4).

Durante la primera infancia (menores de cinco años), las principales causas de muerte por enfermedades huérfanas fueron: displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal, gastrosquisis, holoprosencefalia, atresia de los conductos biliares, onfalocelo (exónfalos), enfermedad de Hirschsprung, síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido, malformaciones congénitas múltiples no clasificadas en otra parte, anomalía de Ebstein y estenosis congénita de la válvula tricúspide, las cuales correspondieron al 56,3 % de las muertes en menores de cinco años y al 16,4 % de todas las muertes por estas enfermedades.

**Cuadro 2.** Comportamiento de las características sociales y demográficas de las defunciones por enfermedades huérfanas, Colombia, 2008-2013

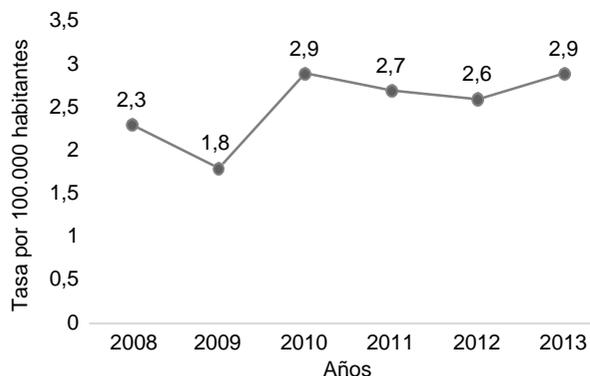
Variable/Categoría	Casos	%
<b>Sexo</b>		
Masculino	3.667	51,4
Femenino	3.468	48,6
Total	7.135	100
<b>Nivel educativo</b>		
Sin escolaridad	2.445	34,3
Básica primaria	1.894	26,5
Básica secundaria	840	11,8
Educación media	512	7,2
Educación superior	511	7,2
Sin información	933	13,1
Total	7.135	100
<b>Régimen de afiliación al SGSSS</b>		
Contributivo	3.246	45,5
Subsidiado	3.060	42,9
Excepción	226	3,2
Especial	26	0,4
No afiliado	508	7,1
Sin información	69	1,0
Total	7.135	100
<b>Pertenencia étnica</b>		
Indígena	107	1,5
Rom, gitano	18	0,3
Raizal	5	0,1
Palenquero	5	0,1
Afrocolombiano, afrodescendiente, mulato	465	6,5
Otros	5.904	82,7
Sin información	631	8,8
Total	7.135	100
<b>Grupos de edad (años)</b>		
0-4	2.082	29,2
5-9	201	2,8
10-14	245	3,4
15-19	389	5,5
20-24	283	4,0
25-29	256	3,6
30-34	248	3,5
35-39	231	3,2
40-44	268	3,8
45-49	348	4,9
50-54	388	5,4
55-59	419	5,9
60-64	399	5,6
65 y más	1.378	19,3
Total	7.135	100
<b>Área de residencia</b>		
Cabecera municipal	5.962	83,6
Centro poblado	295	4,1
Rural disperso	808	11,3
Sin información	70	1,0
Total	7.135	100

Fuente: DANE, Estadísticas vitales. Colombia

\* Educación media: incluye media académica, media técnica y normalista  
 \*\* Educación superior: incluye técnica profesional, tecnológica, universitaria y posgrados

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

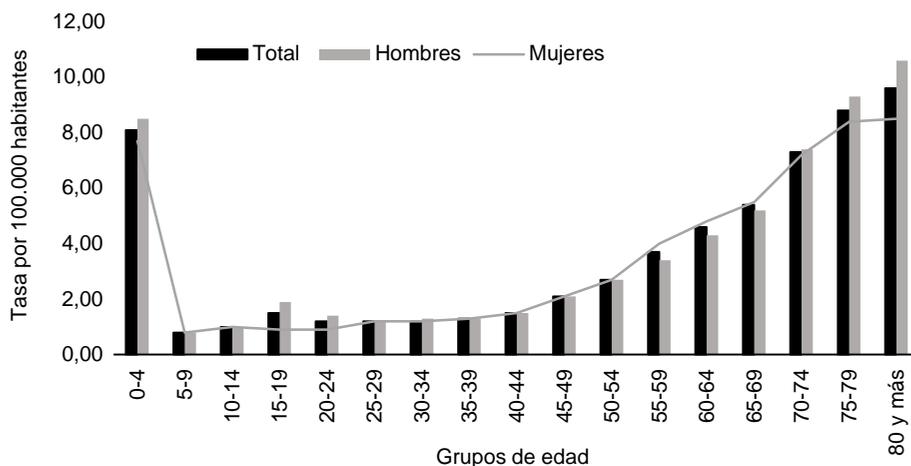
Los resultados del análisis según el ente territorial de residencia, indicaron que Bogotá, Antioquia, Valle del Cauca, Cundinamarca, Santander, Barranquilla,



**Figura 1.** Tendencia de las tasas de mortalidad cruda por enfermedades huérfanas, Colombia, 2008-2013

Fuente: cálculo a partir de Estadísticas vitales, DANE

Cartagena, Tolima, Boyacá y Norte de Santander, presentaron enfermedades huérfanas con mayor frecuencia: en promedio, más de 40 casos en los seis años de estudio. La tasa de mortalidad nacional ajustada por edad durante los seis años de estudio, en promedio, fue de 2,6 por 100.000 personas, y por regiones, Bogotá aportó la tasa más alta (20,0), presentando un aumento sostenido hasta el final del periodo. Las tasas promedio en las regiones de la Amazonia, la Orinoquia y la Pacífica fueron más bajas al compararse con las otras regiones. En el distrito especial de Bogotá, la tasa promedio fue de 20,0 muertes por 100.000, y en los departamentos de Cundinamarca y Sucre, de 21,5 y de 11,3, respectivamente (cuadro 5).



**Figura 2.** Tasas medias anuales específicas de enfermedades huérfanas, según sexo y grupos de edad, Colombia, 2008-2013

Fuente: cálculo a partir de Estadísticas vitales, DANE

**Cuadro 3.** Principales causas de mortalidad por enfermedades huérfanas en hombres, Colombia, 2008-2013

Enfermedad huérfana	Tasa de mortalidad por 100.000 hombres						Tasa media
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	
Leucemia linfoblástica aguda	0,15	0	0,19	0,18	0,20	0,31	0,17
Distrofia muscular	0,12	0,14	0,17	0,18	0,14	0,29	0,17
Displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal	0,10	0,09	0,18	0,13	0,16	0,14	0,13
Esclerosis múltiple	0,11	0,10	0,16	0,09	0,12	0,14	0,12
Síndrome de Guillain-Barre	0,10	0,08	0,11	0,17	0,12	0,12	0,12
Gastrosquisis	0,12	0,08	0,12	0,11	0,12	0,10	0,11
Leucemia mieloide aguda	0	0	0,12	0,09	0,12	0	0,05
Anemia falciforme sin crisis	0,06	0,04	0,06	0	0	0,08	0,04
Linfoma no Hodgkin, no especificado	0	0	0,07	0,07	0,08	0,06	0,04
Deficiencia hereditaria del factor VIII	0,05	0,04	0	0,06	0	0	0,03
Enfermedad de Hirschsprung	0,04	0,04	0,07	0	0,06	0	0,03
Malformaciones congénitas múltiples, no clasificadas en otra parte	0	0	0	0	0,05	0,06	0,02
Estenosis congénita de la válvula tricúspide	0,05	0	0	0	0	0	0,01
Onfalocele	0	0,04	0	0,06	0	0	0,01
Agranulocitosis	0	0	0	0	0	0,05	0,00
Otras enfermedades huérfanas	1,57	1,20	1,97	1,72	1,60	1,65	1,61

Fuente: DANE. Estadísticas vitales, Colombia

**Cuadro 4.** Principales causas de mortalidad por enfermedades huérfanas en mujeres, Colombia, 2008-2013

Enfermedad huérfana	Tasa de mortalidad por 100.000 mujeres						
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Tasa media
Esclerosis múltiple	0,17	0,15	0,15	0,18	0,17	0,15	0,16
Leucemia linfoblástica aguda	0,16	0,00	0,15	0,18	0,17	0,17	0,14
Gastrosquisis	0,09	0,07	0,10	0,09	0,09	0,10	0,09
Displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal	0,00	0,08	0,11	0,11	0,14	0,10	0,09
Síndrome de Guillain-Barré	0,05	0,07	0,09	0,09	0,11	0,10	0,08
Leucemia mieloide aguda	0,05	0	0,10	0,14	0,10	0,05	0,07
Anemia falciforme sin crisis	0,06	0	0,07	0,06	0,07	0,06	0,05
Enfermedad de Alzheimer de comienzo temprano	0	0	0	0,05	0	0	0,05
Miastenia gravis	0,05	0,05	0,00	0	0,08	0	0,03
Linfoma no Hodgkin, no especificado	0	0	0,06	0,05	0,07	0	0,03
Anomalia de Ebstein	0,05	0	0,05	0	0	0	0,02
Atresia de los conductos biliares	0,05	0,05	0	0	0	0	0,02
Hepatitis autoinmunitaria	0	0	0,06	0	0,07	0	0,02
Poliomiositis	0,05	0	0	0	0	0	0,01
Holoprosencefalia	0	0,07	0	0	0	0	0,01
Distrofia muscular	0	0,04	0	0	0	0,06	0,01
Malformaciones congénitas múltiples, no clasificadas en otra parte	0	0	0	0,00	0	0,08	0,01
Síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido	0	0,04	0	0	0	0	0,00
Agranulocitosis	0	0,04	0	0	0	0	0,00
Lupus eritematoso con compromiso de órganos o sistemas	0	0	0	0,05	0	0	0,00
Enfermedad de Huntington	0	0	0	0,00	0	0,06	0,00
Otras enfermedades huérfanas	1,49	1,15	1,81	1,72	1,55	1,84	1,59

Fuente: DANE. Estadísticas vitales, Colombia

## Discusión

Entre el 2008 y el 2013, se presentaron 7.135 defunciones en Colombia, en las cuales alguna causa consignada de defunción fue por enfermedades huérfanas. No obstante, esta cifra podría ser mayor de lo que permiten ver los hallazgos presentados en este trabajo, en primer lugar, debido a la dificultad para el diagnóstico dada la rareza de muchas de estas enfermedades y, por otro lado, al desconocimiento del subregistro real pues un número importante de personas que las padecen mueren por complicaciones relacionadas y dichos fallecimientos comúnmente se clasifican de manera inadecuada en el certificado de defunción. Sin embargo, procurando limitar este inconveniente, la depuración de las bases de datos incluyó el diagnóstico de enfermedades huérfanas en cualquiera de las causas de defunción y no solo en las causas básicas.

En el análisis de las características sociales y demográficas de los fallecimientos, se observó un comportamiento similar en ambos sexos. En general, la mayor proporción de muertes, en su mayoría de origen genético, se registró en la población masculina de todos los grupos de edad, sobre todo en los menores de cinco años y en adultos mayores de 65 años. Esta tendencia concuerda con

los datos oficiales sobre la morbilidad en Colombia por enfermedades huérfanas o raras, notificados al Sistema Vigilancia en Salud Pública en el 2016, los cuales documentan un comportamiento similar que ha venido aumentando de forma rápida y más acentuada en los hombres (10). En este contexto, dichas enfermedades adquieren una gran importancia para la salud pública, ya que estas cifras reflejan la gran carga de morbilidad y mortalidad prematura o, incluso, antes de cumplir la esperanza de vida promedio (70 años), lo cual produce, además de un alto grado de discapacidad y dependencia, un deterioro significativo de la calidad de vida de los afectados (4,11).

En cuanto a nivel educativo, se observó una mayor proporción de personas fallecidas sin escolaridad y con básica primaria, lo cual podría deberse, entre otras causas, al carácter crónico y debilitante de las enfermedades, el compromiso de las habilidades físicas y mentales (12), las implicaciones o consecuencias sociales que pueden conducir al estigma, el aislamiento y la exclusión social (4), y a discapacidades coexistentes que acarrearán múltiples consecuencias funcionales (la denominada multidiscapacidad o pluridiscapacidad); estas discapacidades refuerzan la sensación de aislamiento, pueden ser una fuente de discriminación y reducir o destruir oportunidades educativas (5).

**Cuadro 5.** Tasas de mortalidad por enfermedades huérfanas, ajustadas por edad, según regiones y departamentos de residencia habitual, Colombia, 2008-2013

Regiones	Ente territorial	Tasa ajustada de mortalidad por 100.000 habitantes/año						Promedio nacional y regional
		2008	2009	2010	2011	2102	2013	
Colombia		2,4	1,9	2,9	2,7	2,6	2,8	2,6
	Bogotá, D.C	15,0	13,3	24,3	22,4	22,2	23,0	20
	Amazonas	1,1	0,0	3,1	0,0	7,9	2,0	2,3
	Caquetá	1,7	1,1	2,7	2,7	2,7	3,3	2,4
Amazonia	Guainía	4,1	0,0	0,0	0,0	0,0	2,0	1,0
	Guaviare	1,5	2,3	0,8	1,2	2,8	0,0	1,4
	Putumayo	0,8	0,0	1,2	1,0	0,6	1,6	0,9
	Vaupés	0,0	1,7	2,0	0,0	0,0	0,0	0,6
	<b>Total</b>	1,5	0,8	1,6	0,8	2,3	1,5	1,4
Orinoquia	Arauca	0,5	0,2	0,2	0,1	0,5	0,4	0,3
	Casanare	0,7	0,6	0,7	1,5	0,6	1,0	0,9
	Meta	1,2	2,3	2,6	3,3	3,2	2,7	2,5
	Vichada	0,0	0,0	5,4	0,0	1,1	1,2	1,3
	<b>Total</b>	0,6	0,8	2,2	1,2	1,3	1,3	1,2
	Atlántico	8,9	7,5	10,0	7,1	7,6	11,6	8,8
	Barranquilla	0,76	0,78	0,58	0,60	0,61	0,64	0,6
	Bolívar	2,3	0,9	1,9	0,9	1,6	1,8	1,6
	Cartagena	3,2	1,8	2,5	3,4	3,0	2,9	2,8
	Cesar	2,4	2,3	3,2	2,5	2,6	3,1	2,7
Caribe	Córdoba	6,1	4,6	6,6	6,1	5,9	5,8	5,9
	La Guajira	2,5	1,1	2,1	2,9	0,9	2,3	2,0
	Magdalena	1,2	1,1	1,8	15,3	0,7	2,0	3,7
	Santa Marta	1,8	1,5	0,6	2,2	1,5	2,6	1,7
	Sucre	10,2	10,8	13,2	10,2	13,2	10,2	11,3
	San Andrés y Providencia	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,1
	<b>Total</b>	3,6	3,0	3,9	4,6	3,4	3,9	3,7
	Buenaventura	2,3	1,4	2,5	0,8	2,2	1,0	1,7
	Cauca	1,1	1,1	2,3	1,9	1,5	1,7	1,6
Pacífica	Chocó	0,3	0,3	0,3	0,4	0,5	0,5	0,4
	Nariño	1,2	1,5	1,6	1,8	1,9	2,2	1,7
	Valle del Cauca	2,9	2,3	3,8	3,1	2,7	3,0	3
	<b>Total</b>	1,6	1,3	2,1	1,6	1,8	1,7	1,7
	Antioquia	2,4	1,7	2,6	2,5	2,4	2,9	2,5
	Boyacá	1,8	0,9	3,2	2,7	3,0	1,9	2,2
	Caldas	3,4	2,1	2,3	2,9	3,3	2,9	2,8
	Cundinamarca	17,0	12,5	30,4	28,1	20,6	20,5	21,5
	Huila	2,5	1,7	3,0	3,6	1,9	2,4	2,5
Andina	Norte de Santander	2,5	1,0	2,4	1,9	2,3	3,2	2,2
	Quindío	4,1	2,1	4,2	3,2	2,6	2,2	3,1
	Risaralda	2,5	2,3	1,9	2,4	2,8	2,6	2,4
	Santander	10,2	10,8	13,2	10,2	13,2	10,2	11,3
	Tolima	2,1	1,3	3,2	2,9	3,3	2,6	2,6
	<b>Total</b>	4,9	3,7	6,7	6,0	5,5	5,1	5,3

Fuente: DANE. Estadísticas vitales, Colombia

La mayoría de los fallecidos estaban afiliados al régimen contributivo del SGSSS y, habitualmente, residían en las cabeceras municipales, información que concuerda con la reportada en el censo de 2013 (13).

Si bien el 82,7 % de las personas fallecidas se clasificaba en la categoría de “otros grupos étnicos”, en este estudio se encontró que la anemia de células falciformes –o drepanocitosis–

fue la principal causa de muerte de la población que se reconocía como mulata, afrocolombiana o afrodescendiente. Esto coincide con otros estudios sobre esta enfermedad en cinco estados de Brasil (14) y en áreas con población negra en Colombia, en los cuales se determinó una correlación significativa entre la frecuencia de este tipo de hemoglobinopatías y la frecuencia de autorreconocimiento como afrocolombiano (15).

Al analizar la mortalidad global por las enfermedades huérfanas priorizadas, las tasas crudas presentaron una tendencia al aumento en los seis años de estudio, lo cual podría deberse al fortalecimiento del sistema de información de las estadísticas vitales por la promulgación de la Ley 1392 de 2010, cuyo objeto reconoce que las enfermedades huérfanas representan un problema de especial interés en salud pública; además, en el artículo 14 especifica que, para cumplir con las funciones de inspección, vigilancia y control, la Superintendencia Nacional de Salud ejercerá sus funciones teniendo como base diferentes estándares, entre los cuales está vigilar que los actores del sistema garanticen la producción de los datos con calidad, cobertura, pertinencia, oportunidad y transparencia (6).

El análisis de las tasas de mortalidad por las enfermedades huérfanas en grupos, se convierte en una limitación, ya que el impacto sobre la esperanza de vida varía mucho de una enfermedad a otra. Algunas causan la muerte al nacer, muchas son degenerativas o amenazan la vida, mientras que otras son compatibles con una vida normal si se diagnostican a tiempo y se tratan adecuadamente (4).

Según el sexo, las tasas de mortalidad presentaron un comportamiento similar, pero fueron mayores en las edades extremas de la vida. La alta mortalidad en menores de cinco años podría explicarse porque muchas de estas enfermedades son de origen genético (4,12) y el 50 % de ellas se inician en la infancia (4).

La tendencia al aumento en la mortalidad a partir de los 65 años en ambos sexos, indica que muchas de las personas diagnosticadas con una de estas enfermedades no fallecen en edades tempranas. Sin embargo, no hay información que permita verificar la calidad de vida de aquellas que superaron los 65 años, ya que la mayoría de dichas enfermedades afectan más de un órgano vital, tienen un curso clínico crónico, son progresivamente debilitantes (16) y, a veces, comprometen la autonomía del enfermo (4).

Las causas de defunción no difirieron notoriamente según el sexo; las leucemias continúan siendo la primera causa de muerte en menores de 15 años, con predominio de la variante linfoblástica en la población masculina. Esta tendencia coincide con lo observado en Latinoamérica y con los datos oficiales del Instituto Nacional de Cancerología del 2008, que indican que cerca del 50 % de

las muertes por cáncer pediátrico se deben a leucemias agudas (17-19). Además de ser una enorme carga en términos de costos financieros y sociales, esto es un indicador trazador del acceso y la calidad de la atención médica especializada para garantizar el manejo integral que requiere el niño con cáncer (20).

La mayor tasa de mortalidad debida a displasia broncopulmonar se registró en neonatos y, la debida a gastrosquisis, en hombres. Un estudio realizado en Bogotá indicó que nacer en una institución con baja mortalidad neonatal disminuía el riesgo de muerte (*odds ratio*, OR=0,308; IC<sub>95%</sub> 0,129-0,736), pero incrementaba el de displasia broncopulmonar moderada a grave (21). En cuanto a la gastrosquisis, en un estudio en un hospital de tercer nivel en Cali, se documentó que el 1 % de los mortinatos entre el 2004 y el 2006 habían presentado gastrosquisis (22). Sin embargo, otro estudio en el mismo lugar indicó que este diagnóstico no era el más frecuente entre los nacidos con defectos congénitos en Cali entre 2011 y 2012 (23).

La información de las tasas de mortalidad por tipo de enfermedades huérfanas y sexo, indicó que algunas enfermedades presentaban altas tasas de mortalidad únicamente en hombres, como la deficiencia congénita del factor VIII, la enfermedad de Hirschsprung, la estenosis congénita de la válvula tricúspide y el exónfalos. Se revisó en Orphanet si estas enfermedades solían ser más frecuentes en un sexo específico, sin encontrar información al respecto (24).

La esclerosis múltiple se situó entre las enfermedades huérfanas con mayor tasa de mortalidad en ambos sexos, y fue la mayor en mujeres, lo cual concuerda con lo reportado en Venezuela entre 1988 y 1998 (25), Ecuador (26), España (27) y Colombia (28).

La distrofia muscular fue una de las enfermedades huérfanas con altas tasas de mortalidad, principalmente en hombres. Se ha documentado que, específicamente, la distrofia muscular de Duchenne, afecta principalmente al sexo masculino, con una incidencia de 1 por cada 3.300 nacimientos de varones (24), no obstante, no es posible determinar con esta fuente de información si las distrofias eran de este tipo específico.

El síndrome de Guillain-Barré también presentó una constante en las tasas de mortalidad principales en los seis años de estudio y en ambos sexos; de acuerdo con el informe de la vigilancia en salud

pública de morbilidad por enfermedades huérfanas en Colombia en 2016, esta fue la enfermedad más frecuente (11).

El patrón de las defunciones debidas a este grupo enfermedades presentó diferencias importantes según las regiones. Las tasas ajustadas de mortalidad fueron mayores en Bogotá, en la región Andina y en la región Caribe, lo que puede atribuirse, entre otras razones, a que los pacientes diagnosticados con alguna enfermedad huérfana, y especialmente aquellos afectados por sus complicaciones, requieren cuidados médicos en instituciones muy especializadas y estos centros de atención están ubicados generalmente en las principales ciudades capitales del país y las personas pueden acceder a este tipo servicios por medio del sistema de referencia y contrarreferencia que ofrece el modelo de salud actual (29).

De acuerdo con lo reportado por el Ministerio de Salud y Protección Social en el análisis de situación de salud de 2014, la mortalidad por enfermedades crónicas en el país se concentra principalmente en la región Andina, por lo cual los perfiles de mortalidad regional plantean la necesidad de formular respuestas diferenciadas entre las regiones del país, según la afectación de los factores determinantes de la salud. Las intervenciones deben adaptarse a las condiciones de servicios, a las características de la demanda, y a la capacidad en recursos humanos y tecnológicos en cada territorio (30).

Los departamentos que registraron muertes por enfermedades huérfanas con mayor frecuencia, coinciden parcialmente con lo reportado por el Sistema Integral de Información de la Protección Social (SISPRO) con base en el censo elaborado en el 2013, cuando las mayores frecuencias se presentaron en Bogotá, Antioquia, Valle del Cauca, Santander, Atlántico, Cundinamarca, Bolívar, Risaralda, Caldas y Tolima (13).

Según este mismo informe, Bogotá, Cundinamarca, Sucre, Santander, Atlántico y Córdoba registraron las mayores tasas de mortalidad. Al comparar esta información con las prevalencias de enfermedades huérfanas (morbilidad) reportadas por la Cuenta de Alto Costo en 2013 (13), se observa que en las entidades territoriales como Sucre y Córdoba es mayor el número de personas que mueren por estas causas, lo cual podría deberse a deficiencias en la red de prestación de servicios para el diagnóstico oportuno y el tratamiento continuo de estos

pacientes. Esta información indica la necesidad de estudios enfocados en la calidad de los servicios integrales para este grupo de enfermedades, en especial, en estos departamentos.

Las limitaciones del presente estudio radican principalmente en la fuente de información. En primer lugar, la cobertura de las estadísticas vitales no se ha logrado en todos los municipios de Colombia, dificultad que persiste tanto en el área urbana, por la falta de sistematización, como en la rural de las regiones más apartadas del país; además, no se dispone de otras fuentes de información secundaria y de calidad para comprobar la correspondencia (cruce de bases de datos) y, así, identificar las muertes que no fueron incluidas en la base del DANE. En segundo lugar, están las limitaciones relacionadas con la completitud y la validación de las variables del estudio, así como la mala codificación debido a que se registran eventos derivados de las complicaciones o de las enfermedades que se consideran en el diagnóstico diferencial.

A pesar de dichas limitaciones, el presente estudio es el primero en que se analiza el comportamiento de la mortalidad por las enfermedades huérfanas en su conjunto, priorizadas en el marco de la Resolución 2048 de 2015 del Ministerio de Salud y Protección Social, y puede ser la base para llevar a cabo nuevas investigaciones que permitan explorar diferentes metodologías de análisis, ampliar el conocimiento y priorizar aquellas regiones en donde se deberían evaluar las intervenciones actuales de salud pública, que puedan orientar a desarrollar mejores políticas y planes de prevención, atención y tratamiento que permitan mejorar la calidad de vida de las personas que padecen alguna de estas enfermedades y de sus familias.

Se concluyó que la mortalidad por enfermedades huérfanas priorizadas y analizadas en conjunto, ha mostrado una tendencia general a aumentar en el país. Si bien este comportamiento fue similar en ambos sexos, es importante mencionar que la población masculina de todas las edades registró las mayores tasas de mortalidad, principalmente por leucemia linfoblástica aguda, distrofia muscular, displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal, esclerosis múltiple, síndrome de Guillain-Barré y gastrosquisis. En las mujeres, la esclerosis múltiple fue la primera causa de muerte, seguida de leucemia linfocítica aguda, gastrosquisis, displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal, síndrome de Guillain-Barré y leucemia mieloide aguda.

La distribución geográfica ha sido heterogénea, concentrándose la mayor proporción de las muertes en Bogotá, y las regiones Andina y Caribe. El distrito especial de Bogotá y los departamentos de Cundinamarca, Sucre, Santander, Atlántico, Córdoba, Magdalena, Quindío, Caldas, Tolima, Huila y Antioquia registraron tasas de mortalidad (ajustadas por edad) mayores que la nacional.

### Agradecimientos

Al Observatorio Nacional de Salud del Instituto Nacional de Salud, por facilitar las bases de datos con las cifras oficiales consolidadas a partir de las estadísticas vitales del Departamento Administrativo Nacional de Estadísticas (DANE) para el periodo de 2008 a 2013.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en relación con la preparación y publicación de este trabajo.

### Financiación

No se recibió financiación para la elaboración de este artículo.

### Referencias

- Ministerio de Salud y Protección Social.** Enfermedades huérfanas. Fecha de consulta: 19 de agosto de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/publica/PENT/Paginas/enfermedades-huerfanas.aspx>
- Instituto Nacional de Salud.** Protocolo de vigilancia de enfermedades huérfanas-raras. Fecha de consulta: 9 de febrero de 2017. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20hu%C3%A9rfanas%20y%20raras.pdf>
- Congreso de la República de Colombia.** Ley 1438 de 2011 (19 de enero) por medio del cual se reforma el Sistema General de Seguridad Social en Salud y se dictan otras disposiciones. Diario Oficial No. 47.957, 19 de enero de 2011. Bogotá: Congreso de Colombia; 2011.
- EURORDIS European Organisation for rare diseases.** Rare diseases: Understanding this public health priority. November 2005. Fecha de consulta: 9 de febrero de 2017. Disponible en: [http://www.eurordis.org/IMG/pdf/princeps\\_document-EN.pdf](http://www.eurordis.org/IMG/pdf/princeps_document-EN.pdf)
- Lugones M, Ramírez M.** Enfermedades raras. Rev Cubana Med Gen Integr. 2012;28:340-50.
- Congreso de la República de Colombia.** Ley 1392 de 2010 (2 de julio) "por medio de la cual se reconocen las enfermedades huérfanas-raras como de especial interés y se adoptan normas tendientes a garantizar la protección social por parte del Estado colombiano a la población que padece enfermedades huérfanas-raras y sus cuidadores". Diario Oficial No. 47.758, 8 de julio de 2010. Bogotá: Congreso de Colombia; 2010.
- Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 430 de 2013 "por la cual se define el listado de las enfermedades huérfanas-raras" del 20 de febrero de 2013. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social; 2013.
- Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 2048 de 2015 "por la cual se actualiza el listado de las enfermedades huérfanas y se define el número con el cual se identifica cada una de ellas en el sistema de información de pacientes con enfermedades huérfanas" del 9 de junio de 2015. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social; 2015.
- Organización Panamericana de la Salud.** La estandarización: un método epidemiológico clásico para la comparación de tasas. Bol Epidemiol. 2002;23:1-5. Fecha de consulta: 1° de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsear/fulltext/estandar.pdf>
- Instituto Nacional de Salud.** Informe del evento enfermedades huérfanas-raras, hasta el periodo epidemiológico trece, Colombia, 2016. Fecha de consulta: 6 de abril de 2017. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsear/fulltext/estandar.pdf>
- Avellaneda A, Izquierdo M, Torrent-Farnell J, Ramón JR.** Enfermedades raras: enfermedades crónicas que requieren un nuevo enfoque sociosanitario. An Sist Sanit Navar. 2007;30:177-90.
- Montserrat A, Waligóra J.** The European Union policy in the field of rare diseases. Public Health Genomics. 2013; 16:268-77. <https://doi.org/10.1159/000355930>
- Ministerio de Salud y Protección Social.** Enfermedades huérfanas. Indicadores. Fecha de consulta: 19 de agosto de 2017. Disponible en: <http://www.sispro.gov.co/Pages/EnfermedadesHuerfanas/Indicadores.aspx>
- Oliveira GA, Pinto L, Trovó AB.** Mortality by sickle cell disease in Brazil. Rev Bras Hematol Hemoter. 2017;39:52-6. <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2016.09.008>
- Rosero MJ, Bermúdez AJ.** Análisis de hemoglobinopatías en regiones afrocolombianas usando muestras de sangre seca de cordón umbilical. Acta Med Colomb. 2012;37: 118-24.
- Posada M, Martín-Arribas C, Ramírez A, Villaverde A, Abaitua I.** Enfermedades raras. Concepto, epidemiología y situación actual en España. An Sist Sanit Navar. 2008; 31(Supl.2):9-20.
- Vera AM, Pardo C, Duarte MC, Suárez A.** Análisis de mortalidad por leucemia aguda pediátrica en el Instituto Nacional de Cancerología. Biomédica. 2012;32:355-64. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.691>
- Curado MP, Pontes T, Guerra-Yi ME, Cancela M.** Leukemia mortality trends among children, adolescents, and young adults in Latin America. Rev Panam Salud Pública. 2011;29:96-102. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892011000200004>
- Instituto Nacional de Cancerología E.S.E.** Cáncer en cifras: mortalidad por cáncer según primeras causas y sexo, tasas específicas por grupos de edad, Colombia, 2000-2008. Fecha de consulta: 16 de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.cancer.gov.co/documentos/Mortalidad/Mortalidad%20nacional%20por%20tipo%20de%20cáncer%20y%20grupo%20de%20edad%202000-2008.pdf>

20. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Resolución 2590 de 2012 "por el cual se constituye el Sistema Integrado en Red y el Sistema Nacional de Información para el monitoreo, seguimiento y control de la atención del cáncer en los menores de 18 años, integrando la base de datos para la agilidad de la atención del menor con cáncer, el Registro Nacional de Cáncer Infantil y el número único nacional para los beneficiarios de la Ley 1388 20102 del 31 de agosto de 2012". Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social; 2012.
21. **Ruiz J, Charpak N.** Epidemia de displasia broncopulmonar: incidencia y factores asociados en una cohorte de niños prematuros en Bogotá, Colombia. *Biomédica.* 2014;34:29-39. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1463>
22. **Pachajoa H, Saldarriaga W, Isaza C.** Gastrosquiasis en un hospital de tercer nivel de la ciudad de Cali, Colombia durante el período marzo 2004 a febrero 2006. *Colomb Med.* 2008;39(Supl.2):35-40.
23. **Ramírez J, Pachajoa H, Ariza Y, Isaza C, Saldarriaga W.** Defectos congénitos en un hospital de tercer nivel en Cali, Colombia. *Rev Chil Obstet Ginecol.* 2015;80:442-9.
24. **Orphanet.** Portal de información de enfermedades raras y medicamentos huérfanos. Fecha de consulta: 29 de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease.php?Ing=EN>.
25. **Pérez C, López MH, Ortiz HN, Rodríguez M, Avilán JM.** Tasa de mortalidad de la esclerosis múltiple en Venezuela según edad y género. *Gac Méd Caracas.* 2003;11:227-30.
26. **Abada P, Pérez M, Castro E, Alarcón T, Santibáñez R, Díaz F.** Prevalencia de esclerosis múltiple en Ecuador. *Neurología.* 2010;25:309-13. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2009.12.005>
27. **Bártulos M, Marzo ME, Ruiz E, Bravo Y.** Estudio epidemiológico de la esclerosis múltiple en La Rioja. *Neurología.* 2015;30:552-60. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2014.04.016>
28. **Jiménez C, Zarco L, Castañeda C, Otálora M, Martínez A, Rosselli D.** Estado actual de la esclerosis múltiple en Colombia. *Acta Neurol Colomb.* 2015;31:385-90.
29. **Congreso de la República de Colombia.** Ley 100 de 1993 (23 de diciembre) "por la cual se crea el sistema de seguridad social integral y se dictan otras disposiciones". Diario Oficial No. 41.148 del 23 de diciembre de 1993. Bogotá: Congreso de Colombia; 1993.
30. **Ministerio de Salud y Protección Social.** Política de atención integral en salud. Fecha de consulta: 29 de marzo de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/modelo-pais-2016.pdf>

**Anexo 1.** Homologación de códigos CIE-10 de enfermedades huérfanas

<b>Nombre de la enfermedad huérfana (Resolución 2048 de 2015)</b>	<b>Código CIE 10</b>	<b>Nombre CIE 10</b>
Fiebre botonosa	A771	Fiebre maculosa debido a <i>Rickettsia conorii</i>
Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob	A810	Enfermedad de Creutzfeldt
Amebiasis por amebas salvajes	B601	Acantamebiasis
Anisakiasis	B810	Anisaquiasis
Síndrome de Sézary	C841	Enfermedad de Sézary
Enfermedad de Letterer-Siwe	C960	Enfermedad de Letterer
Síndrome de Plummer-Vinson	D501	Disfagia sideropénica
Betatalasemia	D561	Betatalasemia
Drepanocitosis	D57	Trastornos falciformes
Esferocitosis hereditaria	D580	Esferocitosis hereditaria
Hemoglobinuria paroxística nocturna	D595	Hemoglobinuria paroxística nocturna (marchiafava)
Anemia de Fanconi	D610	Anemia aplásica constitucional
Anemia sideroblástica ligada al cromosoma X	D640	Anemia sideroblástica hereditaria
Déficit congénito del factor VIII	D66	Deficiencia hereditaria del factor VIII
Déficit congénito del factor IX	D67	Deficiencia hereditaria del factor IX
Enfermedad de von Willebrand	D680	Enfermedad de von Willebrand
Déficit congénito del factor XI	D681	Deficiencia hereditaria del factor XI
Déficit congénito de fibrinógeno	D682	Deficiencia hereditaria de otros factores de la coagulación
Enfermedad de von Willebrand, adquirida	D684	Deficiencia adquirida de factores de la coagulación
Púrpura de Henoch-Schönlein	D690	Púrpura alérgica
Neutropenia cíclica	D70	Agranulocitosis
Inmunodeficiencia debida a déficit de CD25	D812	Inmunodeficiencia combinada severa [IDCS] con cifra baja o normal de linfocitos B
Inmunodeficiencia por expresión deficiente del HLA de clase 2	D817	Deficiencia de la clase II del complejo de histocompatibilidad mayor
Síndrome de Wiskott-Aldrich	D820	Síndrome de Wiskott
Síndrome de hiper-IgE autosómico dominante	D824	Síndrome de hiperinmunoglobulina e [IgE]
Inmunodeficiencia común variable	D83	Inmunodeficiencia variable común
Sarcoidosis	D86	Sarcoidosis
Crioglobulinemia mixta	D891	Crioglobulinemia
Acromegalia	E220	Acromegalia y gigantismo hipofisario
Síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética	E222	Síndrome de secreción inapropiada de hormona antidiurética
Síndrome de Cushing	E24	Síndrome de Cushing
Enfermedad de Cushing	E240	Enfermedad de Cushing dependiente de la hipófisis
Síndrome de insensibilidad a los andrógenos	E345	Síndrome de resistencia androgénica
Fenilcetonuria	E700	Fenilcetonuria clásica
Albinismo ocular sordera sensorial tardía	E703	Albinismo
Trastornos del metabolismo de los ácidos grasos	E713	Trastornos del metabolismo de los ácidos grasos
Galactosemia	E742	Trastorno del metabolismo de la galactosa
Lipofuscinosis neuronal ceroides tardía infantil	E754	Lipofuscinosis ceroides neuronal
Síndrome de Hurler	E760	Mucopolisacaridosis tipo I
Mucopolisacaridosis de tipo 2	E761	Mucopolisacaridosis tipo II
Mucopolisacaridosis de tipo 7	E762	Otras mucopolisacaridosis
Mucopolisacaridosis no especificada	E763	Mucopolisacaridosis no especificada
Mucopolisacaridosis de tipo 2	E770	Defectos en la modificación postraslacional de enzimas lisosomales
Síndrome de Lesch-Nyhan	E791	Síndrome de Lesch
Porfiria eritropoyética congénita	E800	Porfiria eritropoyética hereditaria
Síndrome de Crigler-Najjar	E805	Síndrome de Crigler
Fibrosis quística	E84	Fibrosis quística

Polineuropatía amiloide familiar	E851	Amiloidosis heredofamiliar neurop[ática]
Amiloidosis secundaria	E853	Amiloidosis sistémica secundaria
Lipodistrofia familiar parcial asociada con mutaciones en PPAR $\gamma$	E881	Lipodistrofia, no clasificada en otra parte
Lipomatosis encefalocraneocutánea	E882	Lipomatosis, no clasificada en otra parte
Síndrome de Rett	F842	Síndrome de Rett
Enfermedad de Huntington	G10	Enfermedad de Huntington
Ataxia espinocerebelosa de tipo 29	G11	Ataxia hereditaria
Ataxia de Friedreich	G111	Ataxia cerebelosa de iniciación temprana
Paraplejía espástica autosómica dominante de tipo 10	G114	Paraplejía espástica hereditaria
Atrofia muscular espinal proximal	G120	Atrofia muscular espinal infantil, tipo I [Werdnig]
Síndrome neuroléptico maligno	G210	Síndrome neuroléptico maligno
Enfermedad de Alzheimer autosómica dominante de aparición temprana	G300	Enfermedad de Alzheimer de comienzo temprano
Esclerosis múltiple	G35	Esclerosis múltiple
Enfermedad de Devic	G360	Neuromielitis óptica [Devic]
Enfermedad de Refsum	G601	Enfermedad de Refsum
Neuropatía axonal aguda motora y sensitiva	G610	Síndrome de Guillain
Miastenia grave	G700	Miastenia gravis
Síndromes miasténicos congénitos	G702	Miastenia congénita o del desarrollo
Distrofia facioescapulohumeral	G710	Distrofia muscular
Síndrome miasténico de Lambert-Eaton	G731	Síndrome de Eaton
Disautonomía familiar	G901	Disautonomía familiar [síndrome de Riley]
Siringomielia	G950	Siringomielia y siringobulbia
Atrofia óptica	H472	Atrofia óptica
Fiebre reumática	I01	Fiebre reumática con complicación cardíaca
Enfermedad de Rendu-Osler-Weber	I780	Telangiectasia hemorrágica hereditaria
Síndrome de Budd-Chiari	I820	Síndrome de Budd
Hernia diafragmática	K44	Hernia diafragmática
Enfermedad de Crohn	K50	Enfermedades de Crohn [enteritis regional]
Cirrosis biliar primaria	K743	Cirrosis biliar primaria
Hepatitis crónica autoinmunitaria	K754	Hepatitis autoinmune
Enfermedad veno-oclusiva hepática	K765	Enfermedad veno
Pénfigo vulgar	L100	Pénfigo vulgar
Pénfigo foliáceo	L102	Pénfigo foliáceo
Dermatitis pustulosa subcórnea	L131	Dermatitis pustulosa subcorneal
Reumatismo psoriásico	L405	Artropatía psoriásica (m07.0)
Pityriasis rubra pilaris	L440	Pityriasis rubra pilaris
Urticaria solar	L563	Urticaria solar
Hipertrichosis lanuginosa adquirida	L681	Hipertrichosis lanuginosa adquirida
Esclerosis sistémica cutánea limitada	L940	Escleroderma localizado [morfea]
Enfermedad de Still del adulto	M061	Enfermedad de Still de comienzo en el adulto
Artritis juvenil idiopática de inicio sistémico	M082	Artritis juvenil de comienzo generalizado
Periarteritis nodosa	M300	Poliarteritis nudosa
Síndrome de Churg-Strauss	M301	Poliarteritis con compromiso pulmonar [Churg]
Dermatomiositis	M330	Dermatomiositis juvenil
Poliomiositis	M332	Polimiositis
Esclerosis sistémica cutánea difusa	M340	Esclerosis sistémica progresiva
Síndrome CREST	M341	Síndrome CREST
Fascitis eosinofílica	M354	Fascitis difusa (eosinofílica)
Fibrodiasplasia osificante progresiva	M611	Miositis osificante progresiva
Enfermedad de Paget juvenil	M88	Enfermedades de Paget de los huesos [osteítis deformante]
Policondritis atrofante	M941	Policondritis recidivante
Diabetes insípida nefrogénica	N251	Diabetes insípida nefrógena

Enfermedad de Dent	N258	Otros trastornos resultantes de la función tubular renal alterada
Displasia broncopulmonar	P271	Displasia broncopulmonar originada en el periodo perinatal
Síndrome de rubéola congénita	P350	Síndrome de rubéola congénita
Diabetes mellitus neonatal	P702	Diabetes mellitus neonatal
Craneorraquisquisis	Q001	Craneorraquisquisis
Holoprosencefalia	Q042	Holoprosencefalia
Aniridia	Q131	Ausencia del iris
Microtia	Q172	Microtia
Estenosis pulmonar valvular	Q221	Estenosis congénita de la válvula pulmonar
Atresia tricúspide	Q224	Estenosis congénita de la válvula tricúspide
Malformación de Ebstein	Q225	Anomalía de Ebstein
Atresia de coanas	Q300	Atresia de las coanas
Arrinia	Q301	Agenesia o hipoplasia de la nariz
Atresia de intestino delgado	Q41	Ausencia, atresia y estenosis congénita del intestino delgado
Atresia duodenal	Q410	Ausencia, atresia y estenosis congénita del duodeno
Triada de Currarino	Q42	Ausencia, atresia y estenosis congénita del intestino grueso
Enfermedad de Hirschsprung	Q431	Enfermedad de Hirschsprung
Atresia biliar	Q442	Atresia de los conductos biliares
Agenesia renal bilateral	Q601	Agenesia renal, bilateral
Plagiocefalia aislada	Q673	Plagiocefalia
Hemimelia tibial	Q725	Defecto por reducción longitudinal de la tibia
Hemimelia fibular	Q726	Defecto por reducción longitudinal del peroné
Síndrome de Klippel-Feil aislado	Q761	Síndrome de Klippel
Acondrogénesis	Q770	Acondrogénesis
Enanismo tanatofórico	Q771	Enanismo tanatofórico
Acondroplasia	Q774	Acondroplasia
Displasia espondilo-encondral	Q777	Displasia espondiloepifisaria
Osteogénesis imperfecta	Q780	Osteogénesis imperfecta
Encondromatosis	Q784	Encondromatosis
Onfalocele	Q792	Exónfalos
Gastrosquisis	Q793	Gastrosquisis
Síndrome de Ehlers-Danlos de tipo vascular	Q796	Síndrome de Ehlers
Ictiosis ligada al cromosoma X	Q801	Ictiosis ligada al cromosoma x
Ictiosis lamelar	Q802	Ictiosis lamelar
Colestasis linfedema	Q820	Linfedema hereditario
Xeroderma pigmentoso	Q821	Xeroderma pigmentoso
Mastocitosis	Q822	Mastocitosis
Incontinencia pigmenti	Q823	Incontinencia pigmentaria
Esclerosis tuberosa	Q851	Esclerosis tuberosa
Síndrome de Marfan	Q874	Síndrome de Marfan
Trisomía 18	Q910	Trisomía 18, por falta de disyunción meiótica
Trisomía 13	Q914	Trisomía 13, por falta de disyunción meiótica
Duplicación 6p	Q923	Trisomía parcial menor
Cromosoma 1 en anillo	Q932	Cromosoma reemplazado por anillo o dicéntrico
Síndrome de Wolf-Hirschhorn	Q933	Supresión del brazo corto del cromosoma 4
Monosomía 5p	Q934	Supresión del brazo corto del cromosoma 5
Síndrome de Turner	Q96	Síndrome de Turner
Disgenesia gonadal anomalías múltiples	Q991	Hermafrodita verdadero 46,xx

Fuente: Resolución 2048 de 2015. Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud, decima revisión.

ARTÍCULO ORIGINAL

## Evidencia neuroanatómica del transporte del virus de la rabia por la vía propioespinal de la médula espinal de ratones

Gerardo Santamaría<sup>1</sup>, Jeison Monroy-Gómez<sup>1,2</sup>, Orlando Torres-Fernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Morfología Celular, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Ciencias Básicas, Institución Universitaria Escuela Colombiana de Rehabilitación, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Es escasa la información sobre los detalles neuroanatómicos del transporte del virus de la rabia en su ascenso por la médula espinal.

**Objetivos.** Identificar la ruta neuroanatómica de diseminación del virus de la rabia en cada uno de los niveles de la médula espinal de ratón, después de ser inoculado por vía intramuscular.

**Materiales y métodos.** Se inocularon ratones en los músculos isquiotibiales, con virus de la rabia. A partir de las 24 horas después de la inoculación, cada ocho horas se sacrificaron cinco animales por perfusión con paraformaldehído, se les extrajo la médula espinal y se hicieron cortes transversales en los niveles lumbosacro, torácico y cervical. Estos se procesaron mediante inmunohistoquímica para detectar antígenos virales.

**Resultados.** Los primeros antígenos de la rabia se observaron como partículas agregadas, en la médula espinal lumbar, a las 24 horas después de la inoculación, dentro del asta ventral ipsilateral a la extremidad inoculada. A las 32 horas después de la inoculación, se hicieron visibles las primeras motoneuronas inmunorreactivas al virus. A las 40 horas después de la inoculación, se revelaron las primeras neuronas inmunorreactivas en la médula torácica, localizadas en la lámina 8 y, a las 48 horas después de la inoculación en la médula cervical, también en la lámina 8. A las 56 horas después de la inoculación, el virus se había diseminado por toda la médula espinal pero los animales aún no revelaban signos de la enfermedad.

**Conclusión.** En el modelo de ratón aquí utilizado, el virus de la rabia ingresó a la médula espinal por las motoneuronas y, probablemente, utilizó la vía propioespinal descendente para su transporte axonal retrógrado hasta el encéfalo.

**Palabras clave:** virus de la rabia; médula espinal; transporte axonal; inmunohistoquímica; neuronas motoras; ratón.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3711>

### Neuroanatomical evidence of the transport of the rabies virus through the propriospinal tract in the spinal cord of mice

**Introduction:** Information about the neuroanatomical details of the ascendant transport of the rabies virus through the spinal cord is scarce.

**Objective:** To identify the neuroanatomical route of dissemination of the rabies virus at each of the levels of the spinal cord of mice after being inoculated intramuscularly.

**Materials and methods:** Mice were inoculated with the rabies virus in the hamstrings. After 24 hours post-inoculation, every eight hours, five animals were sacrificed by perfusion with paraformaldehyde. Then, the spinal cord was removed, and transverse cuts were made at the lumbosacral, thoracic, and cervical levels. These were processed by immunohistochemistry for the detection of viral antigens.

**Results:** The first antigens of rabies were observed as aggregated particles in the lumbar spinal cord at 24 hours post-inoculation, within the ventral horn in the same side of the inoculated limb. At 32 hours post inoculation the first motoneurons immunoreactive to the virus became visible. At 40 hours post-inoculation the first immunoreactive neurons were revealed in the thoracic level, located on lamina 8 and at 48 hours post-inoculation in the cervical cord, also on lamina 8. At 56 hours post-inoculation the virus had spread throughout the spinal cord, but the animals still did not show signs of the disease.

**Conclusion:** In the mouse model we used, the rabies virus entered the spinal cord through the motoneurons and probably used the descending propriospinal pathway for its retrograde axonal transport to the encephalus.

**Key words:** Rabies virus; spinal cord; axonal transport; immunohistochemistry; motor neurons; mice.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3711>

#### Contribución de los autores:

Gerardo Santamaría y Jeison Monroy-Gómez: desarrollo de los experimentos

Orlando Torres-Fernández: idea y dirección general del trabajo

Todos los autores participaron en la planeación y diseño del trabajo, el análisis de resultados y la escritura del manuscrito.

El virus de la rabia es un agente patógeno neurotrópico, selectivo del sistema nervioso. Se podría ser más específico al afirmar que es un virus 'neuronotrópico', porque infecta a las neuronas y es raro encontrarlo en otro tipo de célula.

Desde la época de Pasteur y durante las primeras décadas del siglo XX, se pensaba que el virus era transportado por los nervios periféricos hasta el sistema nervioso central, aunque algunos investigadores no descartaban la posibilidad de su diseminación por vía sanguínea. Para la década de los años 70, después de varios trabajos experimentales y estudios con técnicas de inmunofluorescencia y microscopía electrónica, hubo consenso en aceptar la vía nerviosa como la ruta exclusiva de diseminación del virus de la rabia, aunque sin conocer los detalles de los mecanismos de transporte (1,2). Casi simultáneamente, se descubrió el transporte axonal retrógrado de proteínas y otras moléculas (3). Con base en estos antecedentes, en 1979 Tsiang llevó a cabo la primera demostración experimental del transporte axonal retrógrado del virus de la rabia (4).

Posteriormente, se comprobó que el virus, inoculado por vía intramuscular o a través de las almohadillas plantares de las extremidades posteriores de ratones, era detectado inicialmente en las neuronas motoras del asta ventral de la médula espinal, antes que en los ganglios espinales (5). La hipótesis del transporte axonal retrógrado del virus de la rabia se afianzó después de realizar experimentos de inoculación estereotáxica del virus en núcleos neuronales específicos del encéfalo de ratas, y su posterior detección con inmunohistoquímica en el sitio de origen de las neuronas aferentes al área de inoculación. Además, se postuló al virus de la rabia como una herramienta útil para el trazado de las vías neuroanatómicas (6).

Actualmente, los investigadores especializados en rabia, con base en las evidencias conocidas, prefieren aceptar la hipótesis del ingreso y la diseminación del virus por la vía motora y mediante el transporte axonal retrógrado (2,7,8). No obstante, algunos autores han reportado vulnerabilidad de las neuronas sensoriales ante la infección y transporte

axonal anterógrado del virus en condiciones *in vitro* (9,10), así como su posible ingreso al sistema nervioso central por la vía sensorial (11,12). Además, existe un virus recombinante de la rabia, obtenido por delección de la proteína G, que puede infectar neuronas sensoriales y ser transportado en dirección anterógrada (13,14).

En el presente estudio, se presentan los resultados del seguimiento a la trayectoria de los antígenos virales dentro de la médula espinal de ratón, después de la inoculación intramuscular del virus. Se describe su ascenso y localización en las láminas de Rexed (15), en los segmentos lumbar, torácico y cervical de la médula espinal.

## Materiales y métodos

### ***Inoculación y manejo de animales de laboratorio***

En este trabajo se utilizaron hembras de ratones ICR (*Institute of Cancer Research*) de 28 días de edad, mantenidas en una sala de alta seguridad biológica del bioterio del Instituto Nacional de Salud, en condiciones ambientales y nutricionales óptimas, de acuerdo con las normas éticas y legales exigidas para la investigación con animales de laboratorio.

Para la conformación de los grupos de experimentación, los animales se seleccionaron al azar. Se utilizó virus fijo CVS (*Challenge Virus Standard*) de la rabia, suministrado en alícuotas por el Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Salud.

Inicialmente, se inocularon diez ratones de 21 días, por vía intracerebral, para aumentar la cantidad de virus disponible para los experimentos. A partir de macerados de estos cerebros infectados, se obtuvieron alícuotas de diluciones seriadas para llevar a cabo la titulación, según el método modificado de Reed y Muench (16). Cada alícuota se diluyó en una solución preparada con agua destilada, suero equino normal al 2 % y antibióticos (200 UI/ml de penicilina y 4 mg/ml de estreptomina).

Los ratones del experimento se inocularon por vía intramuscular, cada uno con 0,03 ml de una solución viral diluida  $10^{-1}$  equivalente a  $10^6$  LD<sub>50</sub>. La inoculación se llevó a cabo en los músculos isquiotibiales del miembro pélvico izquierdo. Cada ocho horas, a partir de las 24 horas después de la inoculación y hasta las 56 horas después de la inoculación, se sacrificaron cinco animales inoculados con el virus y dos controles, como se describe a continuación. Cinco animales más fueron sacrificados en la fase avanzada de la enfermedad

#### Correspondencia:

Orlando Torres-Fernández, Grupo de Morfología Celular, Instituto Nacional de Salud, Avenida Calle 26 N° 51-20, Bogotá, D.C., Colombia

Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1262  
otorresf@ins.gov.co

Recibido: 05/12/16; aceptado: 12/09/17

(120 horas después de la inoculación) y, también, dos controles. En total, se utilizaron 42 animales en el experimento.

Los ratones fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de 1 ml de hidrato de cloral al 30 %. A continuación, se sometieron a perfusión intracardiaca, inicialmente con 50 ml de solución amortiguadora de fosfatos (PBS) con pH 7,2, y después, con 100 ml de una solución de fijación compuesta por paraformaldehído al 4% preparada en PBS. Inmediatamente, se extrajeron las médulas espinales y se transfirieron a frascos con solución de fijación fresca. La extracción de la médula espinal se llevó a cabo mediante disección sin descalcificación previa de la columna vertebral.

El protocolo de manejo de animales fue aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Salud (Acta 4-2014 del 29 de mayo de 2014).

### **Inmunohistoquímica**

Los segmentos de la médula espinal se incluyeron en agar al 3 % y se montaron en un vibrátomo, para obtener cortes transversales de 50  $\mu$ m de espesor, en los niveles medulares sacro, lumbar, torácico y cervical, cada ocho horas, a partir de las 24 horas de la inoculación.

Cada médula espinal se retiró de la columna vertebral, después de la perfusión, y se dividió en tres partes: intumescencia cervical, intumescencia lumbosacra y el segmento intermedio entre ellas que corresponde a la médula torácica. Teniendo en cuenta la longitud promedio de cada segmento (cervical de 7 mm; torácico de 12 mm y lumbosacro de 10 mm) y el espesor de cada corte (50  $\mu$ m), el número aproximado total de cortes por segmento fue de 140 cervicales, 240 torácicos y 200 lumbosacros.

Para mantener la relación ipsilateral-contralateral, se hizo una pequeña incisión con bisturí a lo largo del lado contrario a la inoculación de toda la médula espinal después de retirarla de la columna vertebral.

Los cortes se recogieron en PBS dentro de recipientes de vidrio, semejantes a cajas de Petri, de 3 cm de diámetro y 1,5 cm de altura. Fueron necesarias dos o tres cajas para recoger todos los cortes de cada segmento. Todo el procedimiento inmunohistoquímico para revelar la presencia de antígenos de la rabia se desarrolló, con los cortes flotando dentro de estos recipientes, en agitación constante y a temperatura ambiente (20-22 °C). Inicialmente, se dejaron en PBS hasta el día siguiente y se hicieron tres cambios de la solución

durante ese tiempo de, aproximadamente, 20 horas. Los demás lavados se hicieron en PBS, con tres cambios de 10 minutos cada uno, después de cada tratamiento.

Los cortes se trataron con cloruro de amonio 0,05 M, durante 30 minutos, para contrarrestar el efecto de los aldehídos. Después se trataron con peróxido de hidrógeno al 3 % para bloquear la peroxidasa endógena y, posteriormente, se incubaron durante 30 minutos, en una solución compuesta por suero equino al 3 %, albúmina bovina al 3 % y tritón al 10 %, para bloquear sitios inespecíficos y permeabilizar las membranas.

A continuación, se retiró la solución y, sin lavar, los cortes se incubaron en el anticuerpo primario; un antisuero antirrábico desarrollado anteriormente (17). La incubación se llevó a cabo en una dilución 1:2.500 durante dos horas. Posteriormente, los cortes se incubaron sucesivamente en el anticuerpo secundario 'biotinilado' (anti-conejo IgG Sigma, 1:600) durante 1 hora y en una solución preparada con el complejo ABC (Vector) por 1 hora adicional. El revelado fue hecho con un estuche de diaminobencidina y níquel (Vector).

Como controles de la reacción inmunohistoquímica, se utilizaron cortes de médula espinal de ratones de la misma edad y sexo, no inoculados con el virus y cortes de médula espinal de ratones infectados y sin tratamiento con anticuerpo primario. Para la localización neuroanatómica de las neuronas inmunorreactivas al virus de la rabia, se utilizaron como guía atlas especializados en médula espinal de ratón (18,19).

### **Resultados**

La primera evidencia de la presencia de antígenos de la rabia en la médula espinal se observó a las 24 horas después de la inoculación. Estos se manifestaron como pequeñas inclusiones dentro del asta ventral de la médula lumbar, con ubicación ipsilateral a la extremidad posterior inoculada, a nivel de los segmentos L5-L6 (figura 1A). Partículas como estas no se observaron en ninguno de los dos tipos de controles, como tampoco en segmentos más caudales de la médula espinal de los animales infectados.

A las 32 horas después de la inoculación se hicieron visibles las primeras neuronas que contenían antígeno suficiente para demarcar la morfología completa de las células (pericarion y dendritas). Estas se localizaron en el asta ventral de la médula

lumbar ipsilateral, entre los segmentos L5-L6, dentro del grupo de núcleos neuronales de la lámina 9 (figuras 1B y C), en la misma ubicación en la que previamente, a las 24 horas después de la inoculación, se habían observado los primeros antígenos.

A las 48 horas después de la inoculación, el virus se había dispersado a otras neuronas dentro de la sustancia gris de los dos lados de la médula lumbar (L3-L6) (figura 1D).

A las 40 horas después de la inoculación se observaron las primeras neuronas inmunorreactivas al virus, en la médula torácica ipsilateral al miembro inoculado, localizadas en la región medial de la sustancia gris, en un área correspondiente a la lámina 8 (núcleo 8Sp) (figura 2A), a nivel de los segmentos T11-T13.

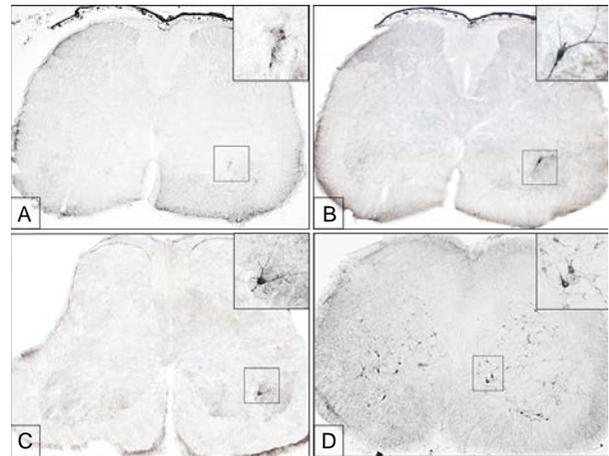
A las 48 horas después de la inoculación se reveló la presencia de las primeras neuronas inmunorreactivas en la médula cervical correspondiente a los segmentos C4-C6. Estas se ubicaron también en la zona medial ipsilateral al sitio de inoculación, dentro de la lámina 8 (figuras 2B y C).

A las 56 horas después de la inoculación se observaron neuronas inmunorreactivas dispersas en la sustancia gris de los dos lados de la médula cervical.

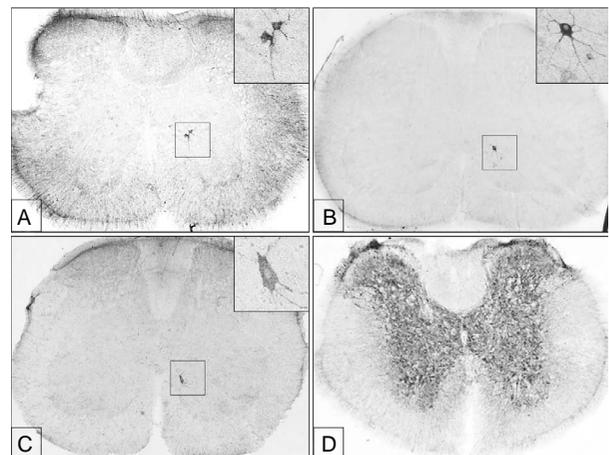
Teniendo en cuenta que la longitud promedio de la médula espinal extraída de cada ratón infectado, y medida entre la intumescencia lumbar y la intumescencia cervical, fue de 32 mm (n=20), el virus alcanzó una velocidad de desplazamiento de 2 mm/hora entre la médula lumbar y la cervical durante las 16 horas que tardó en hacer el recorrido. La velocidad pudo ser ligeramente mayor si se tiene en cuenta que la fijación produce retracción del tejido.

Aquí es importante destacar que, aun cuando el virus ya se había diseminado por toda la médula espinal, a las 56 horas de la inoculación, los animales no manifestaban ningún signo de la enfermedad. No había señales de decaimiento ni pelo erizado, ni se había afectado su locomoción, pese a que, probablemente, la mayoría de motoneuronas ya habían sido infectadas.

Apenas a partir de las 96 horas de la inoculación de este experimento, se observaron los primeros signos que consistían en parálisis parcial de las extremidades posteriores. En la fase terminal de la enfermedad (a partir de las 120 horas de la inoculación), los animales estaban completamente postrados, sin movimiento alguno. La inmunorreacción en todos los niveles de la médula espinal exhibió una densa concentración de antígenos

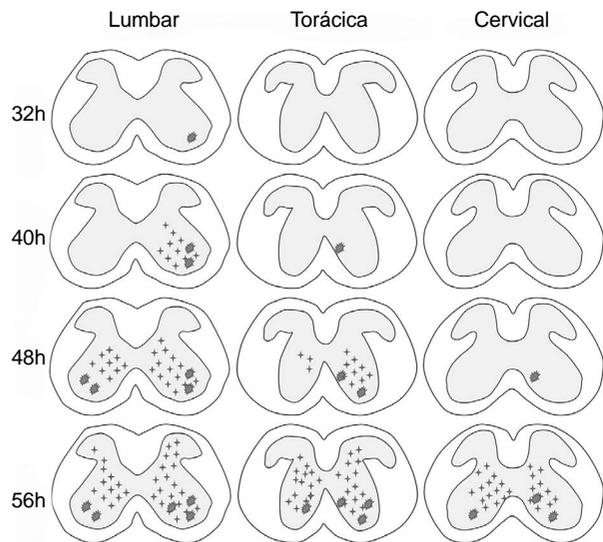


**Figura 1.** Inmunorreacción del virus de la rabia en cortes transversales de médula lumbar de ratón. **A:** Antígenos virales revelados en el asta ventral (L6) a las 24 horas de la inoculación. **B y C:** Motoneuronas del núcleo Hm9, a nivel de L6 (B) y L5 (C), a las 32 horas de la inoculación. El contenido de antígenos virales es tan alto que permite demarcar la morfología de las células. **D:** A las 48 horas de la inoculación, el virus se ha dispersado a neuronas de los dos lados de la sustancia gris (L3) (Imágenes panorámicas en 5X y ampliaciones en 40X). Nótese que los antígenos localizados en A están en la misma ubicación de la neurona inmunorreactiva observada en B.



**Figura 2.** **A.** Neuronas inmunorreactivas al virus de la rabia localizadas en la lámina 8Sp de la médula torácica (T12) a las 40 horas de la inoculación. **B y C.** Neuronas inmunopositivas para rabia en la lámina 8Sp de la médula cervical C6 (B) y C4 (C) a las 48 horas de la inoculación. **D.** Inmunorreacción a la rabia en fase avanzada de la enfermedad (a las 120 horas de la inoculación) en la médula torácica (T13) (Imágenes panorámicas en 5X y ampliaciones en 40X).

virales en la sustancia gris (figura 2D). En las figuras 3 y 4, se resumen esquemáticamente los procesos de dispersión y ascenso del virus dentro de la médula espinal.



**Figura 3.** Representación gráfica de la diseminación del virus de la rabia en la médula espinal de ratón desde el nivel lumbar hasta el nivel cervical entre las 32 y las 56 horas de la inoculación. Mientras el virus asciende a los niveles siguientes, simultáneamente se dispersa en la sustancia gris de los dos lados.

**Discusión**

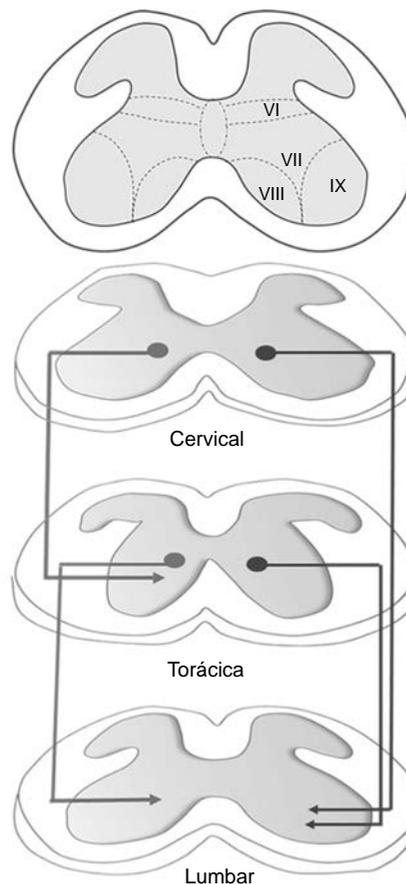
Después de la inoculación intramuscular del virus en las extremidades posteriores de los ratones, los antígenos virales se localizaron inicialmente en el asta ventral de la médula lumbar, en núcleos correspondientes a motoneuronas. El núcleo Hm9 contiene específicamente motoneuronas que inervan los músculos isquiotibiales (18-21).

La evidencia neuroanatómica de distribución de las neuronas inmunorreactivas aquí descrita, sugiere que, a partir de la médula lumbar, el virus asciende mediante transporte axonal retrógrado por la vía propioespinal. Esto se deduce por la localización de las neuronas en las que inicialmente se observaron antígenos en la médula torácica y la médula cervical. Los núcleos 8Sp de estos segmentos medulares contienen neuronas propioespinales con axones largos descendentes. Estas neuronas envían proyecciones monosinápticas directamente hasta los núcleos propioespinales inferiores y las neuronas motoras lumbares de la lámina 9 (22,23).

En otras palabras, el virus inoculado en los músculos isquiotibiales es conducido a la médula espinal hasta las motoneuronas de la lámina 9, y asciende por los axones descendentes de las neuronas propioespinales de la lámina 8 hasta los niveles torácico y cervical. Además, parte de las proyecciones de las neuronas propioespinales de

la lámina 8 pertenecen a la comisura (22); estas podrían contribuir a la rápida diseminación del virus al lado contralateral. Estos resultados son evidencia de la mayor afinidad del virus de la rabia por la vía motora y del transporte axonal retrógrado como su principal mecanismo de diseminación. Las neuronas propioespinales descendentes se consideran premotoras (23) y contribuyen a la coordinación de los reflejos y la locomoción (22).

Aquí se revelan detalles, aparentemente no conocidos, sobre el transporte del virus de la rabia por la médula espinal. Son escasos los estudios sobre rabia que se enfocan en esta parte del sistema nervioso. La mayoría de ellos tratan sobre la histopatología *post mortem* (24-26), y otros se limitan a informar el tiempo transcurrido entre la inoculación periférica del virus y su aparición en la médula lumbar, pero sin precisar el sitio exacto



**Figura 4.** Descripción de las vías de ascenso del virus de la rabia, por transporte retrógrado desde la médula lumbar hasta la médula cervical. Las flechas de la derecha indican las proyecciones propioespinales, desde la médula cervical y torácica hacia los núcleos motores de la médula lumbar. Las flechas de la izquierda representan las conexiones descendentes entre núcleos propioespinales.

y sin hacer seguimiento posterior a su ascenso por los diferentes niveles (12,27-29). Además, los intervalos de observación reportados son cada 24 horas o más, a partir de la inoculación, mientras que en el presente estudio se hizo un seguimiento cada 8 horas. Esto facilitó la detección de las primeras neuronas infectadas en cada uno de los niveles de la médula espinal.

Por otra parte, la velocidad de diseminación del virus estuvo dentro del rango reportado en estudios *in vitro* (1-2 mm por hora) para su transporte axonal retrógrado (2,7,12,30). Igualmente, el tiempo de llegada del virus de la rabia desde su inoculación periférica intramuscular hasta la médula lumbar, está dentro del rango de 24 horas reportado en otros estudios en ratón (12,29). No obstante, en sus estudios con rata, cobayo y primates, Ugolini ha establecido que se requieren, en promedio, 48 horas para que el virus inoculado por vía periférica sea detectado en las neuronas de primer orden en la médula espinal y, después, 12 horas para su paso a neuronas de segundo orden, independientemente de la distancia (7,31). En los resultados aquí presentados para ratón, estos intervalos de tiempo son ostensiblemente menores.

En la revisión bibliográfica no se encontraron estudios similares que detallen el ascenso del virus por la vía motora, desde la médula lumbar a la médula cervical, con excepción del trabajo realizado recientemente con un virus de rabia modificado genéticamente (desprovisto de la proteína G), utilizado solo como trazador monosináptico, porque ha perdido la capacidad de reproducirse y de pasar de una neurona a otra por vía transináptica (23). Con este trazador, se demostraron las conexiones monosinápticas entre las neuronas propioespinales de la médula torácica y la médula cervical con las motoneuronas lumbares. Un aspecto particular de este virus recombinante utilizado como trazador, es que el recorrido entre la médula lumbar y la médula cervical, en los ratones utilizados, tardó aproximadamente una semana.

Por otra parte, de acuerdo con sus experimentos en ratas, cobayos y primates, Ugolini sostiene que el ingreso del virus desde la periferia hasta la médula espinal ocurre exclusivamente por fibras motoras. Esto lo ha demostrado inoculando músculos que contienen abundantes fibras sensoriales, motoras y autonómicas. En ningún caso encontró diseminación del virus por vía sensorial o autonómica, y sugiere que los reportes sobre la posible entrada del virus de la rabia por vía

sensorial en ratones podrían explicarse por una mayor vulnerabilidad de esta especie ante el virus CVS, puesto que esta cepa viral fue originalmente adaptada en ratón (7,31). Esta mayor vulnerabilidad también explicaría el transporte más rápido del virus desde la periferia hasta la médula espinal y desde las motoneuronas hasta las neuronas propioespinales descendentes, hallado en ratones en el presente estudio. Ahora bien, la diseminación del virus por la ruta intramuscular parece ser más eficiente, si se tiene en cuenta el estudio más reciente que reportó el ingreso del virus CVS por la vía sensorial en ratones, en un tiempo de 96 horas después de la inoculación para su transporte desde la periferia hasta la médula espinal lumbar (11).

Finalmente, es importante destacar el hecho de que la diseminación del virus por la médula espinal, no se manifiesta por disfunción motora sino hasta bien avanzada la enfermedad, cuando el virus ya ha invadido áreas motoras superiores del encéfalo. Previamente, se había demostrado el efecto de la infección, en fase avanzada de la enfermedad, sobre la expresión de proteínas reguladoras del metabolismo del calcio en la médula espinal (32). Que el virus de la rabia no genere alteraciones funcionales como resultado de su dispersión temprana por la médula espinal, es coherente con otros estudios que han demostrado la estrategia del agente patógeno para asegurar su diseminación por todo el tejido nervioso, sin afectar la función neuronal sino hasta bien avanzada la enfermedad (2,30,33). Esto es particularmente importante en la médula espinal para permitir el avance de la infección hacia el encéfalo.

### Agradecimientos

A los funcionarios del Grupo de Virología por el suministro y mantenimiento de las cepas virales, y a los del Bioterio del Instituto Nacional de Salud por el suministro y mantenimiento de los animales de experimentación.

### Financiación

Este trabajo fue financiado con recursos del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación (COLCIENCIAS) y el Instituto Nacional de Salud (INS-Colombia), Proyecto Código 210465740573, Contrato No. 639 de 2014.

### Conflicto de intereses

Los autores consideran que no existe ningún conflicto de intereses que pueda afectar la publicación de este trabajo.

## Referencias

- Murphy FA.** Rabies pathogenesis. Brief review. *Arch Virol.* 1977;54:279-97. <https://doi.org/10.1007/BF01314774>
- Jackson AC, Zhen F.** Pathogenesis. En: Jackson AC, editor. *Rabies*. Tercera edición. San Diego: Academic Press; 2013. p. 299-349.
- Kristensson K.** Retrograde transport of macromolecules in axons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1978;18:97-110. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.18.040178.000525>
- Tsiang H.** Evidence for an intraaxonal transport of fixed and street rabies virus. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1979;38:286-99. <https://doi.org/10.1097/00005072-197905000-00008>
- Watson HD, Tignor GH, Smith AL.** Entry of rabies virus into peripheral nerves mice. *J Gen Virol.* 1981;56:371-82. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-56-2-371>
- Gillet JP, Derer P, Tsiang H.** Axonal transport of rabies virus in the central nervous system of the rat. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1986;45:619-34.
- Ugolini G.** Rabies virus as a transneuronal tracer of neural connections. *Adv Virus Res.* 2011;79:165-202. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387040-7.00010-X>
- World Health Organization.** WHO Expert consultation on rabies. En: Technical Report Series No. 982. Geneva: WHO Press; 2013. p. 1-139.
- Tsiang H, Lycke E, Ceccaldi PE, Ermine A, Hirardot X.** The anterograde transport of rabies virus in rat sensory dorsal root ganglia neurons. *J Gen Virol.* 1989;70:2075-85. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-70-8-2075>
- Castellanos J, Hurtado H, Arias J, Velandia A.** Rabies virus infection of cultured adult mouse dorsal root ganglion neurons. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91:621-5. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000500014>
- Velandia-Romero ML, Castellanos JE, Martínez-Gutiérrez M.** *In vivo* differential susceptibility of sensory neurons to rabies virus infection. *J Neurovirol.* 2013;13:367-75. <https://doi.org/10.1007/s13365-013-0179-5>
- Coulon P, Derbin C, Kucera P, Lafay F, Prehaud C, Flamand A.** Invasion of the peripheral nervous systems of adult mice by the CVS strain of rabies virus and its avirulent derivative AvO1. *J Virol.* 1989;63:3550-4.
- Zampieri N, Jessell TM, Murray AJ.** Mapping sensory circuits by anterograde trans-synaptic transfer of recombinant rabies virus. *Neuron.* 2014;81:766-78. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.033>
- Haberl MG, Viana da Silva S, Guest JM, Ginger M, Ghanem A, Mülle C, et al.** An anterograde rabies virus vector for high-resolution large-scale reconstruction of 3D neuron morphology. *Brain Struct Funct.* 2015;220:1369-79. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0730-z>
- Heise C, Kayalioglu G.** Cytoarchitecture of the spinal cord. En: Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, editores. *The spinal cord*. San Diego: Academic Press; 2009. p. 64-93.
- Habel K.** Habel Test For Potency. En: Meslin FX, Kaplan MKH, editores. *Laboratory techniques in rabies*. Cuarta edición. Geneva: WHO Press; 1996. p. 369-73.
- Lamprea NP, Ortega LM, Santamaría G, Sarmiento L, Torres-Fernández O.** Elaboración y evaluación de un antisuero para la detección inmunohistoquímica del virus de la rabia en tejido cerebral fijado en aldehídos. *Biomédica.* 2010;30:146-51. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i1.162>
- Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, Heise Claire.** Atlas of the mouse spinal cord. En: Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, editores. *The spinal cord*. San Diego: Academic Press; 2009. p. 308-79.
- Sengul G, Watson C.** Spinal Cord: En: Watson C, Paxinos G, Puelles L. *The mouse nervous system*. San Diego: Academic Press; 2012. p. 424-58.
- McHanwell S, Biscoe TJ.** The localization of motoneurons supplying the hindlimb muscles of the mouse. *Phil Trans R Soc Lond B.* 1981;293:477-508. <https://doi.org/10.1098/rstb.1981.0082>
- McHanwell S, Watson C.** Localization of motoneurons in the spinal cord. En: Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, editores. *The spinal cord*. San Diego: Academic Press; 2009. p. 92-114.
- Conta AC, Stelzner DJ.** The propiospinal system. En: Watson C, Paxinos G, Kayalioglu G, editores. *The spinal cord*. San Diego: Academic Press; 2009. p. 178-90.
- Ni Y, Nawabi H, Liu X, Yang L, Miyamichi K, Tedeschi A, et al.** Characterization of long descending premotor propiospinal neurons in the spinal cord. *J Neurosci.* 2014;34:9404-17. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1771-14.2014>
- Juntrakul S, Ruangvejvorachai P, Shuangshoti S, Wacharapluesadee S, Hemachudha T.** Mechanisms of scape phenomenon of spinal cord and brainstem in human rabies. *BMC Infect Dis.* 2005;5:104. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-5-104>
- Kojima D, Park CH, Satoh Y, Inoue S, Noguchi A, Oyamada T.** Pathology of the spinal cord of C57BL/6J mice infected with rabies virus (CVS-11) strain. *J Med Vet Sci.* 2009;71:319-24. <https://doi.org/10.1292/jvms.71.319>
- Bassuino DM, Konradt G, Cruz RA, Silva GS, Gomes DC, Pavarini SP, et al.** Characterization of spinal cord lesions in cattle and horses with rabies: the importance of correct sampling. *J Vet Diagn Invest.* 2016;28:455-60. <https://doi.org/10.1177/1040638716647992>
- Dean DJ, Evans WM, McClure RC.** Pathogenesis of rabies. *Bull World Health Organ.* 1963;29:803-11.
- Baer GM, Shanthaveerappa TR, Bourne GH.** Studies on the pathogenesis of fixed rabies virus in rats. *Bull World Health Organ.* 1965;33:783-94.
- Watson HD, Tignor GH, Smith AL.** Entry of rabies virus into the peripheral nerves of mice. *J Gen Virol.* 1981;56:371-82. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-56-2-371>
- Tsiang H.** Pathophysiology of rabies virus infection of the nervous system. *Adv Virus Res.* 1993;42:375-412.
- Ugolini G.** Use of rabies virus as transneuronal tracer of neuronal connections: Implications for the understanding of rabies pathogenesis. *Dev Biol (Basel).* 2008;131:493-506.
- Monroy-Gómez J, Torres-Fernández O.** Distribución de calbindina y parvalbúmina y efecto del virus de la rabia sobre su expresión en la médula espinal de ratones. *Biomédica.* 2013;33:564-73. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.1552>
- Lamprea N, Torres-Fernández O.** Evaluación inmunohistoquímica de la expresión de calbindina en el cerebro de ratones en diferentes tiempos después de la inoculación con el virus de la rabia. *Colomb Med.* 2008;39(Supl.3):7-13.

ARTÍCULO ORIGINAL

## Identificación etiológica de agentes virales de la encefalitis aguda en Guadalajara, México, 2011-2015

Mayra L. Lúa<sup>1</sup>, Arturo Plascencia<sup>2</sup>, Patricia Paredes<sup>2</sup>, Yaxsier de Armas<sup>3</sup>, Miguel Raygoza<sup>4</sup>, Erika Martínez<sup>5</sup>, Fernando Siller<sup>6</sup>, Iván Isidro Hernández<sup>4</sup>

- <sup>1</sup> Departamento de Microbiología y Patología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México
- <sup>2</sup> Servicio de Infectología Pediátrica, Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, Guadalajara, México
- <sup>3</sup> Laboratorio de Biología Molecular del Hospital, Instituto de Medicina Tropical Pedro Kouri, La Habana, Cuba
- <sup>4</sup> Departamento de Microbiología y Patología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México
- <sup>5</sup> Unidad de Biología Molecular, Hospital Civil de Guadalajara, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México
- <sup>6</sup> Licenciatura en Bacteriología, Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia

**Introducción.** La encefalitis viral aguda se define como un proceso inflamatorio asociado a disfunción neurológica con desenlace fatal o daño grave permanente. En México no se han hecho estudios de identificación directa de los agentes etiológicos causales de la encefalitis viral aguda.

**Objetivo.** Identificar mediante PCR en tiempo real los principales agentes virales causantes de encefalitis viral aguda en México.

**Materiales y métodos.** Se obtuvo el líquido cefalorraquídeo de pacientes con sospecha de encefalitis viral que ingresaron al servicio de urgencias del Hospital Civil Fray Antonio Alcalde. Se extrajeron ácidos nucleicos para identificar los patógenos mediante PCR y PCR con transcripción inversa en tiempo real.

**Resultados.** Se capturaron un total de 66 pacientes entre el 2011 y el 2014. En 16 de los casos (24 %) se identificó el agente viral y se encontró que el principal agente causal fue el enterovirus, con ocho casos (50 %), seguido del virus del herpes simple (HSV: 37 %), con seis casos, y el citomegalovirus (CMV: 12,5 %), con dos casos. El promedio de edad fue de 25 años (0-70 años). Los casos positivos predominaron en los varones (63,3 %) y se estableció un predominio estacional en otoño (37,5 %). La mayoría de los pacientes presentó fiebre (48,4 %) o cefalea (36,3 %) y, en menor proporción, convulsiones, confusión y debilidad muscular (30,3 %) seguidas de desorientación (28,75 %) y apatía (25,7 %). En dos de los casos se observó el signo de Kerning (3 %) y en otros dos, el signo de Brudzinski (3 %).

**Conclusiones.** La PCR en líquido cefalorraquídeo es una técnica de diagnóstico adecuada para la identificación de virus causales de encefalitis viral, lo cual permite prescribir los medicamentos específicos.

**Palabras clave:** encefalitis viral/etiología; enterovirus; simplexvirus; citomegalovirus; reacción en cadena de la polimerasa; líquido cefalorraquídeo; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3730>

### Etiological identification of viral agents in acute encephalitis in Guadalajara, México, 2011-2015

**Introduction:** Viral encephalitis is a well-known inflammatory process associated with neurological dysfunction that might derive into severe brain damage or a fatal outcome. In México there is no epidemiological data that describes the prevalence of viral agents responsible for acute encephalitis.

**Objective:** To identify the main viral agents by real time PCR involved in acute encephalitis in Mexico.

**Materials and methods:** We obtained cerebral spinal fluid (CSF) samples from all patients with suspected viral encephalitis admitted to the emergency service of the *Hospital Civil de Guadalajara* "Fray Antonio Alcalde". To identify pathogens, we performed nucleic acid extraction using real-time PCR and RT-PCR.

#### Contribución de los autores:

Mayra L. Lúa y Erika Martínez: estandarización del panel diagnóstico por PCR en tiempo real y procesamiento de muestras

Arturo Plascencia: captación, manejo y seguimiento clínico de pacientes con encefalitis aguda

Patricia Paredes: control epidemiológico y captación de pacientes

Yaxsier de Armas: confirmación de casos positivos por PCR

Miguel Raygoza: análisis de datos

Fernando Siller: análisis de los casos de virus del Nilo occidental y de dengue

Iván Isidro Hernández: responsable del proyecto, gestión de financiación y asesoría en el montaje de técnicas

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

**Results:** Sixty-six patients were diagnosed with acute encephalitis from 2011 to 2014. A definitive viral etiological diagnosis was established in 16 patients (24%); the main causative agents were enteroviruses in 50% of the 16 positive samples, followed by herpes simplex virus (37%) and cytomegaloviruses (12.5%). Patients with encephalitis were predominantly male (63.3%) and a seasonal predominance was observed during autumn (37.5%). The main clinical characteristics in the acute encephalitis phase were fever (48.45) and cephalgia (36.3), followed by seizures, disorientation, and muscular weakness (30.3%). Kerning sign was present in two cases (3%) and other two cases presented Brudzinski's sign (3%).

**Conclusions:** CSF PCR is a suitable diagnostic technique for the identification of viral encephalitis caused by viral infections that allows an appropriate antiviral therapeutic treatment.

**Key words:** Encephalitis, viral/etiology; enterovirus; simplexvirus; cytomegalovirus; polymerase chain reaction; cerebrospinal fluid; México.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3730>

La encefalitis viral se define como un proceso inflamatorio asociado con disfunción neurológica que resulta en la muerte o en daños graves permanentes, incluidas alteraciones cognitivas y de conducta (1,2). Las infecciones del sistema nervioso central habitualmente se producen como una complicación de infecciones virales sistémicas y pocas pueden prevenirse con la vacunación masiva o individual; además, se cuenta con pocos tratamientos farmacológicos específicos (3). Los signos y síntomas de los pacientes con encefalitis viral son variables e incluyen alteración del estado mental, convulsiones, déficit neurológico focal, cefalea, fiebre, síntomas psiquiátricos o alteraciones cognitivas (4). La encefalitis viral está asociada con morbilidad y mortalidad significativas y usualmente requiere hospitalización. Muchos casos no se reportan a las autoridades de salud y son múltiples los agentes causales que, además, pocas veces logran ser identificados. La incidencia fluctúa entre 3,5 y 7,4 por cada 100.000 habitantes, y afecta a personas de todas las edades, aunque la incidencia es relativamente mayor en la población pediátrica, y afecta a los dos sexos con cierto predominio en hombres. Se distribuye mundialmente y no se registra predominio estacional. Para el diagnóstico es necesario obtener líquido cefalorraquídeo, lo cual es una limitante que afecta la posibilidad de prescribir el tratamiento más adecuado (5-7). Entre los agentes virales capaces de producirla se reportan más de 100 patógenos (8).

Correspondencia:

Iván Isidro Hernández, Departamento de Microbiología y Patología, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Sierra Mojada 950, Colonia Independencia, Guadalajara, Jalisco, México  
Teléfono: (52) 36990509; celular (52) 3339686903  
ivanhzc21@yahoo.com.mx

Recibido: 08/12/16; aceptado: 12/09/17

En México se desconocen la prevalencia y la incidencia de la encefalitis viral aguda debido a que es una enfermedad infecciosa cuya notificación no es obligatoria; solo se registra en reportes de casos en los cuales no se identifican los agentes virales implicados. En el presente trabajo se estudió el líquido cefalorraquídeo mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (*Real Time Polymerase Chain Reaction*, RT-PCR) en pacientes con sospecha de encefalitis viral aguda admitidos en el Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde.

## Materiales y métodos

### Pacientes

Se captaron 66 pacientes entre enero de 2011 y diciembre de 2014 con signos y síntomas sugestivos de encefalitis viral aguda atendidos en el servicio de urgencias del Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde, Jalisco, México. Los principales criterios de inclusión de pacientes fueron las alteraciones del estado mental, el comportamiento, el estado de conciencia, así como los cambios en la personalidad, la letargia y la somnolencia en el curso de menos de 24 horas sin otra causa detectada. Entre los criterios secundarios se incluyó la presencia de fiebre ( $\geq 38$  °C) durante las 72 horas previas a la hospitalización, las crisis convulsivas y los hallazgos neurológicos focales, así como el líquido cefalorraquídeo con un grado de alteración que no se correlacionara con la gravedad del cuadro, una pleocitosis de 5 WBC/mm<sup>3</sup> o mayor, una resonancia magnética que revelara anomalía del parénquima cerebral o neuroimágenes que sugirieran la presencia de encefalitis, localización de la inflamación o encefalomiелitis diseminada aguda. Los casos con turbidez del líquido o cultivo bacteriano positivo se excluyeron del grupo de estudio.

### **Diseño del estudio**

Todos los pacientes tenían menos de diez días de evolución a partir del inicio de los síntomas. Los principales síntomas fueron la fiebre de más de 38 °C, alteraciones de la conciencia y la conducta, alteraciones en el líquido cefalorraquídeo (se excluyeron aquellos con turbidez, daño traumático, intoxicación aguda por drogas o pesticidas), así como un historial previo de convulsiones e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Se generó una base de datos en Excel para su posterior exportación a paquetes estadísticos.

### **Análisis del líquido cefalorraquídeo**

Las punciones lumbares para la obtención de líquido cefalorraquídeo se ajustaron a los estándares éticos del Hospital Civil de Guadalajara Fray Antonio Alcalde. Las muestras se enviaron al laboratorio para la extracción de los ácidos nucleicos virales y se almacenó una alícuota a -80 °C para posteriores análisis.

### **Extracción de ácidos nucleicos virales**

La extracción de los ácidos nucleicos virales se hizo de manera automatizada en el equipo MagNAPure LC Roche Compact 2.0 con el estuche de extracción de ácidos nucleicos totales de referencia 03038505001; el procedimiento siguió las especificaciones del proveedor.

### **Transcripción inversa**

Esta se hizo empleando la transcriptasa inversa del virus de la leucemia murina Moloney (*Moloney Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase*, M-MLV RT) (Invitrogen™, Cat # 28025-013), así como el inhibidor de ribonucleasas Recombinant RNasin® Ribonuclease Inhibitor, Promega (Cat. N2511). El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las especificaciones del proveedor a partir de 5 µg de ARN total.

### **Iniciadores y sondas para la identificación de neurovirus**

Las determinaciones se llevaron a cabo mediante PCR en tiempo real con sondas TaqMan®. Para la identificación de los neurovirus se usaron los iniciadores y las sondas descritas previamente para el citomegalovirus (CMV), el virus de Epstein-Barr (EVB), el virus varicela-zóster (VZV), el virus de herpes humano tipo 6 (HHV- 6) y los enterovirus (HEV) (9), diseñados con el programa Primer Express™, versión 2.0, de Applied Biosystems®, en tanto que los iniciadores y las sondas para

el virus del herpes simple (HSV) se tomaron del protocolo validado de Spartan Bioscience®. Los del virus de influenza A se tomaron del protocolo de los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) y, por último, para los del virus del Nilo occidental (WNV) se utilizó el estuche comercial de TIB MOLBIOL® # 40-0334-16, todos estos mencionados en el cuadro 1. Como control positivo interno se utilizó el gen de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) para determinar la presencia o ausencia de neurovirus. Los iniciadores y las sondas de Integrated DNA Technologies (IDT®) con calidad de cromatografía líquida de alta eficacia (*high performance liquid chromatography*, HPLC) (cuadro 1). Todos los controles positivos se adquirieron en vircell.

Los productos de cada juego de iniciador y sonda se validaron mediante PCR de punto final; con el programa *Basic Local Alignment and Search Tool* (BLAST) se comprobó que efectivamente los iniciadores flanquearan la región de interés y no reconocieran otra molécula diferente.

Se utilizó el equipo Light cycler® Nano de Roche para los estudios de diagnóstico viral y el LightCycler® TaqMan® Master para los ensayos de PCR en tiempo real con sondas TaqMan® (Roche, Cat No. 04 735 536 001), el cual contiene la enzima ADN polimerasa FastStart™ Taq DNA Polymerase, el tampón de reacción MgCl<sub>2</sub> y el trifosfato de desoxiadenosina (*deoxyadenosine triphosphate*, dNTP). Las cantidades de los reactivos se ajustaron a las especificaciones del proveedor para un volumen total de 20 µl.

### **Tipificación del HSV-1 y el HSV-2**

La discriminación entre el HSV-1 y el HSV-2 se hizo mediante PCR de punto final utilizando el estuche de Seegene Seeplex® Meningitis-V1 ACE Detection (V2.0) (# Cat MG6611) siguiendo las especificaciones del proveedor.

### **Análisis estadístico**

El análisis estadístico descriptivo se hizo con el programa estadístico SPSS, versión 20.0.0. Para todos los análisis se consideró un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

### **Consideraciones éticas**

El estudio se adhirió a los principios éticos establecidos en la Declaración de Helsinki y fue evaluado y aprobado por el Comité de Investigación, Bioética y Bioseguridad del Hospital Civil de Guadalajara-FAA, Jalisco, México. Los pacientes incorporados

**Cuadro 1.** Secuencia de iniciadores y sondas TaqMan® para la identificación de neurovirus

Virus	Blanco	Tamaño de amplicón (pb)	Secuencia de oligonucleótidos 5'-3' Sentido Antisentido Sonda	Posición de nucleótidos	Número de acceso a GenBank
HSV	Glicoproteína B	124	CCGTCAGCACCTTCATCGA CGCTGGACCTCCGTGTAGTC 6-FAM-CCACGAGATCAAGGA CAG CGG CC-BHQ1	1997-2015 2101-2120 2063-2085	JQ320080.1
CMV	Proteína MIE	76	AACTCAGCCTTCCCTAAGACCA GGGAGCACTGAGGCAAGTTC 6-FAM-CAA TGG CTG CAG TCA GGC CA TGG-BHQ1	2414-2435 2470-2489 2437-2459	M21295
EBV	BNTp143	74	GGAACCTGGTCATCCTTTGC ACGTGCATGGACCGGTTAAT 6-FAMCGCAGGCACTCGTACTGCCT(AS)-BHQ1	4679-4698 4733-4752 4700-4722	NC_001345
VZV	ORF38	82	AAGTTCCCCCGTTTCGC TGGACTTGAAGATGAAGTAAATGAAGC 6-FAM-CCGCAACAACCTGCAGTATATATCGTCTCA-BHQ1	69313-69329 69368-69394 69336-69364	X04370
HHV-6	Gen ADN polimerasa	74	GAAGCAGCAATCGCAACACA ACAACATGTAACCTCGGTGTACGGT 6-FAM-AACCCGTGCGCCGCTCCC-BHQ1	57517-57536 57568-57590 57544-57561	NC_001664
EV	Gen 5'UTR <sup>e</sup>	148	CCCTGAATGCGGCTAATCC ARATTGTCACCATAAGCAGCCA 6-FAM CGGAACCGACTACTTTGGGTGTCCGTGTTT-BHQ_1	455-473 581-602 535-565	D00820
Influenza			GACCRATCCTGTACCTCTGAC AGGGCATTYTGACAAKCGTCTA 6-FAM- TGCAGTCCTCGCTCACTGGGCACG-BHQ1		
VON			Kit de TIB MOLBIOL # 40-0334-16		

al estudio aceptaron su participación mediante la firma del consentimiento informado y, cuando se trataba de menores de 16 años de edad, los padres autorizaron su participación.

### Resultados

Se captaron 66 muestras, de las cuales seis fueron positivas para el HSV, ocho para enterovirus y dos para CMV. Los pacientes provenían del servicio de urgencias y del área de infecto-pediatría del hospital, y su media de edad era de 16 años (figura 1).

### Características clínicas y demográficas

Se analizaron los datos demográficos de los 66 pacientes (cuadro 2), incluidos aquellos que no fueron positivos para ningún agente viral. En el momento de ingreso al hospital los pacientes habían sido diagnosticados con una gran variedad de condiciones: parálisis flácida aguda, encefalitis viral, cefalea, neuroinfección, epilepsia y estado convulsivo.

Se observó un mayor número de casos en otoño (24/64; 37,5 %), aunque dichos pacientes no eran necesariamente positivos. Asimismo, hubo una leve mayoría de casos en hombres (42/66; 63,6 %) comparados con las mujeres (24/66; 36,3 %), incluso entre quienes sí estaban infectados por

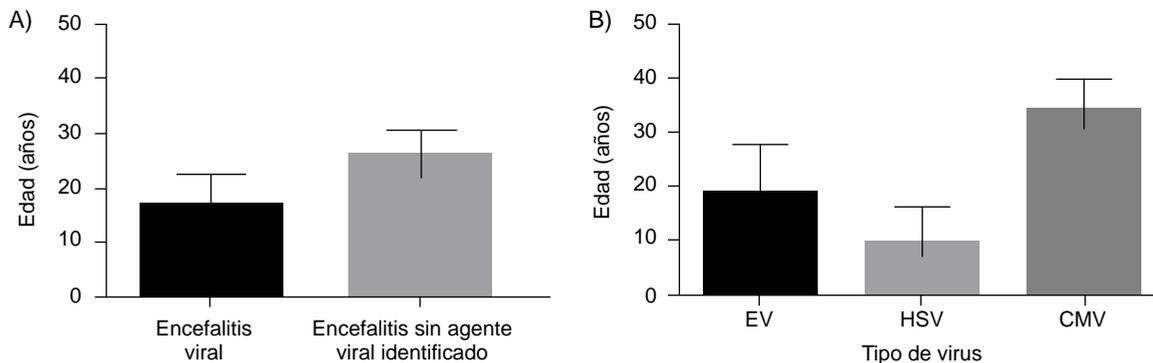
un agente causal. El promedio de edad de los pacientes infectados fue de 25,5 años. La mediana de edad para los infectados por HSV fue de 4 (0-43 años), para los infectados por HEV fue de 7,5 (1-70 años) y para los infectados por CMV fue de 34 (28-40 años).

Se analizaron los datos clínicos (cuadro 3) de los 66 pacientes para establecer la frecuencia de la presentación de los síntomas importantes de la enfermedad: fiebre (48,4 %) y cefalea (36,3 %), los cuales son los principales síntomas de la triada para el diagnóstico presuntivo.

Los síntomas encefálicos y meníngeos se presentaron en menor proporción (cuadro 4), siendo la confusión, las convulsiones y la debilidad muscular los más frecuentes (30 % de los pacientes), seguidos de la desorientación (en 28,7 %). Solo dos de los pacientes presentaron el signo de Kerning y de Brudzinski (3 %) y únicamente un paciente falleció (1,5 %, por HEV).

### Parámetros en el líquido cefalorraquídeo

Los parámetros evaluados en las muestras de líquido cefalorraquídeo se resumen en el cuadro 5. Se obtuvieron los datos de glucosa normal



**Figura 1.** Distribución etaria de pacientes por grupo de estudio y virus identificado. Los datos se presentan como media y error estándar. **A.** Distribución de la edad por grupo de estudio. **B.** Distribución de la edad por tipo de virus identificado. EV: enterovirus, HSV: virus herpes simple, CMV: citomegalovirus

**Cuadro 2.** Distribución de datos demográficos de los 66 pacientes captados

Parámetro	Frecuencia o valor promedio	Rango o porcentaje	Virus en líquido cefalorraquídeo
<b>Datos demográficos</b>			
<b>Sexo</b>			
Masculino	42	63,6	10
Femenino	24	36,3	6
Edad (años)	25.49	0-70	18,26
<b>Virus en líquido cefalorraquídeo</b>			
Sí	16	24,24	
No	50	75,75	
HSV	6	37,5	
EV	8	50	
CMV	2	12,5	
Otro	0	-	
<b>Estacionalidad</b>			
Primavera	22	34,3	
Verano	2	3	
Otoño	24	37,5	
Invierno	16	25	

en ambos grupos de estudio, un aumento de las proteínas en los dos grupos, y aumento de leucocitos con predominio mononuclear en el grupo de encefalitis viral. Por último, la deshidrogenasa láctica (DHL) fue significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en el grupo de encefalitis sin agente viral identificado. Los datos se presentan como media.

### **Tomografía axial computarizada**

En 22 pacientes fue posible confirmar el diagnóstico mediante tomografía axial computarizada (figura 2), con la cual se detectaron zonas de inflamación y necrosis.

### **Discusión**

La encefalitis en México está subdiagnosticada debido a dos circunstancias principales: la mayoría de las veces el cuadro clínico es confundido con

problemas psiquiátricos y no se identifican los patógenos en el líquido cefalorraquídeo por deficiencia en la implementación de herramientas diagnósticas moleculares efectivas y oportunas (PCR) en los hospitales. El reporte del agente causal de encefalitis no es obligatorio en el país, excepto en los casos de tuberculosis. Por ello, hasta la fecha no ha habido estudios de identificación directa del agente causal en los casos de encefalitis viral aguda mediante técnicas moleculares como la PCR. La PCR en tiempo real ha llegado a considerarse la prueba de referencia para el diagnóstico de infecciones virales (10). Existe un reporte de hace una década de un brote de enterovirus ECHO tipo 30 (11), sin embargo, en el estudio el diagnóstico se basó exclusivamente en la presentación clínica de la condición. También se encontró otro reporte en el norte de México en

**Cuadro 3.** Distribución de datos clínicos de pacientes con encefalitis

Parámetro	Frecuencia o valor promedio	Rango o porcentaje	Virus en líquido cefalorraquídeo n=16
Manifestaciones clínicas			
Fiebre	32/66	48,4	13 (92,8 %)
Erupción (roséola)	2/66	3	1 (7,1 %)
Amigdalitis	0	-	-
Dolor torácico	0	-	-
Mialgias	6/66	9,9	-
Cefalea	24/66	36,3	10 (71,4 %)
Diarrea	1/66	1,5	-
Náusea	0	-	-
Dolor abdominal	3/66	4,5	2 (14,3 %)
Linfadenopatía	1/66	1,5	1 (7,1 %)
Conjuntivitis	8/66	12,1	3 (21,4 %)
Complicaciones respiratorias	2/66	3	1 (7,1 %)
Fatiga	5/66	7,57	1 (7,1 %)

**Cuadro 4.** Datos encefálicos y meníngeos de los pacientes con encefalitis viral detectada

Datos encefálicos	Frecuencia o valor promedio	Rango o porcentaje	Virus en líquido cefalorraquídeo n=16
Apatía	17/66	25,7	4/16 (28,6 %)
Habla farfullada	8/66	12,1	2/16 (14,3 %)
Diplopía	2/66	1,5	1/16 (7,1 %)
Disartria	4/66	6	1/16 (7,1 %)
Desorientación	19/66	28,7	5/16 (35,7 %)
Confusión	20/66	30,3	7/16 (50 %)
Ataxia	11/66	16,6	2/16 (14,3 %)
Parálisis	8/66	12,1	1/16 (7,1 %)
Debilidad muscular	20/66	30,3	3/16 (21,4 %)
Irritabilidad	12/66	18,2	3/16 (21,4 %)
Somnolencia	10/66	15,5	1/16 (7,1 %)
Convulsiones	20/66	30,3	7/16 (50 %)
Agresividad	4/66	6	
Sopor	2/66	1,5	
Estupor	1/66	1,5	
Coma	1/66	1,5	
Muerte	1/66	1,5	
Hipotonía	4/66	6	
Hiperreflexia	4/66	6	
Tembor	3/66	4,54	
Datos meníngeos			
Rigidez de nuca	2/66	3	-
Dolor lumbar	1/66	1,5	-
Fotofobia	1/66	1,5	-
Signo de Kerning	2/66	3	2/16 (7,1 %)
Signo de Brudzinski	2/66	3	2/16 (7,1 %)

el cual se alude a la vigilancia de flavivirus (dengue y WNV) en pacientes con encefalitis; en dicho estudio el diagnóstico se hizo con la técnica de ELISA (12,13), método que no identifica de manera directa el patógeno causal, por lo que podía tratarse de anticuerpos de una infección previa.

Los resultados epidemiológicos relacionados con la identificación de agentes etiológicos en líquido cefalorraquídeo descritos en el presente estudio

conuerdan con lo reportado por otros grupos de investigación de distintos países. En el 24 % de las muestras recolectadas se identificó el agente viral en el líquido cefalorraquídeo, lo que coincide con el 22,9 % reportado en población polaca (14), en tanto que la identificación en población francesa se ha registrado en menos del 20% (15).

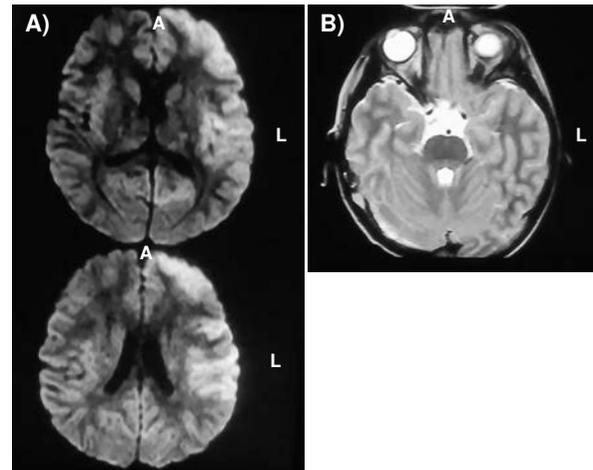
Entre los virus identificados el HEV fue el más frecuente, con ocho (50 %) casos de los 16 en

**Cuadro 5.** Parámetros bioquímicos de 66 pacientes con sospecha de encefalitis

Parámetro	Encefalitis viral n=16 (%)	Encefalitis sin agente viral identificado n=50 (%)
Glucosa en líquido cefalorraquídeo (mg/dl)	61,40 (31 %)	71,96 (46 %)
Proteínas totales en líquido cefalorraquídeo (mg/dl)	57,00 (38 %)	62,27 (44 %)
Leucocitos en líquido cefalorraquídeo (mm <sup>3</sup> )	79,75 (25 %)	13,61 (36 %)
Mononucleares en líquido cefalorraquídeo (mm <sup>3</sup> )	11,67 (38)	22,75 (40 %)
Leucocitos polimorfonucleares en líquido cefalorraquídeo (mm <sup>3</sup> )	8,50 (25 %)	20,65 (34 %)
Deshidrogenasa láctica en líquido cefalorraquídeo	8 (25 %)	30,23 (34 %)

los que el agente viral se identificó. Estos datos son similares a lo reportado en el 2008, cuando las infecciones por HEV (coxsackie y echovirus) fueron las más comunes: en 80 % de los casos de infecciones del sistema nervioso central en población pediátrica, seguidos de las infecciones por HSV (16). La prevalencia de HEV en la población pediátrica obtenida en el presente estudio coincide con lo reportado por Li, *et al.*, en el 2015, en cuyo estudio, de los 13.206 pacientes analizados, 2.673 pacientes menores de 5 años de edad fueron positivos para HEV (17). Por último, con relación al sexo y la edad, nuestros resultados coinciden con reportes previos en los cuales el promedio de edad de pacientes con encefalitis viral fue de 18 años (24 %) en comparación con aquellos en los que no se identificó el agente (26 años, 76 %); el sexo masculino resultó más afectado (64 %), lo cual coincide con otro estudio que reportó 70 % de hombres afectados (18).

Las manifestaciones clínicas de la encefalitis viral son inespecíficas, aunque en ocasiones los pacientes presentan una constelación de signos frontales y temporales como afasia, cambios de personalidad y convulsiones focales, que sugieren el diagnóstico. El compromiso del estado de la conciencia, la fiebre, la cefalea, los cambios de personalidad, las convulsiones, los vómitos, la hemiparesia o la pérdida de memoria ocurren con la misma frecuencia observada en la encefalitis de otro origen. Los reportes sobre los signos y síntomas presentados por los pacientes son diversos, y en varios estudios se menciona que la mayoría de ellos presentó fiebre (80 %), cefalea (67 %) y, en mucha menor proporción, signos focales (<15 %) y fallecimientos (13,35%) (18). Lo observado en nuestros pacientes fue similar, aunque con menores frecuencias: fiebre (48,4 %) seguida de cefalea (36 %) y confusión y convulsiones (30 %). Solo dos de los pacientes presentaron el signo de Kerning y de Brudzinski (3 %) y solo un paciente falleció por encefalitis viral (1,5 %). Es importante señalar que en el estudio de Fica, *et al.*, en el 2005, se



**Figura 2. A.** Paciente masculino de cinco años de edad con diagnóstico de encefalitis viral con imágenes hipertensas que comprometen la parte externa e inferior de los lóbulos frontal y temporal del lado izquierdo y parte del parietal, con leve incremento del tamaño de las astas posteriores de ventrículos laterales. **B.** En T2 se alcanza a visualizar la zona de necrosis de lóbulos temporales típicos de la encefalitis viral.

detectaron 15 casos de encefalitis en dos lugares de Chile al cabo de 14 años de estudio. En nuestro estudio se incluyeron 66 pacientes a lo largo de tres años (19). Los valores de pleocitosis siguen siendo controversiales para delimitar las infecciones del sistema nervioso central (20,21).

Es importante mencionar, además, que en la situación epidemiológica actual se deben considerar los virus del chikungunya y el Zika como nuevos agentes causales de encefalitis (22,23).

Una limitante del presente estudio fue la falta de estudios paraclínicos completos en todos los pacientes, lo cual hubiera permitido un análisis más amplio, así como los pocos estudios de imágenes diagnósticas, lo que hubiera permitido establecer más correlaciones con el agente etiológico identificado. Esta problemática no es exclusiva de México, pues incluso en muchos países desarrollados no se cuenta con estudios completos y en muchos casos no se identifica el agente etiológico (24).

### Conflicto de intereses

Los autores declaramos no tener ningún conflicto de intereses.

### Financiación

La financiación del estudio corrió por cuenta de los propios autores.

### Referencias

1. **Hamid JS, Meaney C, Crowcroft NS, Granerod J, Beyene J, UK Health Protection Agency Aetiology of Encephalitis Study Group.** Potential risk factors associated with human encephalitis: Application of canonical correlation analysis. *BMC Med Res Methodol.* 2011;11:120. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-11-120>
2. **Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, Sejvar JJ, Marra CM, Roos KL, et al.** The management of encephalitis: Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2008;47:303-27. <https://doi.org/10.1086/589747>
3. **Stahl JP, Mailles A, Dacheux L, Morand P.** Epidemiology of viral encephalitis in 2011. *Med Mal Infect.* 2011;41:453-64. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.05.015>
4. **Somand D, Meuer W.** Central nervous system infections. *Emerg Med Clin North Am.* 2009;27:89-100. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2008.07.004>
5. **Mailles A, Stahl JP.** Infectious encephalitis in France in 2007: A national prospective study. *Clin Infect Dis.* 2009;49:1838-47. <https://doi.org/10.1086/648419>
6. **Arroyo HA, Bologna R.** Viral encephalitis. *Rev Neurol.* 1997;142:912-9.
7. **Mace SE.** Central nervous system infections as a cause of an altered mental status? What is the pathogen growing in your central nervous system? *Emerg Med Clin North Am.* 2010;28:535-70. <https://doi.org/10.1016/j.emc.2010.03.002>
8. **Cho TA, Mckendall RR.** Clinical approach to the syndromes of viral encephalitis, myelitis, and meningitis. *Handb Clin Neurol.* 2014;123:89-121. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53488-0.00004-3>
9. **Watzinger F, Suda M, Preuner S, Baumgartinger R, Ebner K, Baskova L, et al.** Real-time quantitative PCR assays for detection and monitoring of pathogenic human viruses in immunosuppressed pediatric patients. *J Clin Microbiol.* 2004;42:5189-98. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.11.5189-5198.2004>
10. **Debiasi RL, Tyler KL.** Molecular methods for diagnosis of viral encephalitis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:903-25. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.903-925.2004>
11. **Rodríguez SR, Gómez BD, Pallansch M.** Brote epidémico de meningitis viral causado por virus Echo tipo 30. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 1992;49:412-5.
12. **Rodríguez ML, Rodríguez DR, Blitvich BJ, López MA, Fernández-Salas I, Jiménez JR, et al.** Serologic surveillance for West Nile virus and other flaviviruses in febrile patients, encephalitic patients, and asymptomatic blood donors in northern México. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010;10:151-7. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0203>
13. **Velásquez-Pérez L, Ramírez-Crescencio MA.** Neurological disease surveillance and mandatory reporting: A trend and outcome of the national neurological institute of health in México city from 2005 to 2011. *Gac Med Mex.* 2014;150:540-51.
14. **Stankiewicz PI, Piotrowska A.** Meningitis and encephalitis in Poland in 2013. *Przegl Epidemiol.* 2015;69:229-34.
15. **Stahl JP, Mailles A.** What is new about epidemiology of acute infectious encephalitis? *Curr Opin Neurol.* 2014;27:337-41. <https://doi.org/10.1097/WCO.000000000000097>
16. **Fitch MT, Abrahamian FM, Moran GJ, Talan DA.** Emergency department management of meningitis and encephalitis. *Infect Dis Clin of North Am.* 2008;22:33-52. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2007.10.001>
17. **Li W, Zhang X, Chen X, Cheng YP, Wu YD, Shu Q.** Epidemiology of childhood enterovirus infections in Hangzhou, China. *Virol J.* 2015;12:58. <https://doi.org/10.1186/s12985-015-0294-4>
18. **Flóres-González JC, Jordán-García I, Turón-Viñas E, Montero-Valladares C, Téllez-González C, Fernández-Carrión F, et al.** Etiología, presentación clínica y evolución neurológica de las encefalitis víricas graves en la edad pediátrica (estudio ECOVE). *Rev Neurol.* 2015;61:7-13.
19. **Fica A, Pérez C, Reyes P, Gallardo S, Calvo X, Salinas AM.** Serie clínica de 15 casos confirmados por reacción de polimerasa en cadena. *Rev Chil Infect.* 2005;22:38-46. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182005000100005>
20. **Hebant B, Miret N, Bouwyn JP, Delafosse E, Lefaucheur R.** Absence of pleocytosis in cerebrospinal fluid does not exclude herpes simplex virus encephalitis in elderly adults. *J Am Geriatr Soc.* 2015;63:1278-9. <https://doi.org/10.1111/jgs.13493>
21. **Patel B, Bhatt GC, Kushwaha KP, Gore MM.** Japanese encephalitis presenting without cerebrospinal fluid pleocytosis. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:1416. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000911>
22. **Doughty CT, Yawetz S, Lyons J.** Emerging causes of arbovirus encephalitis in North America: Powassan, Chikungunya, and Zika viruses. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2017;17:12. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0724-3>
23. **Acevedo N, Waggoner J, Rodríguez M, Rivera L, Landivar J, Pinsky B, et al.** Zika virus, Chikungunya virus, and dengue virus in cerebrospinal fluid from adults with neurological manifestations, Guayaquil, Ecuador. *Front Microbiol.* 2017;8:42. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00042>
24. **Mailles A, Stahl JP, Bloch KC.** Update and new insights in encephalitis. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23: 607-13. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.05.002>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Niveles de actividad física, calidad de vida relacionada con la salud, autoconcepto físico e índice de masa corporal: un estudio en escolares colombianos

Constanza Palomino-Devia<sup>1</sup>, Felipe Augusto Reyes-Oyola<sup>1</sup>, Antonio Sánchez-Oliver<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias del Deporte, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España

**Introducción.** La actividad física, la calidad de vida relacionada con la salud, el autoconcepto y el índice de masa corporal son indicadores de un estilo de vida saludable.

**Objetivo.** Determinar el nivel de actividad física y de sedentarismo, la calidad de vida relacionada con la salud, el autoconcepto físico y el índice de masa corporal en escolares colombianos de educación secundaria y media.

**Materiales y métodos.** Participaron en el estudio 1.253 estudiantes entre los 10 y los 20 años (601 hombres y 652 mujeres) (14,62±2,01). Para las mediciones se utilizaron una báscula, un tallímetro, el cuestionario internacional de actividad física, el cuestionario abreviado de salud SF-12® y el cuestionario de autoconcepto físico (CAF) en su versión española.

**Resultados.** Los análisis estadísticos mostraron un mayor índice de masa corporal en las estudiantes, en tanto que en los estudiantes se registraron valores más altos en el autoconcepto de la condición física y la competencia, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Además, se encontró que las mujeres registraban mayores puntuaciones en la actividad física moderada y vigorosa, y los hombres, en la caminata. Las puntuaciones fueron mayores en las dimensiones de la calidad de vida relacionada con la salud, excepto en la función social, lo cual difiere significativamente con las de la salud general, el rol emocional, la salud mental y la vitalidad ( $p < 0,05$ ).

**Conclusiones.** Se estableció una relación entre el índice de masa corporal y el autoconcepto de condición física y competencia percibida, y entre el índice de masa corporal y la salud general, la función física, la salud mental y la vitalidad. Asimismo, el sedentarismo se relacionó con la salud en general, el dolor corporal y el rol físico ( $p < 0,05$ ).

**Palabras clave:** ejercicio; autoimagen; calidad de vida; índice de masa corporal; género y salud.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3964>

### Levels of physical activity, health-related quality of life, physical self-concept and body-mass index among Colombian students

**Introduction:** Physical activity, health-related quality of life, self-concept and body-mass index are indicators of a healthy lifestyle.

**Objective:** To determine the levels of physical activity and sedentary lifestyle, the health-related quality of life, the physical self-concept and the body-mass index in Colombian middle and high-school students.

**Materials and methods:** We included 1,253 students between 10 and 20 years of age (601 men and 652 women) in the study. We used the following instruments for the measurements: A weighing machine, a stadiometer, the International Physical Activity Questionnaire, the 12-Item Short Form Health Survey (SF-12®), and the Physical Self-concept Questionnaire in its Spanish version.

**Results:** The statistical analysis showed higher levels in the body-mass index among female students and higher scores for the physical condition, self-concept and competence among male students, with meaningful statistical differences ( $p < 0,05$ ). Additionally, women had higher scores in moderate and vigorous physical activity, while men had higher scores in walking. Men got higher scores in the dimension of health-related quality of life, except in the social function, which differed significantly from the general health, emotional role, mental health, and vitality dimensions.

#### Contribución de los autores:

Constanza Palomino-Devia y Felipe Augusto Reyes: trabajo de campo

Los tres autores participaron en la concepción, diseño, revisión, búsqueda bibliográfica, tabulación, análisis e interpretación de los datos y en la escritura del manuscrito.

**Conclusions:** We found a relation between the body-mass index and the physical condition and competence self-concept, as well as between body-mass index and general health, physical function, mental health and vitality. We also found a relation between a sedentary lifestyle and general health, body pain, and physical role.

**Key words:** Exercise; self-concept; quality of life; body mass index; gender and health.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3964>

La humanidad se encuentra en una permanente disyuntiva debido a la búsqueda incansable de respuestas justificadas a diferentes manifestaciones culturales que, de alguna forma, determinan las pautas del comportamiento social. En ese sentido, la actividad física en sus diferentes manifestaciones ha formado parte del acervo cultural del ser humano a lo largo de la historia, pues es indudable la influencia que ejerce en el comportamiento social y la consideración que una comunidad le da a su práctica como parte de su estilo de vida (1).

Se ha establecido que la educación física constituye una herramienta para fomentar o promover la actividad física. Pero, ¿cuánto hay de cierto y cuánto de tópico en esta relación? ¿Se trata de una relación inequívoca? ¿Se sustenta en evidencias científicas, o son argumentos asumidos gratuitamente? En diversos artículos científicos de los últimos años se evidencia una tendencia que refleja la preocupación por analizar algunas de estas relaciones. Pese a los esfuerzos de las instituciones en la promoción de la práctica de la actividad física como parte de una conducta saludable para evitar fenómenos como la obesidad y el sobrepeso, lo cierto es que en los estudios epidemiológicos recientes no se vislumbra un panorama esperanzador debido a los siguientes factores: a) en la infancia y en la adolescencia, en general, se presentan bajos niveles de práctica de actividad física; b) el nivel de cumplimiento de las recomendaciones internacionales para la práctica de actividad física es deficiente; c) hay importantes diferencias en los niveles de la práctica de actividad física y el cumplimiento de las recomendaciones según el género y la clase socioeconómica; d) el aumento de tales niveles es insuficiente en los diferentes grupos de edad, y cada vez se presenta a edades más tempranas, y e) las diferencias en cuanto a la cantidad de actividad física que se hace

en los días laborables y los fines de semana. Debe señalarse, además, que dicha práctica representa una importante oportunidad de diversión, así como para establecer relaciones sociales e incentivar la participación de la comunidad (1).

El enfoque más adecuado es reconocer que la actividad física puede traer beneficios cuando se aumenta el nivel habitual de su práctica de moderado a vigoroso (1). La práctica de actividad física es un elemento muy importante en la promoción de la salud durante la infancia, sin embargo, hay pocos estudios que profundicen en las características de la actividad física que desarrollan los niños a lo largo del día (2). Además, la práctica de la actividad física es determinante en la adolescencia, dado que el estilo de vida se condiciona en gran medida durante esta etapa, en la cual es fundamental promover estilos de vida saludables tales como el aumento y la mejora de la actividad y la condición físicas (3).

Hoy se acepta el papel central de la actividad física en la prevención de muchas enfermedades y en el logro de beneficios físicos, psicológicos y sociales, por lo que se trata de un elemento clave del estilo de vida saludable. Como es bien sabido, la infancia es un periodo en el que se realiza abundante ejercicio físico, lo cual constituye una tendencia biológica natural. Los juegos durante esta etapa implican más movimiento y actividad, mientras que durante la adolescencia las opciones recreativas se tornan cada vez más sedentarias. A la preocupación por la inactividad física durante la adolescencia se suma el vertiginoso aumento en el uso de las nuevas tecnologías (computadores, televisión, video juegos), las cuales podrían limitar el tiempo que los jóvenes dedican a otro tipo de actividades como el ejercicio físico (4).

La salud de un individuo depende de su conducta. El estilo de vida parece ser el aspecto dominante para la consecución de los objetivos de salud a largo plazo, pues es una combinación de comportamientos, acciones, hábitos y costumbres que se basa en la relación entre las condiciones de vida y los patrones de comportamiento individual determinados por los factores sociales y culturales,

Correspondencia:

Felipe Augusto Reyes-Oyola, Facultad de Ciencias de la Educación, Universidad del Tolima, Santa Helena Parte Alta, Ibagué, Colombia

Teléfono: (578) 2771212

fareyeso@ut.edu.co

Recibido: 05/07/17; aceptado: 11/09/17

así como por las características individuales. En resumen, el estilo de vida es el resultado de posibilidades, condiciones y opciones (5).

En un informe basado en los datos de la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia (ENSIN) del 2010, se encontró que uno de cada dos colombianos presentaba exceso de peso, cifra que ha aumentado en los últimos cinco años, pasando de 45,9 % en el 2005 a 51,2 % en el 2010. También se evidenció que el peso corporal era mayor en las mujeres que en los hombres y una mayor prevalencia de sobrepeso en las zonas urbanas (6). Estos datos reflejan una tendencia preocupante para la salud pública.

El índice de masa corporal (IMC), utilizado para definir la obesidad en la población infantil, determina el estado nutricional, en tanto que el total de la grasa corporal determina la composición corporal. Las instituciones de salud pública y de educación han expresado sus inquietudes en torno a considerar la obesidad como un problema de salud pública. En este sentido, debe señalarse que un diagnóstico adecuado del sobrepeso y la obesidad exige contar con indicadores antropométricos relacionados con la obesidad (7). El IMC es uno de los criterios más utilizados por los investigadores para definir el sobrepeso y la obesidad en la población adulta, y en la actualidad se recomienda también en la población pediátrica, por lo que usualmente se emplea como uno de los indicadores para valorar el estado nutricional, el cual se correlaciona con la masa corporal y el riesgo de complicaciones cardiovasculares asociadas a la obesidad (7).

En este marco, uno de los aspectos que más llaman la atención es la obesidad en los niños, pues tiene consecuencias notables en los años posteriores a la etapa de desarrollo. La magnitud del problema ha aumentado dramáticamente, por lo que se hace necesario establecer intervenciones en y con la población (8).

Los bajos niveles de actividad física se relacionan estrechamente con los altos niveles de obesidad y de sobrepeso en niños y adolescentes. Para determinarlos se ha diseñado el cuestionario internacional de actividad física (*International Physical Activity Questionnaire*, IPAQ), el cual se basa en el reporte de los propios individuos sobre la actividad física que realizan y evalúa los niveles de la práctica de actividad física en los diversos países. Dicho cuestionario tiene una versión corta y una larga (9).

Por otra parte, es factible que un adolescente con obesidad tenga un bajo concepto de sí mismo debido al rechazo social al que se enfrenta (10). Los niños, niñas y adolescentes con sobrepeso u obesidad tienen un bajo autoconcepto, ya sea porque su autoestima se ve afectada o por las relaciones personales que establecen con su grupo social, sobre todo en las mujeres. Dadas las acciones y actitudes personales que se desprenden de esta situación (10), son numerosas las variables que pueden repercutir en el bienestar infantil y adolescente. Desde una perspectiva psicosocial, en estas edades los juicios sobre la capacidad, el valor personal y otros similares son determinantes para un buen ajuste psicológico, así como para una adecuada relación con el entorno (11).

En este contexto, el objetivo del presente estudio fue determinar el nivel de actividad física y de sedentarismo, la calidad de vida relacionada con la salud y el autoconcepto físico y el índice de masa corporal en escolares colombianos de educación secundaria y media.

### **Materiales y métodos**

Se hizo un estudio de tipo descriptivo y 'correlacional', con un muestreo aleatorio estratificado (error muestral de 0,03 % e intervalo de confianza de 95 %) en escolares de educación secundaria y media de la ciudad de Ibagué. Participaron de forma voluntaria 1.253 estudiantes sin problemas físicos, inscritos en los cursos sexto a once de instituciones educativas oficiales; sus edades estaban entre los 10 y los 20 años, con una media de 14,62 años (desviación estándar-DE=2,01); 48 % correspondía a hombres (n=601) y 52 % a mujeres (n=652).

Los datos sociodemográficos (edad y sexo) y los antropométricos (peso y talla) se recolectaron en una hoja de registro diseñada para tal fin. Para la masa corporal se utilizó la báscula FitsCan Body Monitor (BF-679F de Tanita®), y la estatura se tomó mediante un tallímetro (en mm), siguiendo los protocolos internacionales para la valoración antropométrica de la Sociedad Internacional para el Avance de la Cineantropometría (*International Society for the Advancement of Kinanthropometry*, ISAK). El índice de masa corporal se obtuvo mediante la ecuación masa (kg)/talla (m<sup>2</sup>). Los niveles de actividad física y sedentarismo se valoraron utilizando el cuestionario internacional de actividad física (IPAQ), el cual estima la actividad física realizada preguntando el número de días, horas y minutos empleados en la actividad física

durante una semana, y clasificándola en vigorosa, moderada y caminata; en cuanto al sedentarismo, este se estimó con la última pregunta del cuestionario relacionada con el número de horas que una persona puede pasar sentada durante un día (12).

Para evaluar la calidad de vida relacionada con la salud, se empleó el cuestionario SF-12 en su versión en español. Este cuestionario está compuesto por 12 ítems divididos en ocho dimensiones, de las cuales cuatro corresponden al componente físico y las otras cuatro al componente mental. Las puntuaciones van de 0 a 100, siendo 0 signo de muy mala calidad de vida y 100, de muy buena (12). Por último, se utilizó el cuestionario de autoconcepto físico en su versión en español. Este instrumento está compuesto por 30 ítems distribuidos en cinco factores: competencia percibida, imagen corporal o apariencia, condición física, fuerza física y autoestima, y puede emplearse en distintos contextos y edades. Los ítems van precedidos de la frase "Cuando realizo actividad física y/o deporte...". Las respuestas se expresan en una escala de tipo Likert de 1 a 4 puntos, en la que 1 corresponde a "totalmente en desacuerdo" y 4 a "totalmente de acuerdo" (13).

Los datos se analizaron con el paquete estadístico IMB-SPSS, versión 23; se efectuaron los cálculos de estadísticos descriptivos que informaron sobre

la media y la desviación estándar del IMC, el autoconcepto, los niveles de actividad física, el sedentarismo y la calidad de vida relacionada con la salud, según el caso, diferenciados por sexo. La comparación entre grupos se hizo mediante la prueba *t* de Student, con una significación estadística de  $p < 0,05$ ; las variables cuantitativas se sometieron a pruebas estadísticas con el fin de determinar su normalidad y homocedasticidad para los diferentes grupos comparados. Además, se determinó la relación entre el autoconcepto físico y el IMC y entre la calidad de vida relacionada con la salud y los niveles de actividad física y el sedentarismo mediante el coeficiente de correlación de Pearson (*r*).

### Consideraciones éticas

Se solicitó el consentimiento informado y firmado por los tutores legales de los estudiantes participantes, dando cumplimiento a los requisitos vigentes de la Declaración de Helsinki. Se contó con la aprobación del Comité Ético de la Universidad Pablo de Olavide de Sevilla.

### Resultados

En los cuadros 1, 2 y 3 se presentan los valores promedio y las diferencias según sexo para las medidas del IMC, el autoconcepto físico, los niveles de actividad física, el sedentarismo y la calidad de

**Cuadro 1.** Autoconcepto físico e índice de masa corporal, comparaciones por sexo

	Todos (n=1253)	Hombres (n=601)	Mujeres (n=652)	p
	$\bar{X} \pm DE$	$\bar{X} \pm DE$	$\bar{X} \pm DE$	
IMC	19,99±3,31	19,39±3,1	20,54±3,4	0,000
Condición Física	2,76±0,57	2,85±0,56	2,67±0,57	0,000
Apariencia	2,69±0,48	2,67±0,46	2,71±0,49	0,114
Competencia percibida	2,65±0,61	2,77±0,60	2,55±0,61	0,000
Fuerza	2,52±0,47	2,53±0,48	2,51±0,45	0,281
Autoestima	2,69±0,62	2,67±0,65	2,71±0,59	0,241

IMC: índice de masa corporal;  $\bar{X} \pm DE$ : media  $\pm$  desviación estándar

**Cuadro 2.** Niveles de actividad física y sedentarismo, comparaciones por sexo

	Todos (n=1253)	Hombres (n=601)	Mujeres (n=652)	p
	$\bar{X} \pm DE$	$\bar{X} \pm DE$	$\bar{X} \pm DE$	
AFV (min/día)	68,9± 66,1	65,9± 65,3	71,7± 66,8	0,124
AFM (min/día)	57,6± 64,2	54 ± 52,7	61 ± 65,5	0,054
Caminar (min/día)	43,4± 50,1	45,7± 54,7	41,2± 45,3	0,108
AFV+AFM+Caminar (min/día)	169,9± 138,9	165,7±141,6	173,8±136,4	0,299
AFM+Caminar (min/día)	101 ± 92,6	99,8± 95	102,2± 89,4	0,647
Sentado (min/día)	239,6± 227	225 ±229,5	253 ±224	0,029

$\bar{X} \pm DE$ : media  $\pm$  desviación estándar

AFV: actividad física vigorosa (minutos/día); AFM: actividad física moderada (minutos por día)

**Cuadro 3.** Calidad de vida relacionada con la salud, comparaciones por sexo

	Todos (n=1253)	Hombres (n=601)	Mujeres (n=652)	P
	$\bar{X} \pm DE$	$\bar{X} \pm DE$	$\bar{X} \pm DE$	
Salud general	64,9±22,7	68,1±22,1	62 ±22,8	0,000
Función física	78,1±29	79,2±29,9	77,1±28,2	0,199
Rol físico	76,4±33,7	78,2±32	74,8±35,1	0,070
Rol emocional	73,7±37,7	77 ±36,2	70,6±38,8	0,003
Dolor corporal	77,5±24	78,9±23,4	76,3±24,4	0,054
Salud mental	71,8±19,7	74,6±19,3	69,2±19,7	0,000
Vitalidad	72,3±24,2	76,5±22,4	68,5±25,2	0,000
Función social	24 ±26,5	22,7±26,9	25,1±26,1	0,111

$\bar{X} \pm DE$ : media  $\pm$  desviación estándar

vida relacionada con la salud en la muestra objeto de estudio. Asimismo, para las comparaciones entre grupos de sexo se consideró el contraste de Leneve ( $F$ ) sobre la homogeneidad o igualdad de varianzas y la prueba estadística  $t$  de Student.

En el cuadro 1 se registraron valores más altos en el IMC (20,54 kg/m<sup>2</sup> frente a 19,39 kg/m<sup>2</sup>), la apariencia (2,71 frente a 2,67) y la autoestima (2,71 frente a 2,67) de las mujeres, mientras que los hombres presentaron cifras más elevadas en el autoconcepto de la condición física (2,85 frente a 2,67), la competencia percibida (2,77 frente a 2,55) y la fuerza (2,53 frente a 2,51). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en cuanto al IMC y a las dimensiones del autoconcepto de condición física y competencia percibida ( $p < 0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas en cuanto al autoconcepto de apariencia, fuerza y autoestima entre grupos de sexo ( $p > 0,05$ ).

En cuanto a los niveles de actividad física y sedentarismo (cuadro 2), las mujeres registraron valores más elevados en la actividad física vigorosa (71,7 minutos/día frente a 65,9 minutos/día), de actividad física moderada (61 minutos/día frente a 54 minutos/día), de actividad física vigorosa más actividad física moderada más caminata (173,8 minutos/día frente a 165,7 minutos/día), de actividad física moderada más caminata (102,2 minutos/día frente a 99,8 minutos/día) y de sedentarismo (253 minutos/día frente a 225 minutos/día), mientras que los hombres solo tuvieron cifras más elevadas en la caminata (45,7 minutos/día frente a 43,4 minutos/día). Se hallaron diferencias estadísticamente significativas únicamente entre grupos de sexo en la variable de sedentarismo ( $p < 0,05$ ).

En el cuadro 3 se presentan las puntuaciones medias obtenidas en la calidad de vida relacionada con la salud, en la cual los hombres presentaron

valores mayores en lo referente a la salud general (68,1 frente a 62), la función física (79,2 frente a 77,1), el rol físico (78,2 frente a 74,8), el rol emocional (77 frente a 70,6), el dolor corporal (78,9 frente a 76,3), la salud mental (74,6 frente a 69,2) y la vitalidad (76,5 frente a 68,5), en tanto que las mujeres registraron mayores valores en la función social (25,1 frente a 22,7). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en la salud general, el rol emocional, la salud mental y la vitalidad ( $p < 0,05$ ). No se encontraron diferencias significativas entre grupos de sexo con respecto a la función física, el rol físico, el dolor corporal y la función social ( $p > 0,05$ ).

Al relacionar las dimensiones del autoconcepto con el IMC por grupos de sexo (cuadro 4), se evidenció que tanto en las mujeres como en los hombres se correlacionaron negativamente con la dimensión de competencia percibida ( $r = -0,10$ ;  $p = 0,01$  y  $r = -0,097$ ;  $p = 0,017$ , respectivamente), y en los hombres se correlacionaron negativamente la dimensión de condición física y el autoconcepto ( $r = -0,124$ ;  $p = 0,002$ ).

En el cuadro 5 se observan las correlaciones existentes entre la calidad de vida relacionada con la salud, los niveles de actividad física, el sedentarismo y el IMC. Solo se encontraron correlaciones entre la dimensión de función social y el tiempo total de actividad física por semana (minutos/semana) y la actividad física total por semana (*metabolic equivalent of task*-MET/minutos/semana) ( $p < 0,05$ ). Además, las dimensiones de salud general, rol físico y dolor corporal se correlacionaron positivamente con el sedentarismo ( $p < 0,05$ ). En cuanto a la variable del IMC, se evidenciaron correlaciones negativas con las dimensiones de salud general ( $r = -0,198$ ;  $p = 0,000$ ), función física ( $r = -0,062$ ;  $p = 0,029$ ), salud mental ( $r = -0,128$ ;  $p = 0,000$ ) y vitalidad ( $r = -0,148$ ;  $p = 0,000$ ).

**Cuadro 4.** Correlaciones entre las dimensiones del autoconcepto físico y el índice de masa corporal

	Todos n=1253		Mujeres n=652		Hombres n=601	
	r	p	r	p	r	p
Condición física	-0,121**	0,000	-0,074	0,60	-0,124**	0,002
Imagen corporal	-0,46	0,107	-0,059	0,133	-0,048	0,237
Competencia percibida	-0,127**	0,000	-0,10*	0,01	-0,097*	0,017
Fuerza	0,022	0,440	0,010	0,801	0,048	0,240
Autoestima	0,042	0,139	0,400	0,307	0,033	0,418

\* Correlación significativa =  $p < 0,05$ ; \*\*Correlación significativa =  $p < 0,01$

**Cuadro 5.** Correlaciones entre la calidad de vida relacionada con la salud, el índice de masa corporal, los niveles de actividad física y el sedentarismo

CVRS	IMC	Niveles de actividad física y sedentarismo (IPAQ)			
		Tiempo total de actividad física/semana (minutos/semana)	Actividad física total/semana (MET/minutos/semana)	Total de minutos de caminata	Tiempo total/sentado/semana (minutos/semana)
Salud general	-0,198**	0,009	0,013	0,042	0,059*
Función física	-0,062*	-0,021	0,004	0,028	0,018
Rol físico	-0,053	0,055	0,037	0,028	0,067*
Rol emocional	-0,035	0,017	0,007	0,023	0,004
Dolor corporal	-0,027	0,028	0,038	0,035	0,057*
Salud mental	-0,128**	0,015	0,007	-0,020	-0,011
Vitalidad	-0,148**	0,022	0,026	0,044	0,025
Función social	0,045	0,057*	0,067*	-0,040	-0,038

CVRS: calidad de vida relacionada con la salud; IMC: índice de masa corporal; MET: *Metabolic equivalent of task*

\*\*Correlación significativa = 0,01; \* Correlación significativa = 0,05

## Discusión

Los resultados permitieron valorar los niveles de actividad física y sedentarismo, calidad de vida relacionada con la salud, autoconcepto físico e IMC en una muestra de escolares colombianos de educación secundaria y media, así como analizar la existencia de diferencias entre grupos de sexo y la posible relación entre algunas variables. Se encontró que las mujeres presentaron mayores niveles de IMC que los hombres con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Estos valores coinciden con los registrados en un estudio en un grupo de estudiantes brasileños, en el cual el IMC de las mujeres fue mayor que el de los hombres, con diferencias notorias ( $p < 0,05$ ) (10); cifras similares se reportan en estudios en varones brasileños (14), estudiantes costarricenses de secundaria (15) y adolescentes portugueses (16), aunque las diferencias no fueron significativas ( $p > 0,05$ ). Por otra parte, en un conjunto de alumnos españoles se registró un mayor IMC en los hombres que en las mujeres (17), aunque la muestra fue mucho más pequeña que la del estudio en escolares de Ibagué e inferior a la de los estudios mencionados; además, no se hallaron diferencias significativas

( $p > 0,05$ ). En cuanto al autoconcepto, las escolares colombianas registraron mayores niveles en las dimensiones de apariencia y autoestima, mientras que los escolares, en las dimensiones de competencia percibida, fuerza y condición física, en tanto que las diferencias fueron estadísticamente significativas en las dimensiones de condición física y competencia percibida ( $p < 0,05$ ). Por el contrario, en un estudio en adolescentes mexicanos con edades entre los 11 y los 16 años, las mujeres registraron promedios más altos en la mayoría de las dimensiones del autoconcepto, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p > 0,05$ ) (10). En otro estudio en escolares andaluces, los varones presentaron niveles más elevados de imagen corporal que las alumnas (18). Es importante aclarar que para valorar el autoconcepto en dicho estudio se empleó como instrumento la Escala de autoconcepto, forma 5 (AF5), elaborada por García, *et al.* (19). En comparación con los del presente estudio, un grupo de chicos españoles ( $n = 752$ ), que incluía tanto a quienes practicaban actividad física como a quienes no lo hacían, registraron mayores valores en las dimensiones de autoconcepto de habilidad física, condición

física y fuerza comparados con las chicas (n=836) (20). Debe mencionarse que el instrumento de evaluación del autoconcepto fue el cuestionario de autoconcepto físico (CAF) (21). Asimismo, los escolares varones de la región de Murcia con edades entre los 8 y los 11 años presentaron un mayor nivel de autoconcepto físico que las escolares (22). Cabe aclarar que en este último estudio se incluyeron participantes de menor edad que la de los participantes en el estudio en Colombia (8 y 9 años), además, se empleó un instrumento diferente para determinar los niveles de autoconcepto (23). En otro estudio similar en 1.086 estudiantes españoles, se registraron resultados superiores en las mujeres comparadas con los hombres en cuanto a las dimensiones del autoconcepto de apariencia y autoestima, pero en los hombres las cifras fueron más altas en la dimensión de competencia percibida (24). Contrariamente al estudio en escolares colombianos, las mujeres españolas presentaron mayores valores en la dimensión de fuerza (3,82 frente a 3,40). Los resultados obtenidos en los niveles de actividad física y sedentarismo en la muestra de estudiantes colombianos concuerdan con los de un estudio en adolescentes portugueses en cuanto a niveles de sedentarismo, con valores más altos en las mujeres que en los hombres, aunque sin diferencias significativas ( $p>0,05$ ). A diferencia del estudio realizado en Colombia, los hombres registraron mayores niveles de actividad física vigorosa, con diferencias significativas ( $p<0,05$ ) (16), aunque es necesario puntualizar que en el estudio en los jóvenes portugueses se usaron otros instrumentos como el *Bouchard Three-Day Physical Activity Record* y el *New Lifestyles NL-1000* (25). Así como en el estudio en escolares colombianos, en un grupo de jóvenes franceses se reportó un mayor tiempo de actividad física moderada y vigorosa en el IPAQ (8), y en varones españoles, mayores niveles de actividad física que en las mujeres (18). En cuanto a la calidad de vida relacionada con la salud, los escolares colombianos evidenciaron mayores niveles que las mujeres en todas las dimensiones, excepto en la función social, con diferencias significativas en la salud general, el rol emocional, la salud mental y la vitalidad ( $p<0,05$ ). En un grupo de alumnos españoles, los varones presentaron mayores puntuaciones en casi todas las dimensiones de la calidad de vida relacionada con la salud que las mujeres, con diferencias significativas (17). En este estudio, los autores evaluaron la calidad de vida relacionada con la salud usando el cuestionario Kindl, compuesto de seis

dimensiones: bienestar físico, bienestar emocional, autoestima, familia, amigos y colegio. Asimismo, en estudiantes varones costarricenses los valores fueron significativamente mayores en los dominios de bienestar corporal y autovaloración que en las mujeres ( $p<0,05$ ) (15), medidos mediante el cuestionario KiddoKindl en su versión española (26). En el estudio en alumnos colombianos de educación secundaria y media se encontraron correlaciones negativas entre el IMC y las dimensiones del autoconcepto de condición física y competencia percibida ( $p<0,05$ ), así como entre el IMC de los hombres y la competencia percibida y la condición física ( $p<0,05$ ), y entre el IMC de las mujeres y la competencia percibida ( $p<0,05$ ). Estos resultados coinciden con un estudio realizado en una muestra de 849 adolescentes mexicanos, en el cual el IMC se correlacionó negativamente con el autoconcepto físico y el autoconcepto general ( $p<0,05$ ); en dicho estudio tanto el IMC de los hombres como el de las mujeres se correlacionó de forma negativa con el autoconcepto físico ( $p<0,05$ ) (10). En conclusión, los resultados reportados en este estudio evidenciaron mayores niveles de autoconcepto físico en las mujeres en las dimensiones de apariencia y autoestima, mientras que los hombres presentaron valores superiores en la fuerza, la competencia percibida y la condición física. Asimismo, las mujeres reportaron mayores valores en el IMC, pero, a la vez, cifras más altas de actividad física, excepto en la variable de caminata. En cuanto a la calidad de vida relacionada con la salud, los hombres tuvieron mejores resultados en la salud general, la función física, el rol físico, el rol emocional, el dolor corporal, la salud mental y la vitalidad. Por último, los resultados de este estudio reflejan una relación estrecha entre el IMC y el autoconcepto de condición física y competencia percibida, y entre este y la salud general, la función física, la salud mental y la vitalidad. Asimismo, se encontraron relaciones entre el sedentarismo y la salud general, el dolor corporal y el rol físico en la muestra de escolares analizada.

### Conflicto de intereses

Los autores manifiestan no tener ningún conflicto de intereses en ninguna de las fases de este estudio.

### Financiación

El estudio no requirió financiamiento.

### Referencias

1. **Abarca-Sos A, Murillo B, Julián JA, Zaragoza J, Generelo E.** La educación física: ¿una oportunidad para la promoción

- de la actividad física? Retos: Nuevas Perspectivas de Educación Física, Deporte y Recreación. 2015;28:155-9.
2. **Torres G, Beltrán J, Calahorra F, López I, Nikolaidis PT.** Análisis de la distribución de la práctica de actividad física en alumnos de educación infantil. Cuadernos de Psicología del Deporte. 2016;16:261-7.
  3. **Bosch EC.** Promoción de la salud en adolescentes mediante un programa de intervención de mejora de la condición física y del estilo de vida. Apunts: Educación Física y Deportes. 2012;110:89.
  4. **Ramos P, Jiménez A, Rivera F, Moreno C.** Evolución de la práctica de la actividad física en los adolescentes españoles. Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y del Deporte. 2016;16:335-53.
  5. **Sokolowski M, Kaiser A, Cepulenas A.** Physical activity of female students of the University School of Physical Education in Poznan on the basis of IPAQ-Educational and social perspectives. Education, Physical Training Sport. 2010;78:90-6.
  6. **Ministerio de la Protección Social.** Encuesta Nacional de Situación Nutricional en Colombia - 2010. Fecha de consulta: 5 de diciembre de 2016: Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/Base%20de%20datos%20ENSIN%20-%20Protocolo%20Ensin%202010.pdf>
  7. **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;31:27-33.
  8. **Vanhelst J, Fardy PS, Mikulovic J, Bui-Xuan G, Béghin L.** Concurrent validity of the modified international physical activity questionnaire for French obese adolescents. Percept Mot Skills. 2013;116:123-31. <https://doi.org/10.2466/03.06.PMS.116.1.123-131>
  9. **Meeus M, Van Eupe I, Willems J, Kos D, Nijs JO.** Is the International Physical Activity Questionnaire-Short Form (IPAQ-SF) valid for assessing physical activity in chronic fatigue syndrome? Disabil Rehabil. 2011;33:9-16. <https://doi.org/10.3109/09638288.2010.483307>
  10. **Meza C, Pompa-Guajardo EG.** Género, obesidad y autoconcepto en una muestra de adolescentes de México. RICYDE: Revista Internacional de Ciencias del Deporte. 2016;12:137-48.
  11. **Kyle TL, Mendo AH, Reigal RE, Sánchez VM.** Efectos de la actividad física en el autoconcepto y la autoeficacia en preadolescentes. Retos: Nuevas Perspectivas de Educación Física, Deporte y Recreación. 2016;29:61-5.
  12. **Gallego-Sánchez J.** Influencia del peso y el nivel de actividad física en la calidad de vida de estudiantes universitarios. Revista Iberoamericana de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte. 2015;4:1-8.
  13. **Moreno JA, Cervelló E.** Physical self-perception in Spanish adolescents: Effects of gender and involvement in physical activity. Journal of Human Movement Studies. 2005;48:291-311.
  14. **Belarmino M, De Oliveira P, Da Silva T, Oliverira F, Schwingel P.** Association between indicators of corporal adiposity and cardiovascular risk factors among Brazilian adolescents. Journal of Exercise Physiology Online. 2013;16:69-78.
  15. **Ureña P, Blanco L, Salas J.** Calidad de vida, indicadores antropométricos y satisfacción corporal en un grupo de jóvenes colegiales. Retos: Nuevas Perspectivas de Educación Física, Deporte y Recreación. 2015;27:62-8.
  16. **Santos F, Queiroz Ferreria T, Souza M, Chaves R, Vilhena D, Sampaio S, et al.** Physical activity, BMI and metabolic risk in Portuguese adolescents. Rev Bras Cineantropom Hum. 2015;18:103-14. <https://doi.org/10.5007/1980-0037.2016v18n1p103>
  17. **Muros J, Castillo A, López H, Zábala M.** Asociaciones entre el IMC, la realización de actividad física y la calidad de vida en adolescentes. Cultura, Ciencia y Deporte. 2009;12:159-65.
  18. **Moral JE.** Actividad física y composición corporal en escolares andaluces de entre 13-16 años. Análisis de la calidad de vida y motivos que inducen a la práctica de actividades físico-deportivas. Apunts. Educación Física y Deportes. 2012;3:98.
  19. **García F, Musitu G.** Autoconcepto forma 5: AF5 Manual. Cuarta edición. Madrid: Editorial TEA; 2014.
  20. **Reigal RE, Videra A, Martín I, Ruiz R.** Importancia del autoconcepto físico y la autoeficacia general en la predicción de la conducta de práctica física. Apunts. Educación Física y Deportes. 2013;112:46-51.
  21. **Goñi A, Ruiz S, Rodríguez A.** Cuestionario de autoconcepto físico (CAF): Manual. Madrid: EOS; 2006.
  22. **Guillamón A.** Niveles de condición física y su relación con el perfil de autoconcepto en escolares de 8 a 11 años de la región de Murcia. E-Balonmano.com: Revista de Ciencias del Deporte. 2015;11:228-9.
  23. **Piers E.** The Piers-Harris Children's Self Concept Scale (The way I feel about myself). Revised Manual. Los Ángeles: Western Psychological Services; 1984.
  24. **Moreno JA, Cervelló E, Vera JA, Ruiz LM.** Physical self-concept of Spanish schoolchildren: Differences by gender, sport practicing levels of sport involvement. Journal of Education and Human Development. 2007;1:1-17.
  25. **Bouchard C, Tremblay A, Leblanc C, Lortie G, Savard R, Theriault G.** A method to assess energy expenditure in children and adults. Am J Clin Nutr. 1983;37:461-7.
  26. **Rajmil L, Serra-Sutton V, Fernández JA, Berra S, Aymerich M, Cieza A, et al.** Versión española del cuestionario alemán de calidad de vida relacionada con la salud en población infantil y de adolescentes: el Kindl. An Pediatr. 2004;60:414-521. [https://doi.org/10.1016/S1695-4033\(04\)78320-4](https://doi.org/10.1016/S1695-4033(04)78320-4)

ARTÍCULO ORIGINAL

## IgY antialérgenos específicos del grupo 1 de ácaros del polvo doméstico inducidos por oligopéptidos sintéticos no glicosilados

Eduardo Egea<sup>1</sup>, Dary Mendoza<sup>2</sup>, Gloria Garavito<sup>1</sup>, Ángela Espejo<sup>3</sup>, Lina María Lizaraso<sup>3</sup>, Elkin Navarro<sup>1</sup>, Luis Alejandro Barrera<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Inmunología y Biología Molecular, División Ciencias de la Salud, Universidad del Norte, Barranquilla, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Bioquímica de Macromoléculas, Programa de Química, Universidad del Atlántico, Barranquilla, Colombia

<sup>3</sup> Instituto de Errores Innatos del Metabolismo, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá D.C., Colombia

**Introducción.** La obtención de anticuerpos específicos capaces de detectar alérgenos del grupo 1 de ácaros del polvo doméstico representa una estrategia potencial de salud pública para reducir la exposición y la sintomatología clínica asociada con el asma y la rinitis alérgica.

**Objetivo.** Producir y purificar anticuerpos aviares antialérgenos específicos del grupo 1 de los ácaros *Dermatophagoides sp.* y *Blomia tropicalis* utilizando la tecnología IgY.

**Materiales y métodos.** Se diseñaron y sintetizaron oligopéptidos que evidenciaran epítopes inmunogénicos de los alérgenos Der p1, Der f1 y Blo t1 empleados posteriormente para producir anticuerpos IgY policlonales en gallinas Hy Line Brown. Las IgY presentes en las yemas de los huevos se purificaron mediante cromatografía tiofílica. Su inmunorreactividad y especificidad se determinaron mediante un inmunoensayo ELISA indirecto y *Dot Blot*.

**Resultados.** Se obtuvo una reactividad elevada de las IgY contra epítopes de alérgenos presentes en extractos de cuerpo entero de *D. farinae*, *D. pteronyssinus* y *B. tropicalis*. Los niveles más altos de IgY se produjeron entre los días 32 y 40 de inmunización. Los anticuerpos mostraron mayor inmunorreactividad y especificidad en el reconocimiento de proteínas de *D. farinae*, con un límite de detección mayor de 0,03 µg de proteína total del ácaro bajo las condiciones experimentales analizadas. Las IgY purificadas no mostraron reactividad significativa frente al extracto de *Periplaneta americana*.

**Conclusión.** La tecnología IgY permitió la producción de anticuerpos específicos contra alérgenos del grupo 1 de los ácaros del polvo al utilizar oligopéptidos sintéticos no glicosilados. Hasta donde se sabe, esta es la primera vez que se usan estos reactivos inmunológicos para la detección de ácaros de importancia médica.

**Palabras clave:** alérgenos; anticuerpos, ácaros, oligopéptidos, yema de huevo; *Pyroglyphidae*.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3689>

### Specific IgY anti-group 1 dust mite allergens induced by unglycosylated synthetic oligopeptides

**Introduction:** The use of specific antibodies capable of detecting allergens of the group 1 of house dust mites represents a potential strategy to reduce exposure and clinical symptomatology associated with asthma and allergic rhinitis.

**Objective:** To produce and purify chicken antibodies specific for the dust mites *Dermatophagoides sp.* and *B. tropicalis* using the IgY technology.

**Materials and methods:** We designed and synthesized oligopeptides showing immunogenic epitopes of Der p1, Der f1, and Blo t1. These were used to produce IgY antibodies in Hy Line Brown chickens. IgY were extracted from egg yolk using thiophilic chromatography. The immunogenicity and specificity were assayed by indirect ELISA and Dot Blot.

**Results:** We obtained high reactivity of IgY antibodies against epitopes of allergens present in whole body mites extracts of *D. farinae*, *D. pteronyssinus*, and *B. tropicalis*. The highest IgY levels were registered between days 32 and 40 after immunization. The antibodies showed high immunoreactivity and specificity towards *D. farinae* proteins with detection limits above 0.03 µg of mite proteins under the experimental conditions used. Purified IgY did not show significant reactivity when binding to *Periplaneta americana* extract.

#### Contribución de los autores:

Dary Luz Mendoza, Ángela Espejo, Lina María Lizaraso y Elkin Navarro: adquisición de datos y redacción del manuscrito

Gloria Garavito: revisión crítica de contenido

Eduardo Egea y Luis Alejandro Barrera: redacción del manuscrito

Todos los autores participaron en el análisis e interpretación de los datos.

**Conclusion:** The IgY technology allowed the production of specific antibodies against house dust mites group 1 allergens using non-glycosylated synthetic peptides. To our knowledge, this is the first time that this immunochemicals are used in the detection of mites of medical relevance.

**Key words:** Allergens; antibodies; mites; oligopeptides; egg yolk; *Pyroglyphidae*.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3689>

Los anticuerpos son sensores moleculares importantes en la investigación biomédica. Se han usado ampliamente como herramientas diagnósticas y en la terapéutica de diversas enfermedades (1,2). En inmunología y alergología estas moléculas tienen aplicación como reactivos en la detección de proteínas involucradas en la fisiopatología de enfermedades alérgicas (3,4).

La producción de anticuerpos monoclonales y policlonales frecuentemente se hace empleando una gran variedad de mamíferos (5,6). Sin embargo, se ha visto que la inmunogenicidad obtenida en ratones, conejos y hámsters contra algunos antígenos es baja (7). Otros animales, como cabras, ovejas y caballos, a pesar de que permiten la obtención de mayores niveles de título y volumen de anticuerpos, son difíciles de manipular por su tamaño y su mantenimiento es costoso en condiciones de bioterio (8,9). Además, la producción de anticuerpos en mamíferos involucra una serie de procedimientos, como la toma de las muestras de sangre para el seguimiento de la titulación de los anticuerpos, que pueden ocasionar estrés, dolor y sufrimiento al animal, provocando cambios fisiológicos que añadirían otras variables a los resultados experimentales (7,10). Hoy existe un gran interés por la búsqueda e implementación de procedimientos alternativos experimentales (*in vivo*) para la producción de anticuerpos que impliquen un menor sufrimiento del animal. En este sentido, el uso de aves para la inmunización representa un refinamiento del proceso de producción de anticuerpos, ya que estas transfieren los anticuerpos del suero sanguíneo a la yema de huevo de donde se pueden extraer, metodología que se conoce como tecnología IgY (11-15).

En alergología experimental la tecnología IgY se ha utilizado en la producción de anticuerpos contra alérgenos de alimentos como el maní (*Arachis hypogaea* L.) (16). En el 2004 se describió el

Correspondencia:

Eduardo Egea, Grupo de Investigación en Inmunología y Biología Molecular, División Ciencias de la Salud, Universidad del Norte, Km 5 vía a Puerto Colombia, Barranquilla, Colombia  
Teléfono: (5) 3509486; fax: (5) 3577220  
[eegea@uninorte.edu.co](mailto:eegea@uninorte.edu.co)

Recibido: 05/12/16; aceptado: 21/09/17

desarrollo de un anticuerpo IgY policlonal contra proteínas de avellana tostada, el cual se empleó en la detección de alérgenos de este fruto mediante un ensayo de ELISA competitivo indirecto, con un límite de detección de 10 µg/ml y una IC<sub>50</sub> de 618 µg/l (17). En otro estudio se reportó el uso de la tecnología IgY para la detección simultánea de múltiples alérgenos de alimentos, tales como las proteínas de avellana, la nuez de Brasil y el maní, con límites de detección entre 0,1 y 1 µg/g, lo cual demostró la viabilidad de estos anticuerpos en el diseño de pruebas inmunoquímicas para la detección de alérgenos (18).

También se ha descrito la producción de bibliotecas de fragmentos variables de anticuerpos de cadena sencilla (scFv) mediante la tecnología de producción en fagos a partir de una sola ave inmunizada, con lo que se obtuvieron inmunoglobulinas aviares contra el alérgeno recombinante de la saliva y el epitelio del gato (Fel d1), el alérgeno nativo del polen de la ambrosía (Amb a1) (19) y varios alérgenos nuevos de dos especies de cucaracha, *Blattella germanica* y *Periplaneta americana* (20).

*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* y *Blomia tropicalis* son ácaros domiciliarios predominantes en regiones tropicales. Sus proteínas principales son una fuente de alérgenos aéreos sensibilizadores y participan en los mecanismos fisiopatológicos de la cascada inflamatoria de enfermedades alérgicas como el asma bronquial atópica y la rinitis alérgica (21). Entre los alérgenos principales están los del grupo 1 de la familia de las cisteína proteasa, que son los más dominantes en la expresión de la hipersensibilidad mediada por IgE contra ácaros del polvo doméstico (22), de aquí la importancia de obtener anticuerpos específicos para su detección y diagnóstico. En el 2014, Lee, *et al.*, publicaron su estudio sobre la producción de anticuerpos IgY específicos contra proteínas de los ácaros *D. pteronyssinus* y *D. farinae*; sin embargo, en dicho estudio las IgYs obtenidas mostraron inmunorreactividad contra un amplio rango de proteínas en el *Western blot*, lo cual limitó su especificidad (23).

El propósito del presente estudio fue producir anticuerpos policlonales IgY específicos contra epítopes

de alérgenos de los ácaros del polvo doméstico utilizando como inmunógenos oligopéptidos sintéticos no glicosilados diseñados por simulación computacional a partir de las proteínas naturales de los alérgenos del grupo 1 de los ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae* y *B. tropicalis* (Der p 1, Der f 1 y Blo t 1, respectivamente).

## Materiales y métodos

### Diseño de epítopes y síntesis de péptidos

Los oligopéptidos se diseñaron a partir de las secuencias de aminoácidos de los alérgenos Der p 1, Der f 1 y Blo t 1 reportadas en las bases de datos de proteínas del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). Con el objeto de hallar secuencias específicas y homólogas, se emplearon secuencias no conservadas y conservadas de los alérgenos de este grupo, analizando la homología con los programas Blast (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) y Clustalw (<http://www.ch.embnet.org/software/ClustalW.html>). La hidrofobia de estos péptidos se evaluó con el programa ProtScale de ExPasy Molecular Biology (<http://web.expasy.org/protscale/>). Para el mapeo de los oligopéptidos diseñados en la estructura en 3D de Der p 1 se utilizó el programa Epítape Viewer (<http://tools.immuneepitope.org/>). Para la selección de los seis oligopéptidos definitivos se tuvo en cuenta que no fueran glicosilados, con el propósito de obviar la posible reactividad inespecífica o cruzada con otros epítopes de alérgenos.

Los oligopéptidos se sintetizaron en el Instituto de Inmunología de la Universidad del Valle, Colombia, mediante el método en fase sólida F-moc en un equipo automatizado Advanced ChemTech APEX 396, se purificaron mediante cromatografía líquida rápida de proteínas (*Fast protein liquid chromatography*, FPLC), y posteriormente se liofilizaron. La pureza de los péptidos se verificó por cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa (*Reversed phase high-performance liquid chromatography*, RP-HPLC). La identidad de cada péptido se confirmó por espectrometría de masas.

### Inmunización

Para la producción de los anticuerpos se inmunizaron un total de 12 gallinas de la variedad Hy Line Brown de 16 a 20 semanas de edad obtenidas en un centro avícola local. Se hicieron cuatro inmunizaciones en los músculos pectorales de las gallinas (dos gallinas por cada péptido sintético); cada inmunización se realizó a intervalos de dos semanas durante dos meses. Cada antígeno (oligopéptidos

sintéticos) se inyectó en una concentración de 100 µg/ml, emulsionado en adyuvante completo de Freund (Sigma-Aldrich®) para la primera inmunización y en adyuvante incompleto de Freund (Sigma-Aldrich®) para los tres refuerzos siguientes. Los huevos se recogieron diariamente antes y después de la primera inyección, y se rotularon y almacenaron a 4 °C. Las gallinas del grupo de control se inyectaron con adyuvante completo e incompleto de Freund sin el antígeno, usando el mismo protocolo descrito para el grupo de estudio (12,24). El seguimiento del título de producción de los anticuerpos policlonales se hizo empleando una prueba de ELISA indirecta. Todos los protocolos experimentales se ajustaron a los parámetros de cuidado y uso del laboratorio de animales aprobados por los comités de ética de la Universidad Javeriana y la Universidad del Norte.

### Extracción de los anticuerpos IgY

Los anticuerpos presentes en la yema de cada huevo se separaron siguiendo un protocolo modificado descrito previamente (25). Brevemente, el contenido de la yema se emulsionó en igual volumen de tampón salino fosfato 0,1 M con pH de 7,4 (PBS) y los lípidos se extrajeron con dos volúmenes de cloroformo. El sobrenadante con los anticuerpos se recolectó y se almacenó a -20 °C hasta su procesamiento y purificación.

### Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA)

La reactividad de los anticuerpos producidos por las gallinas se determinó mediante un inmunoensayo de ELISA indirecto. Los antígenos usados fueron extractos de proteínas totales de los ácaros *D. pteronyssinus* y *B. tropicalis* obtenidos previamente (26).

Se sensibilizaron placas de microtitulación de poliestireno (Nunc Maxisorp®) con 50 µl de extracto de proteína de ácaro en una concentración constante de 20 µg/ml, correspondiente a 1 µg de proteína total por pozo, disueltos en solución reguladora de fosfatos (PBS 1X, pH 7,4). Las placas se incubaron en cámara húmeda a 37 °C durante 18 horas, luego se bloquearon durante 2 horas a 37 °C con 200 µl de solución de bloqueo (PBS 1X, Tween 20 al 0,05 % v/v, leche descremada al 5 % p/v), y se lavaron con solución PBST (PBS 1X /Tween 20 al 0,05% v/v).

Inicialmente se estableció la concentración de anticuerpos IgY para los inmunoensayos de ELISA, para lo cual se usaron extractos crudos

IgY antipéptido P01 obtenidos ocho días después de la tercera inmunización, cuya concentración de proteína total se ajustó previamente en 2,5 mg/ml. Los extractos IgY se diluyeron a 1/250 y 1/500, 1/1000 y 1/2000 en solución de anticuerpo (PBS 1X, Tween 20 al 0,05% v/v, leche descremada al 2,5% p/v). Se agregó un volumen de 100 µl/pozo de cada dilución de IgY, y se incubó en cámara húmeda durante una hora a 37 °C. Con el fin de retirar los anticuerpos no unidos, se realizaron lavados cuatro veces con PBST como se describió anteriormente. Un volumen de 100 µl de conjugado anti-Chicken IgY-peroxidasa de rábano (HRP) (Promega® G1351) diluido a 1/1000 se agregó a cada pozo, y se incubó durante una hora a 37 °C. Se hicieron tres lavados con solución de lavado. La prueba se reveló con sustrato TMB (3,3',5,5' tetrametilbenzidina) (SureBlue Reserve™ Microwell Substrate, KPL Inc.), la reacción se detuvo con ácido clorhídrico 1N y se leyó en un lector de placas Synergy™HT – BioTek, a una longitud de onda de 450 nm.

La mejor dilución de los extractos IgY se definió como aquella cuya absorbancia en el ELISA fuera mayor a la media ± tres desviaciones estándar (DE) de la absorbancia del extracto IgY pre-inmunización. La concentración de todos los extractos crudos de IgY se ajustó previamente en aproximadamente 2,5 mg/ml de proteína total.

#### **Purificación de los anticuerpos IgY**

Los extractos de las yemas de huevo que presentaron las concentraciones más altas de anticuerpos IgY se purificaron mediante cromatografía de columna tiofílica usando la técnica descrita por Hansen, *et al.* (27), con algunas modificaciones introducidas en trabajos previos (25). La purificación se hizo en un equipo BioLogic™ LP System - Bio-Rad, y la monitorización de la cromatografía utilizando el programa LP Data View (Bio-Rad). Brevemente, la fase estacionaria (Sephacrose® CL4B, Sigma-Aldrich) se activó con divinilsulfona (DVS) y beta-mercaptoetanol (β-MESH); un volumen de 2 ml del soporte activo se equilibró en 50 mM de solución reguladora de fosfato con pH de 7,4 a la cual se agregaron 0,5 M de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (solución reguladora de equilibrio). Posteriormente, una dilución de 1:2 de la muestra en solución reguladora de equilibrio se agregó al soporte de sefarosa activada. La elución de la IgY retenida se obtuvo mediante la adición de 50 mM de la solución reguladora de fosfato con pH de 7,4 y se monitorizó mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 280 nm.

La cantidad de proteína total presente en los extractos de yema de huevo antes y después de la purificación, se determinó mediante el microensayo de Bradford usando el estuche comercial Quick-Start™ Bradford Protein Assay de Bio-Rad®. La concentración de proteínas total en cada muestra se determinó extrapolando la absorbancia obtenida en una curva de titulación construida utilizando un patrón de gammaglobulina (GGB) (28).

Los extractos de los anticuerpos purificados se corrieron en un gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (SDS-PAGE) usando un equipo Mini Protean® III cell (Bio Rad). Se prepararon geles de poliacrilamida con concentraciones 12 %T y 4 %C. Se sembraron 20 µg de muestra por pozo; el corrido electroforético se hizo a 120 V durante dos horas. Los geles se tiñeron con azul de Coomassie R-250 durante dos horas para luego ser visualizados con el equipo Universal Hood II, Serie n° 76S/7786 (Bio-Rad).

Para identificar las proteínas en los extractos de los ácaros reconocidas por las IgY purificadas se hizo un ensayo de *Western blot*. Brevemente, los extractos de proteínas de *B. tropicalis* y *D. farinae* (20 – 25 µg/carril) se separaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato de sodio (*sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*, SDS-PAGE), como se describió antes. Las proteínas se transfirieron del gel a membranas de nitrocelulosa de 0,2 µm (Trans-Blot® Transfer Medium de Bio-Rad), luego se lavaron con una solución reguladora salina con Tris (TBS 1X) pH 7,5 y se bloquearon durante dos horas en una solución de bloqueo (TBS 1X/ Tween-20 0,1 % v/v/leche descremada 2,5 % p/v). Cada membrana se incubó durante dos horas en una dilución de 1/250 de IgY antipéptido P02, antipéptido P04, antipéptido P06 y pre-inmunización. El exceso de anticuerpo se lavó con solución TBST (TBS 1X/ Tween-20 al 0,1% v/v). Las IgY unidas se detectaron con el conjugado anti-Chicken IgY- peroxidasa de rábano (HRP) (Promega® G1351) diluido a 1/1000 en solución de bloqueo. El revelado se hizo con una solución compuesta por imidazol al 0,1 % y diaminobenzidina al 0,001 % disuelta en PBS 1x Triton X-100 0,1 %, y 15 µl de peróxido de hidrógeno 30 % al 0,05 %. Después de visualizadas las señales, la reacción se detuvo con agua destilada.

#### **Ensayos de especificidad de las IgY purificadas**

*ELISA indirecto.* La especificidad de los anticuerpos purificados se evaluó mediante un inmunoensayo

de ELISA indirecto siguiendo el protocolo descrito antes. Para estos experimentos se escogieron los anticuerpos IgY antipéptico P02 e IgY antipéptido P04 por presentar la mayor reactividad para *B. tropicalis* y *Dermatophagoides* sp, respectivamente; también se escogió el IgY antipéptido P06 por tratarse de un anticuerpo diseñado para *B. tropicalis* y *Dermatophagoides* sp.

Los antígenos provenían de extractos de cuerpo entero de ácaros *D. pteronyssinus*, *D. farinae*, *B. tropicalis*, así como un extracto de cuerpo entero de cucaracha (*P. americana*) donado por el Dr. Enrique Fernández-Caldas (Laboratorios Leti, Madrid, España), usado como control negativo y para evaluar la especificidad de los anticuerpos IgY.

Inicialmente se estableció la mejor dilución de los anticuerpos IgY purificados usando diluciones de 1/100, 1/250 y 1/500 ajustando previamente la concentración de proteína total en 1,5 mg/ml. Luego se determinó el límite de detección de cada anticuerpo sensibilizando las placas con 1 – 0,5 – 0,25 – 0,125 – 0,06 – 0,03 y 0 µg/pozo de proteína total de cada antígeno.

**Dot Blot.** Se prepararon diluciones dobles seriadas de cada extracto de ácaros (*D. pteronyssinus*, *D. farinae* y *B. tropicalis*) a partir de 0,5 a 0,03 µg/µl de proteína total en solución TBS 1X con pH de 7,5. Se agregaron 50 µl de cada dilución sobre una membrana de nitrocelulosa Z-probe (Bio-Rad). La membrana se incubó con los extractos durante dos horas a temperatura ambiente, luego se lavó tres veces con solución TBST y se incubó durante 45 minutos con solución de bloqueo. Los pasos de detección y revelado de los puntos se hicieron como se describió en el *Western blot* con una dilución de 1/100 de cada IgY en solución de bloqueo. Los puntos se analizaron con el programa de acceso libre JustQuantify Free Version 0.3 (<http://www.sweday.com>), programa que permite expresar cuantitativamente la intensidad de los puntos generados en cada reacción.

### Análisis de datos

Para la producción de los anticuerpos se inmunizaron dos gallinas por cada péptido. Los ensayos de cuantificación de proteína total y las pruebas de ELISA se llevaron a cabo por duplicado. Todos los datos obtenidos se sometieron a un análisis estadístico univariado utilizando medidas de frecuencia y pruebas de tendencia central y de dispersión con el paquete estadístico SPSS Statistics 19 para Windows de IBM (SPSS Inc., an IBM Company, Chicago, H, IL, USA). Los gráficos

se hicieron con el paquete ggData2, versión 2.1.0., en el programa R versión 3.2.1 (2015) (<http://www.rstudio.com>).

### Consideraciones éticas

El estudio fue aprobado por los comités de ética de la Universidad del Norte y de la Pontificia Universidad Javeriana previo estudio del cumplimiento de las disposiciones determinadas en la Ley 84 de 1989 y los lineamientos consignados en la resolución No. 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia sobre la investigación biomédica con animales.

### Resultados

#### Diseño de epítopes y síntesis de oligopéptidos

Se diseñaron y sintetizaron seis oligopéptidos no glicosilados con tamaños entre 17 y 20 aminoácidos, los cuales se organizaron en tres grupos según el diseño de la secuencia, a saber: grupo A, conformado por los péptidos P01, P04 y P06, diseñados a partir de una secuencia homóloga de las cisteína proteasas de ácaros del género *Dermatophagoides* sp. y de la especie *B. tropicalis*; grupo B, conformado por los péptidos P02 y P05 diseñados a partir de la secuencia del alérgeno Blot 1, y grupo C, conformado por el péptido P03 diseñado a partir de una secuencia homóloga del Der p 1 y Der f 1 (cuadro 1).

El mapeo de los oligopéptidos P01, P03, P04 y P06 en la estructura en 3D de Der p 1 evidenció que las secuencias sintetizadas se encontraban expresadas en la proteína madura de la cisteína proteasa del ácaro *D. pteronyssinus* (figura 1). El mapeo para los oligopéptidos de *Blomia tropicalis* (P02 y P05) no se hizo debido a que aún no se tiene una estructura en 3D de esta proteína.

#### Producción de anticuerpos IgY antiácaros

Se recolectaron los huevos de las gallinas cada ocho días a partir del día previo a la inmunización

**Cuadro 1.** Secuencia de aminoácidos de los oligopéptidos de la cisteína proteasa de ácaros domiciliarios del género *Dermatophagoides* y la especie *B. tropicalis* (patente: US009416163B2)

Código	Secuencia	Aminoácidos
P01	DYWIVRNSWDTNWGDNGYGY	20
P02	AHFRNLRKGLRGAGYNDAQ	20
P03	FRHYDGRITIIQRDNGYQPNY	20
P04	TNACSINGNAPAEIDLQMR	20
P05	PANFDWRQKTHVNPINRQNG	19
P06	PIRMQGGCGSCWAFSGV	17

(día cero o pre-inmunización). La titulación de los extractos IgY antipéptido P01 evidenció que la mayor reactividad de este anticuerpo frente al extracto alérgeno de *D. pteronyssinus* (1µg/pozo) ocurrió con la dilución de 1/250 v/v, siendo significativamente mayor a la obtenida con el IgY pre-inmunización (figura 2). Por ello, se escogió esta dilución para evaluar la reactividad de todos los extractos IgY antipéptidos contra los alérgenos de *B. tropicalis* y *D. pteronyssinus* durante un periodo de inmunización de ocho semanas.

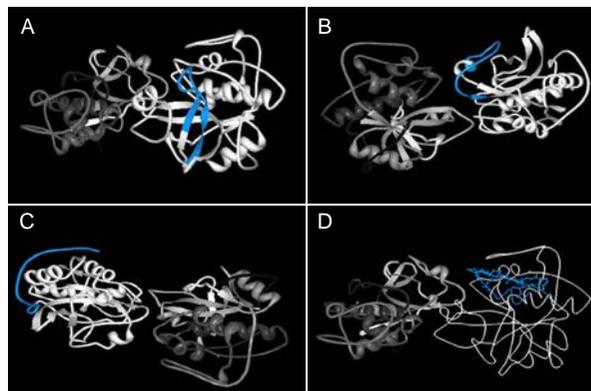
Las IgY en los huevos de los animales inmunizados con el péptido P02 del grupo B presentaron su mayor reactividad antiácaros en el día 40 después de la primera inmunización, sin embargo, la reactividad fue más alta contra los alérgenos de *B. tropicalis* (figura 3). Asimismo, aquellos inmunizados con P05 y P03 mostraron un mejor reconocimiento de *B. tropicalis*. Por otro lado, los animales inmunizados con los péptidos P01 y P04 (grupo A), presentaron mayor título de anticuerpos contra *D. pteronyssinus*. El péptido P06 (grupo A), por su parte, reconoció las proteínas de ambos ácaros con una reactividad similar, alcanzando una reactividad máxima en el día 32 después del inicio del esquema de inmunización y coincidiendo con la tercera inmunización, lo cual podría explicarse por un fenómeno estocástico sin ninguna relación con la inmunización y la respuesta específica del modelo experimental.

#### Extracción y purificación de los anticuerpos IgY

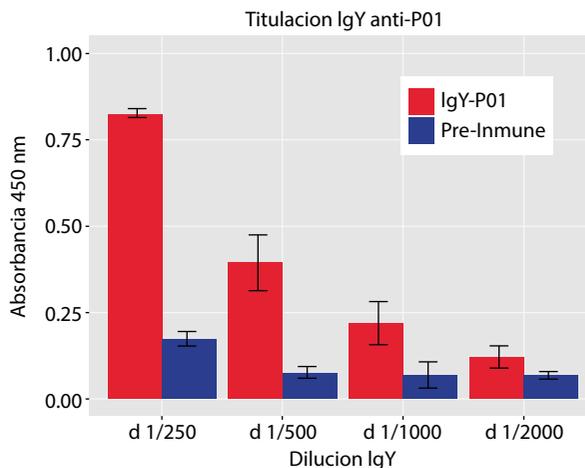
Las concentraciones de proteína total en los extractos 'deslipados' de la yema de huevo fue de  $3,49 \pm 0,16$  mg/ml; después de la purificación por columna tíoélica se obtuvo una concentración de IgY de  $1,94 \pm 0,68$  mg/ml de extractos de yema de huevo, lo cual equivale a 18,9 - 39,3 mg de IgY por huevo.

El análisis de los extractos IgY mediante SDS-PAGE mostró dos bandas bien definidas, cuyos tamaños son cercanos a los reportados para las cadenas pesadas (67 kDa) y livianas (25 kDa) de la IgY (11). También se detectaron impurezas menores a nivel de los 110 kDa y una banda de alto peso molecular que podría ser la IgY completa (aproximadamente 160 kDa) (figura 4).

El *Western blot* con las IgY antipéptidos P02, P04, P06 y pre-inmunización, comparadas con los extractos de ácaros *D. farinae* y *B. tropicalis*, mostró que todas las IgY antipéptidos reconocían varias proteínas de los ácaros, destacándose dos bandas intensas entre los 21 y 31 kDa que podrían



**Figura 1.** Mapeo de los péptidos sintetizados. En los paneles A, B, C y D se observa la localización de las secuencias de aminoácidos de los péptidos P01, P03, P04 y P06 (color azul), respectivamente, en la estructura en 3D de la proteína nativa de la cisteína proteasa de *D. pteronyssinus* (PDB 3F5V).

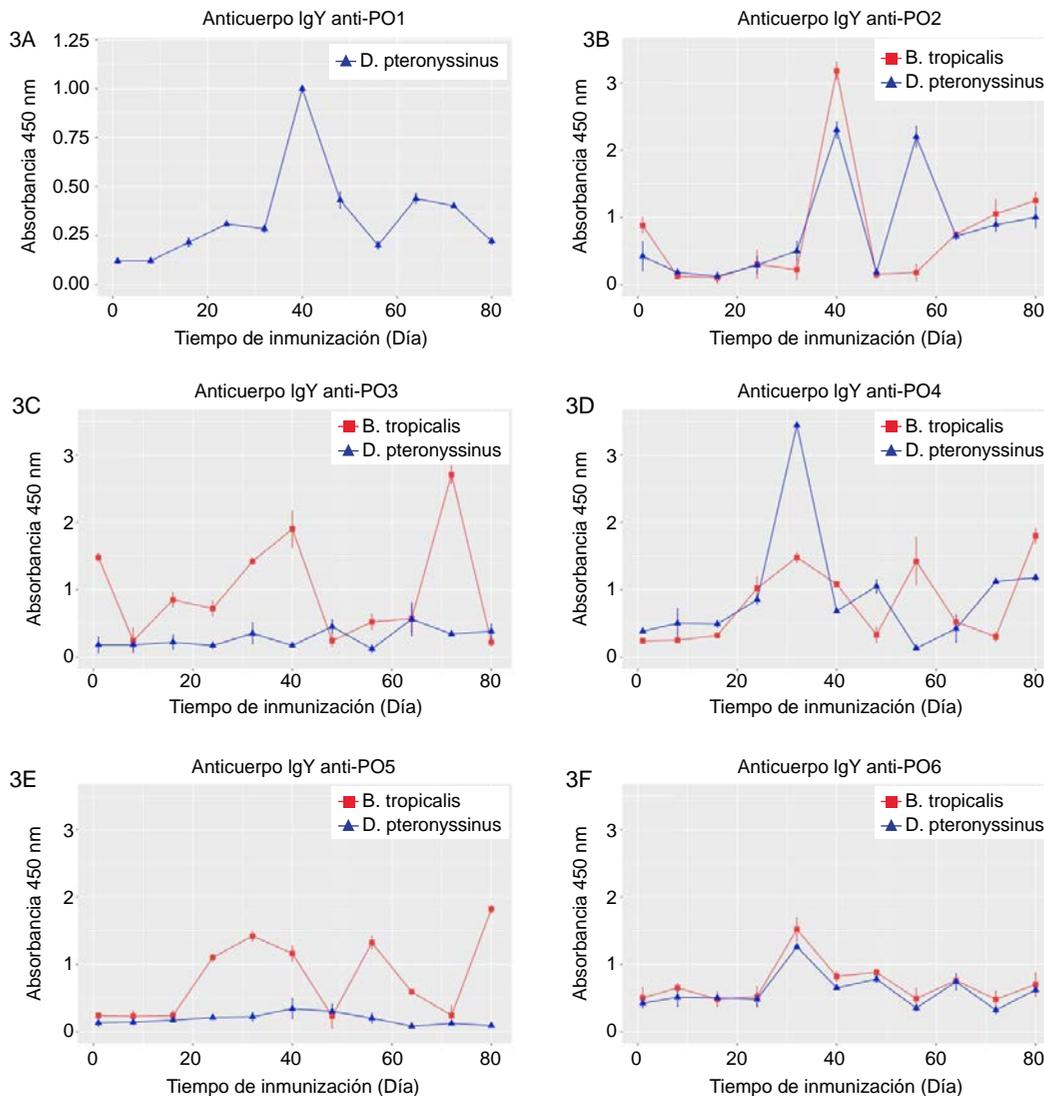


**Figura 2.** Titulación del anticuerpo IgY anti-péptido P01 en los extractos de yema de huevo. Las placas de titulación se sensibilizaron con extracto de *D. pteronyssinus* (1µg/pozo). Las diluciones de 1/250 y 1/500 del extracto IgY antipéptido P01 (2,5 mg/ml) mostraron 'reactividades' significativamente diferentes (> media  $\pm$  3 DE) a las de la IgY pre-inmunización (2,5 mg/ml).

corresponder a los alérgenos Blo t 1 y Der f 1 (figura 5). Cheong, *et al.*, estimaron un peso molecular de 26 kDa para la proteína nativa Blo t 1 detectada tanto en extractos crudos de *B. tropicalis* como en el medio de cultivo (29); por otra parte, el peso molecular estimado de la proteína madura del Der f 1 con una glicosilación es de 25,6 kDa (30). El reconocimiento inespecífico de otras proteínas se atribuye al carácter policlonal de los anticuerpos IgY.

#### Titulación de los extractos de IgY purificados

Un ensayo de ELISA con diferentes diluciones (1/100, 1/250 y 1/500) de los IgY purificados por columna tíoélica permitió establecer que las diluciones de



**Figura 3.** A. Reactividad de anticuerpos IgY antipéptido P01; B. P02; C. P03; D. P04, E. P05 y F. P06, en los extractos de yema de huevo (dilución de 1/250). Las placas de titulación se sensibilizaron con extractos de *B. tropicalis* (Bt) y *D. pteronyssinus* (Dp) con 1 µg/pozo. Las gallinas se inmunizaron en los días 1, 16, 32 y 48.

1/100 y 1/250 v/v mostraron las reactividades más altas comparadas con las IgY pre-inmunización; sin embargo, la dilución de 1/100 produjo las mejores reactividades contra ambos extractos de ácaros, *D. pteronyssinus* y *B. tropicalis* (figura 6 A y B).

#### **Inmunorreactividad y especificidad de las IgY purificadas**

Las IgY antipéptidos P02, P04 y P06 purificadas por columna tío-filica fueron inmunorreactivas frente a los extractos alérgenos de ácaros *D. farinae* y *B. tropicalis*; sin embargo, las IgY antipéptido P02 fueron más reactivas al extracto de *B. tropicalis*, mientras que las IgY antipéptido P04 y P06 fueron más reactivas al ácaro *D. farinae* (figura 7A, B y C).

Por otra parte, los anticuerpos IgY antipéptido P02 y P04 mostraron un escaso reconocimiento inespecífico contra el extracto de la cucaracha *P. americana* (otra fuente común de alérgenos domiciliarios), en contraste con las absorbancias obtenidas contra *D. farinae* y *B. tropicalis*, lo cual confirma la especificidad de los anticuerpos contra alérgenos de los ácaros bajo las condiciones experimentales del estudio.

Los resultados del inmunoensayo *Dot Blot* concordaron con el ELISA indirecto, observándose una mayor actividad de unión de las IgY purificadas con las proteínas de extractos alérgenos de los ácaros *D. farinae* y *B. tropicalis*. Cuando se usó

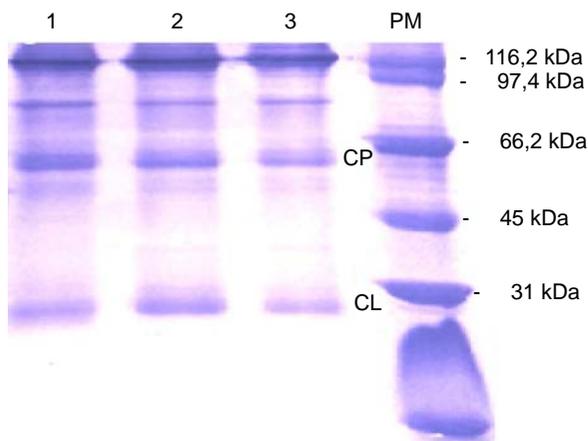
como antígeno el extracto de *D. pteronyssinus*, la actividad de unión fue más baja. Además, el extracto de yema de huevo pre-inmunización no reaccionó con los extractos alérgenos de los ácaros (figura 8).

**Discusión**

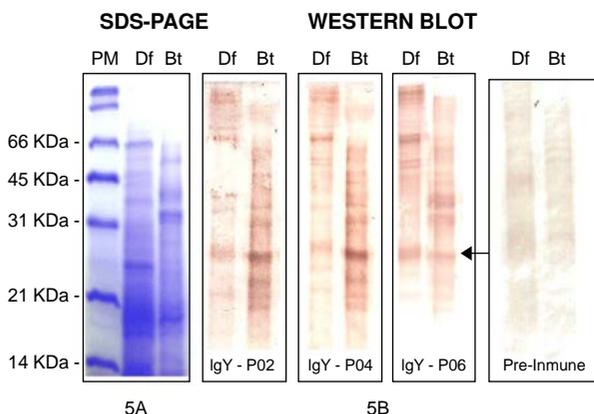
La síntesis de oligopéptidos y el mapeo mediante simulación computacional de epítopes de células B contenidos en estos oligopéptidos constituye una

herramienta valiosa para el diseño de inmunógenos de aplicación en alergología (31-33). No se encontraron artículos científicos que describieran la producción de oligopéptidos sintéticos lineales no glicosilados de alérgenos mayoritarios de los ácaros *D. farinae* y *B. tropicalis*, como tampoco sobre su aplicación en alergología experimental. En el presente estudio se sintetizaron seis oligopéptidos a partir de secuencias de los alérgenos Der p 1, Der f1 y Blo t 1, los cuales se utilizaron como inmunógenos en un modelo experimental aviar. Los seis péptidos diseñados indujeron la producción de títulos elevados de anticuerpos IgY policlonales frente a extractos alérgenos de ácaros domiciliarios. Durante las ocho semanas de inmunización, los títulos de anticuerpos fueron diferentes entre los grupos, siendo los animales inmunizados con el péptido P02 y P04 los que produjeron los títulos más elevados de anticuerpos. Existen factores asociados a las características de los péptidos que pueden influir en el proceso de inmunización y la obtención de un título de anticuerpos en cualquier organismo; algunos de ellos pueden ser: 1) la sensibilidad a la proteólisis; 2) la estabilidad durante la administración en el cuerpo del animal; 3) la disposición de epítopes más antigénicos, y 4) el plegamiento del péptido en conformaciones que no correspondan a la secuencia dentro de la proteína intacta (34). Por otra parte, Leenaars, *et al.*, han señalado algunos factores asociados al proceso de inmunización que pueden contribuir a que el título de anticuerpos varíe, por ejemplo, causar estrés o dolor al animal durante la inmunización, usar un antígeno mal homogenizado con el adyuvante, lo cual impide una correcta administración del antígeno en el sistema inmunitario del animal, y no inyectar de forma adecuada, causando que el antígeno se introduzca por una vía distinta a la intramuscular, como la intradérmica, la cual es menos eficiente en la distribución del antígeno en el animal (7).

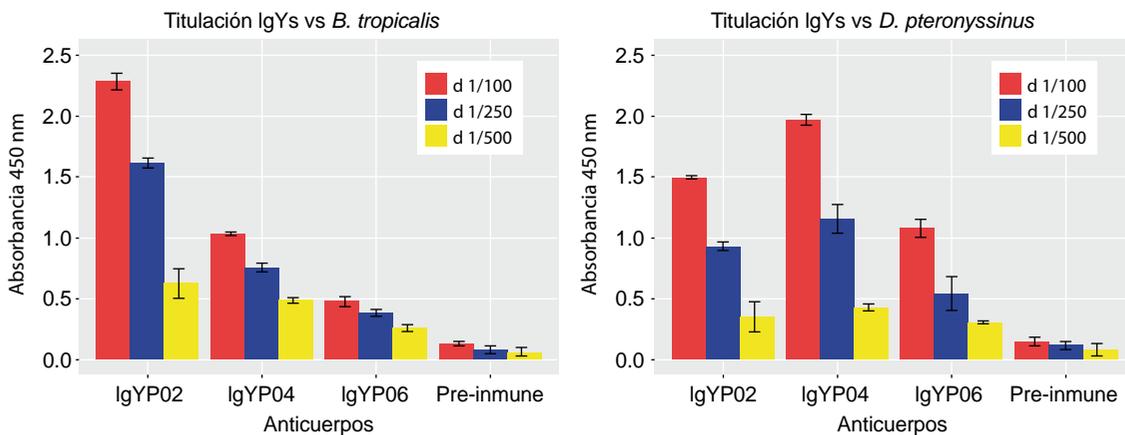
Los anticuerpos IgY antipéptidos P02, P04 y P06 reconocieron proteínas en los extractos alérgenos de *D. farinae* y *B. tropicalis*. Las secuencias de Der f 1 y Blo t 1, publicadas en la base de datos de proteínas del NCBI, tienen un 32,8 % de identidad entre ellas, lo cual posibilita que los anticuerpos reconozcan epítopes compartidos. Asimismo, la similitud estructural entre las proteínas puede hacer que la disposición de los residuos expuestos en la superficie de la estructura terciaria influya en la unión de los anticuerpos a las cisteína proteasas usadas (35,36). Estas hipótesis está respaldada



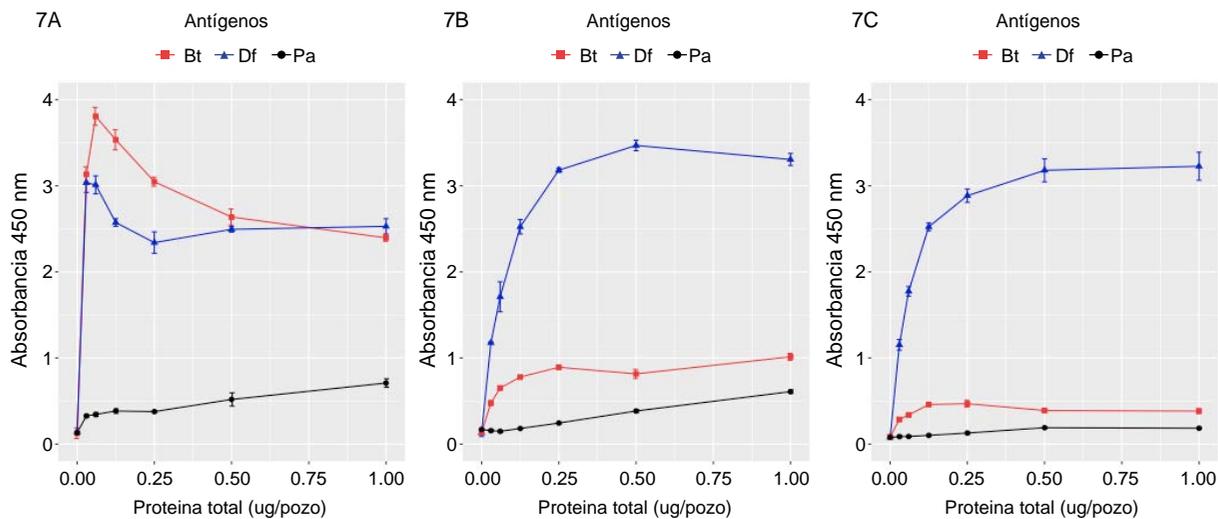
**Figura 4.** Perfil de la electroforesis SDS-PAGE de extractos de IgY en yemas de huevos. 1:- IgY antipéptido P02; 2:- IgY antipéptido P04; 3:- IgY antipéptido P06. CP: cadenas pesadas; CL: cadenas livianas; PM: marcadores de peso molecular (Molecular Weight Standards, Broad Range de Bio-Rad).



**Figura 5.** Western blot con las IgY antipéptidos P02, P04, P06 y pre-inmunización. Perfil electroforético de las proteínas SDS-PAGE de los extractos de ácaros *D. farinae* (Df) y *B. tropicalis* (Bt) (A). Inmunorreacción con los distintos anticuerpos y extractos de ácaros. Se muestra que todas las IgY antipéptidos reconocieron varias bandas electroforéticas en los extractos, destacándose una banda intensa en Bt y otra en Df a nivel de los 26 kDa, las cuales podrían corresponder a los alérgenos Blo t 1 y Der f 1. PM: marcadores de peso molecular (Molecular Weight Standards, Broad Range de Bio-Rad)



**Figura 6.** Titulación de los IgY purificados. Los anticuerpos IgY antiP02, antiP04 y antiP06, purificados por columna tiofílica, se titularon frente a los extractos de proteína total de los ácaros *B. tropicalis* (A) y *D. pteronyssinus* (B) en una concentración de 1 µg/pozo. La dilución de 1/100 v/v de los tres anticuerpos presentó las reactividades más altas con ambos ácaros, comparada con la del IgY pre-inmunización.

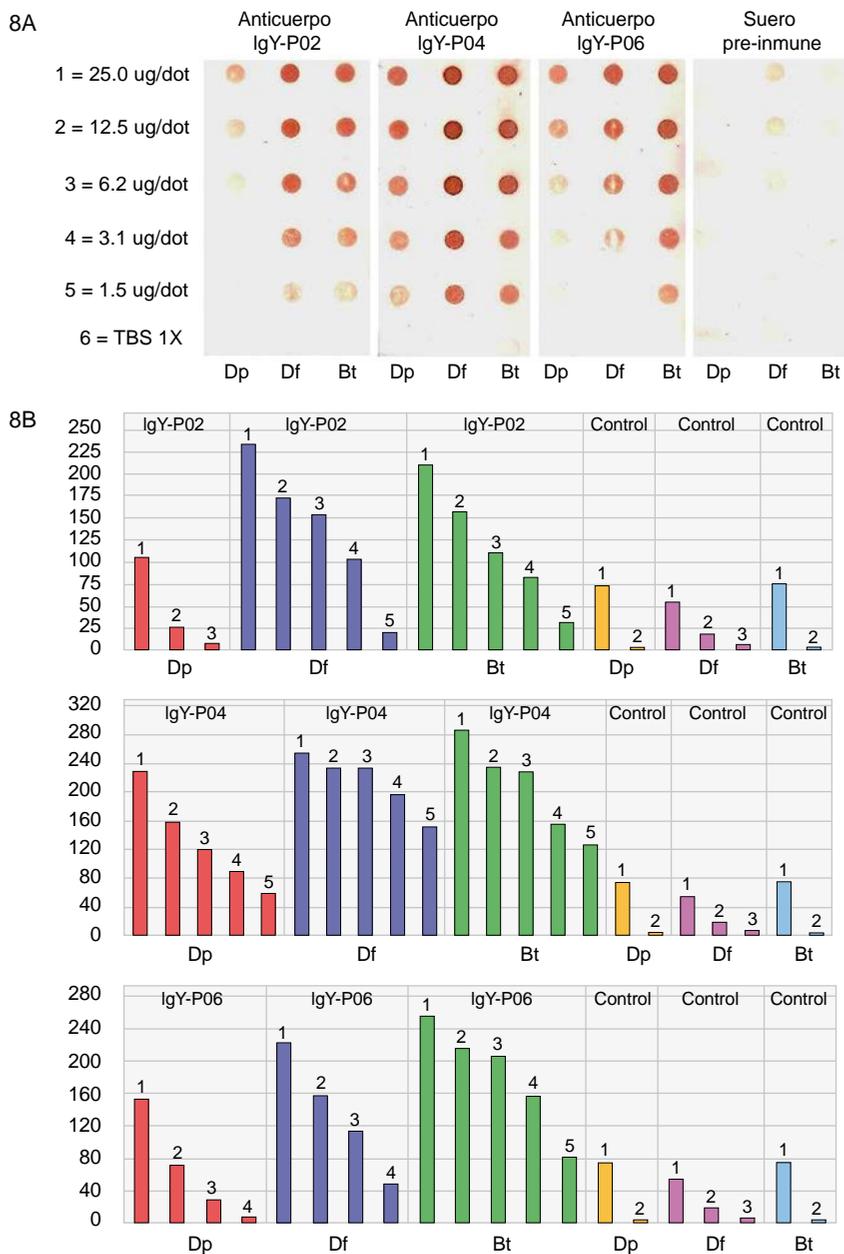


**Figura 7.** Especificidad de los IgY antipéptido purificados por columna tiofílica. La fuente de antígenos fueron los extractos alérgicos de los ácaros *B. tropicalis* (Bt), *D. farinae* (Df) y de la cucaracha *P. americana* (Pa) de 1 µg/pozo a 0 µg/pozo. Los anticuerpos IgY antipéptido P02 (A), antipéptido P04 (B) y antipéptido P06 (C) se usaron en diluciones de 1/100 (equivalentes a 15 µg/ml). Todos los IgY antipéptidos fueron inmunorreactivos contra los extractos de ácaros en la concentración mínima ensayada (0,03 µg/pozo de proteína total). Los IgY antipéptidos P02 y P04 mostraron un escaso reconocimiento inespecífico contra *P. americana*.

por las observaciones de Cheong, *et al.*, quienes publicaron la secuencias de aminoácidos de una proteína recombinante del Blo t1, la cual presentó 34 y 32 % de identidad con Der p1 y Der f1, respectivamente; el modelamiento molecular del Blo t1 y Der p1 sobre la estructura cristalina de otras dos cisteínas proteasas, la actinidina y la papaina, demostró que Blo t1 presenta una gran similitud estructural con Der p1 en tres regiones importantes: un dominio I de la hélice alfa conformado por residuos del extremo N-terminal; un dominio II de hoja beta plegada antiparalela y hélices cortas

conformado por residuos del extremo C-terminal, y en una hendidura ubicada entre los dominios I y II, la cual conforma el sitio catalítico (30).

En cuanto a la especificidad de los anticuerpos, las IgY antipéptidos P02, P04 y P06 tuvieron un muy bajo reconocimiento de las proteínas de *P. americana* (extracto de cucaracha), un insecto que se ha descrito como otra fuente importante de alérgenos domiciliarios (37,38). Esto demuestra la utilidad del uso de estos anticuerpos para la monitorización de la presencia o concentración de alérgenos de ácaros en espacios intramuros.



**Figura 8.** Dot Blot con las IgY antipeptidos P02, P04, P06 y suero pre-inmunización (control) frente a extractos alérgenos de *D. pteronnyssinus* (Dp), *D. farinae* (Df) y *B. tropicalis* (Bt). **A.** Resultados de la inmunorreacción con los distintos anticuerpos y antígenos. **B.** Gráficos de volumen de los puntos calculado con el programa JustQuantify free, versión 0.3. Los resultados evidenciaron que la IgY antipeptido P04 presentó una mayor inmunorreactividad contra los tres antígenos (Dp, Df y Bt).

Hasta donde se sabe, este es el primer reporte de producción de anticuerpos IgY policlonales contra alérgenos del grupo 1 de los ácaros domiciliarios producidos por la inmunización de aves utilizando oligopeptidos sintéticos no glicosilados. Se ha descrito la producción de anticuerpos monoclonales y policlonales contra alérgenos Der p 1, Der f1 y Blo t1 usando ratones para la inmunización (39). Estos anticuerpos se han utilizado para la cuantificación

de alérgenos de ácaros en muestras de polvo domiciliario y la purificación de alérgenos nativos a partir de extractos totales (40-42). A diferencia del modelo de inmunización en ratones, el uso de gallinas para la producción de anticuerpos permite una mayor producción de anticuerpos en las yemas de los huevos, lo cual disminuye los costos de producción. En este trabajo se obtuvo una concentración de IgY de  $1,94 \pm 0,68$  mg/ml de

extracto de yema de huevo, y una producción de 18,9 a 39,3 mg de IgY por huevo, cantidad superior a la producción de anticuerpos IgG reportada en mamíferos (43).

En su conjunto, los resultados presentados en este trabajo sugieren que los anticuerpos IgY policlonales antialérgenos del grupo 1 de los ácaros del polvo doméstico podrían usarse en futuros protocolos de diagnóstico y control de alérgenos de ácaros en ambientes intramuros.

### Conflicto de intereses

Los desarrollos tecnológicos producto de esta tecnología se encuentran patentados ante la Superintendencia de Industria y Comercio de Colombia (Resolución No.78965). La estructura de los oligopéptidos se encuentra protegida por la oficina de patentes en Estados Unidos, con el número US009416163B2.

### Financiación

Esta investigación fue financiada parcialmente por Colciencias (121534419081) y con fondos propios de la Pontificia Universidad Javeriana y la Universidad del Norte.

### Referencias

- Goldman RD.** Antibodies: Indispensable tools for biomedical research. *Trends Biochem Sci.* 2000;25:593-5. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(00\)01725-4](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(00)01725-4)
- Bradbury A, Plückthun A.** Reproducibility: Standardized antibodies used in research. *Nature.* 2015;518:27-9. <https://doi.org/10.1038/518027a>
- Peng J, Song S, Xu L, Ma W, Liu L, Kuang H, et al.** Development of a Monoclonal Antibody-Based Sandwich ELISA for Peanut Allergen Ara h 1 in Food. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10:2897-905. <https://doi.org/10.3390/ijerph10072897>
- Sookrung N, Khetsuphan T, Chaisri U, Indrawattana N, Reamtong O, Chaicumpa W, et al.** Specific B-cell epitope of per a 1: A major allergen of American Cockroach (*Periplaneta americana*) and anatomical localization. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2014;6:325-32. <https://doi.org/10.4168/aair.2014.6.4.325>
- Even MS, Sandusky CB, Barnard ND.** Serum-free hybridoma culture: Ethical, scientific and safety considerations. *Trends Biotechnol.* 2006;24:105-8. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.01.001>
- Hanly WC, Artwohl JE, Bennett BT.** Review of polyclonal antibody production procedures in mammals and poultry. *ILAR J.* 1995;37:93-118. <https://doi.org/10.1093/ilar.37.3.93>
- Leenaars M, Hendriksen CF.** Critical steps in the production of polyclonal and monoclonal antibodies: Evaluation and recommendations. *ILAR J.* 2005;46:269-79. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.3.269>
- Thompson MK, Fridy PC, Keegan S, Chait BT, Fenyö D, Rout MP.** Optimizing selection of large animals for antibody production by screening immune response to standard vaccines. *J Immunol Methods.* 2016;430:56-60. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2016.01.006>
- Jain E, Kumar A.** Upstream processes in antibody production: Evaluation of critical parameters. *Biotechnol Adv.* 2008;26:46-72. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.09.004>
- Joint Working Group on Refinement.** Removal of blood from laboratory mammals and birds. *Lab Anim.* 1993;27:1-22. <https://doi.org/10.1258/002367793781082412>
- Chacana PA, Terzolo HR, Gutiérrez Calzado E, Schade R.** Tecnología IgY o aplicaciones de los anticuerpos de yema de huevo de gallina. *Rev Med Vet.* 2004;85:179-89.
- Svendson Bollen L, Crowley A, Stodulski G, Hau J.** Antibody production in rabbits and chickens immunized with human IgG A comparison of titre and avidity development in rabbit serum, chicken serum and egg yolk using three different adjuvants. *J Immunol Methods.* 1996;191:113-20. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(96\)00010-5](https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00010-5)
- Malmarugan S, Raman M, Jaisree S, Elanthali P.** Egg immunoglobulins - an alternative source of antibody for diagnosis of infectious bursal disease. *Veterinarski Arhiv.* 2005;75:49-56.
- Jensenius JC, Andersen I, Hau J, Crone M, Koch C.** Eggs: Conveniently packaged antibodies. Methods for purification of yolk IgG. *J Immunol Methods.* 1981;46:63-8. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(81\)90333-1](https://doi.org/10.1016/0022-1759(81)90333-1)
- Warr GW, Magor KE, Higgins DA.** IgY: Clues to the origins of modern antibodies. *Immunol Today.* 1995;16:392-8. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/0167-5699(95)80008-5)
- Iqbal A, Ateeq N.** Effect of processing on the detectability of peanut protein by ELISA. *Food Chem.* 2013;141:1651-4. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.102>
- Drs E, Baumgartner S, Bremer M, Kemmers-Voncken A, Smits N, Haasnoot W, et al.** Detection of hidden hazelnut protein in food by IgY-based indirect competitive enzyme-immunoassay. *Anal Chim Acta.* 2004;520:223-8. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2004.04.054>
- Blais BW, Gaudreault M, Phillippe LM.** Multiplex enzyme immunoassay system for the simultaneous detection of multiple allergens in foods. *Food Control.* 2003;14:43-7. [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00053-1](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00053-1)
- Finlay WJ, deVore NC, Dobrovolskaia EN, Gam A, Goodyear CS, Slater JE.** Exploiting the avian immunoglobulin system to simplify the generation of recombinant antibodies to allergenic proteins. *Clin Exp Allergy.* 2005;35:1040-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2005.02307.x>
- de Vore N, Finlay W, Dobrovolskia E, Gam A, Slater J.** Cloning and analysis of mono-specific scFv fragments from chicken to allergenic proteins of *Periplaneta americana* (American cockroach). *J Allergy Clin Immunol.* 2004;113:S297. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.01.550>
- Andiappan AK, Puan KJ, Lee B, Nardin A, Poidinger M, Connolly J, et al.** Allergic airway diseases in a tropical urban environment are driven by dominant mono-specific sensitization against house dust mites. *Allergy.* 2014;69:501-9. <https://doi.org/10.1111/all.12364>

22. Tovey ER, Chapman MD, Platts-Mills TA. Mite faeces are a major source of house dust allergens. *Nature*. 1981; 289:592-3.
23. Lee KE, Han BK, Han JY, Hong JY, Kim MN, Heo WI, et al. Production of egg yolk antibodies specific to house dust mite proteins. *Yonsei Med J*. 2014;55:999-1004. <https://doi.org/10.3349/ymj.2014.55.4.999>
24. Ruan GP, Ma L, Meng XJ, Meng MJ, Wang XN, Lin Y, et al. Quantification of antibody (IgY) titers in hen eggs following immunization and their use in detecting cell surface molecules on nitrocellulose membranes. *J Immunoassay Immunochem*. 2007;28:35-45. <https://doi.org/10.1080/15321810601026083>
25. Sosa AC, Espejo AJ, Rodríguez EA, Lizaraso LM, Rojas A, Guevara J, et al. Development of a sandwich enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) for the quantification of iduronate-2-sulfate sulfatase. *J Immunol Methods*. 2011; 368:64-70. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2011.03.004>
26. Mendoza DL, Ruiz T, Lagares A, Garavito G, Egea E. Caracterización de la actividad alérgica y enzimática de extractos somáticos producidos a partir de cultivos *in vitro* del ácaro *Dermatophagoides farinae*. *Salud Uninorte*. 2011;27:11-21.
27. Hansen P, Scoble JA, Hanson B, Hoogenraad NJ. Isolation and purification of immunoglobulins from chicken eggs using thiophilic interaction chromatography. *J Immunol Methods*. 1998;215:1-7. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(98\)00050-7](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(98)00050-7)
28. Sapan CV, Lundblad RL, Price NC. Colorimetric protein assay techniques. *Review. Biotechnol Appl Biochem*. 1999;29:99-108. <https://doi.org/10.1111/j.1470-8744.1999.tb00538.x>
29. Gough L, Schulz O, Sewell HF, Shakib F. The cysteine protease activity of the major dust mite allergen der P 1 selectively enhances the immunoglobulin E antibody response. *J Exp Med*. 1999;190:1897-902.
30. Chruszcz M, Pomés A, Glesner J, Vailes LD, Osinski T, Porebski PJ, et al. Molecular determinants for antibody binding on group 1 house dust mite allergens. *J Biol Chem*. 2012;287:7388-98. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.311159>
31. Jenkins JA, Griffiths-Jones S, Shewry PR, Breiteneder H, Mills EN. Structural relatedness of plant food allergens with specific reference to cross-reactive allergens: An *in silico* analysis. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:163-70. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.10.026>
32. Sharma V, Singh BP, Gaur SN, Pasha S, Arora N. Bioinformatics and immunologic investigation on B and T cell epitopes of Cur I 3, a major allergen of *Curvularia lunata*. *J Proteome Res*. 2009;8:2650-5. <https://doi.org/10.1021/pr800784q>
33. Brusci V, Petrovsky N, Gendel SM, Millot M, Gigonzac O, Stelman SJ. Computational tools for the study of allergens. *Allergy*. 2003;58:1083-92. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00224.x>
34. Moisa AA, Kolesanova EF. Synthetic Peptide Vaccines. In: Priti R, editor. *Insight and Control of Infectious Disease in Global Scenario*. InTech Publications; 2012. <https://doi.org/10.5772/33496>
35. Chruszcz M, Chapman MD, Vailes LD, Stura EA, Saint-Remy JM, Minor W, et al. Crystal structures of mite allergens Der f 1 and Der p 1 reveal differences in surface-exposed residues that may influence antibody binding. *J Mol Biol*. 2009;386:520-30. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.12.049>
36. Cheong N, Soon SC, Ramos JD, Kuo IC, Kolatkar PR, Lee BW, et al. Lack of human IgE cross-reactivity between mite allergens Blo t 1 and Der p 1. *Allergy*. 2003;58:912-20. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2003.00215.x>
37. Arruda LK, Chapman MD. The role of cockroach allergens in asthma. *Curr Opin Pulm Med*. 2001;7:14-9.
38. Sun BQ, Lai XX, Gjesing B, Spangfort MD, Zhong NS. Prevalence of sensitivity to cockroach allergens and IgE cross reactivity between cockroach and house dust mite allergens in Chinese patients with allergic rhinitis and asthma. *Chin Med J (Engl)*. 2010;123:3540-4.
39. Chien TI, Chen YG, Chiang BL. Preparation of Der p 1 specific monoclonal antibodies and use in a two-site-ELISA to detect Der p 1 allergen. *J Microbiol Immunol Infect*. 2000;33:87-92.
40. Ramos JD, Cheong N, Teo AS, Kuo IC, Lee BW, Chua KY. Production of monoclonal antibodies for immunoaffinity purification and quantitation of Blo t 1 allergen in mite and dust extracts. *Clin Exp Allergy*. 2004;34:604-10. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2004.1922.x>
41. Sookrung N, Kamlanghan T, Indrawattana N, Tungtrongchitr A, Tantilipikorn P, Bunnag C, et al. Quantification of Der f 1 in houses of patients allergic to house dust mite, *Dermatophagoides farinae*, using a locally produced detection reagents. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2011;29:78-85.
42. Sander I, Zahradnik E, Kraus G, Mayer S, Neumann HD, Fleischer C, et al. Domestic mite antigens in floor and airborne dust at workplaces in comparison to living areas: a new immunoassay to assess personal airborne allergen exposure. *PLoS One*. 2012;7:e52981. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052981>
43. Schade R, Calzado EG, Sarmiento R, Chacana PA, Porankiewicz-Asplund J, Terzolo HR. Chicken egg yolk antibodies (IgY-technology): A review of progress in production and use in research and human and veterinary medicine. *Altern Lab Anim*. 2005;33:129-54.

ARTÍCULO ORIGINAL

## Comparación entre metodologías para el diagnóstico microscópico de malaria

Liliana Jazmín Cortés, Lyda Muñoz, Martha Stella Ayala

Grupo de Parasitología, Dirección de Redes en Salud Pública,  
Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Como parte del plan de eliminación de la malaria en Colombia, se propuso desarrollar actividades enmarcadas en la línea de trabajo: “Mejorar el acceso y la calidad del diagnóstico de malaria”.

**Objetivo.** Comparar la metodología recomendada por la Organización Panamericana de la Salud con la utilizada en Colombia para el diagnóstico de la malaria.

**Materiales y métodos.** Se recolectaron muestras y se prepararon 88 láminas para el diagnóstico de malaria, bajo diferentes tratamientos según los parámetros evaluados. Después de la lectura microscópica por duplicado, se hicieron los respectivos cálculos de varianzas para todas las posibles comparaciones de coloración con los dos métodos usados (gota gruesa y gota gruesa combinada), según la coloración (Romanowsky modificado o Giemsa) y el resultado del recuento parasitario (500, 1.000, 5.000 y 10.000 parásitos/ $\mu$ l de sangre).

**Resultados.** Se obtuvo un coeficiente kappa de Cohen de concordancia entre observadores de 0,923 (IC<sub>95%</sub> 0,768-1,0). Ninguno de los factores (A: coloración, B: metodología) o interacciones (AB) tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre los resultados, con un 95 % de nivel de confianza.

**Conclusión.** Según los resultados obtenidos, la observación de dos gotas gruesas en una misma lámina y el uso de la tinción modificada de Romanowsky, continúa siendo una metodología adecuada para el diagnóstico de malaria en Colombia, por sus características técnicas, de almacenamiento, bajo costo y cuidados de uso.

**Palabras clave:** malaria/diagnóstico; *Plasmodium vivax*; *Plasmodium falciparum*; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3803>

### Comparison of methodologies for microscopic malaria diagnosis

**Introduction:** As part of the pre-elimination plan for malaria in Colombia, it has been proposed to develop activities within the line of work: “Improve access and quality of malaria diagnosis”.

**Objective:** To compare the methodology recommended by PAHO/WHO with that used in Colombia for the diagnosis of malaria.

**Materials and methods:** Samples were collected and 88 slides were prepared for malaria diagnosis, under different scenarios according to the parameters to be evaluated. After duplicate microscopic reading, the respective variance calculations were performed for all possible staining comparisons with the two methods used (thick smear, combined thick smear), according to the staining (modified Romanowsky or Giemsa), with the result variable being the parasite density (500, 1,000, 5,000 and 10,000 parasites/ $\mu$ l of blood).

**Results:** A Cohen kappa index of inter-rater agreement of 0.923 (95% CI: 0.768-1.078) was obtained. None of the factors (A: stain, B: methodology) or interactions (AB) had a statistically significant effect on the results with a 95% confidence level.

**Conclusion:** Based on the results of the study, the preparation of two thick smears in the same slide stained with the modified Romanowsky stain is a suitable methodology for the diagnosis of malaria in Colombia, due to its technical characteristics, of storage, low cost, use and care.

**Key words:** malaria/diagnosis; *Plasmodium vivax*; *Plasmodium falciparum*; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3803>

---

#### Contribución de los autores:

Liliana Jazmín Cortés: toma de muestra y lectura de láminas

Lyda Muñoz: toma de muestras

Martha Stella Ayala: revisión de resultados

Todos los autores participaron en el análisis de resultados y la escritura del artículo.

En Colombia, la malaria es un problema de salud pública por las complicaciones que produce y las muertes que puede llegar a causar. El 85 % del territorio rural colombiano está situado por debajo de los 1.600 metros sobre el nivel del mar, condición que, sumada a factores climáticos, geográficos y epidemiológicos, favorece la transmisión de la enfermedad. Se estima que, aproximadamente, 25 millones de personas se encuentran en riesgo de enfermar por esta causa (1). Durante los años 2008 a 2010, el índice parasitario anual (IPA) pasó de 6,2 a 11,5 casos por 1.000 habitantes en riesgo (2). En el 2016, se registraron 83.356 casos de malaria no complicada en el Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila), de los cuales, 47.497 (57 %) correspondieron a infecciones por *Plasmodium falciparum*, 33.055 (39,7 %) por *Plasmodium vivax* y 2.804 (3,3 %) por malaria mixta (*P. vivax* y *P. falciparum*) (3), además de 1.494 casos de malaria complicada.

En el Plan Decenal de Salud Pública, 2012-2021, se proyectó la meta de reducir en 80 % la mortalidad por malaria en todo el país, meta que se ha trabajado de manera progresiva y sostenida, específicamente, fortaleciendo la calidad del diagnóstico de malaria (4), siguiendo las recomendaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), con el fin de establecer el 'Programa de Aseguramiento de la Calidad del Diagnóstico de Malaria (PACDM). Entre las actividades del programa se encuentran: la capacitación, los programas de evaluación (directa e indirecta) del desempeño, la supervisión, la referencia y contrarreferencia, las asesorías y las visitas de asistencia técnica (2,5).

Recientemente, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha impulsado la transición de los programas de control hacia la eliminación, con el fin de lograr una tasa de láminas positivas inferior al 5 % que permite que la carga de la enfermedad se reduzca a un nivel que posibilite un seguimiento individual de cada paciente con malaria (6). En consecuencia, en el año 2012, la OPS, el Instituto Nacional de Salud, la *Amazon Malaria Initiative (AMI)* y la Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia a los Antimaláricos (RAVREDA)

formularon seis líneas de trabajo para el periodo de 2012 a 2015. Una de ellas fue mejorar el acceso y la calidad del diagnóstico.

Con base en esta línea estratégica, se propuso unificar las metodologías de diagnóstico de malaria en la región, según las recomendaciones de la OMS, esto es: elaboración de gota gruesa y extendido en la misma lámina y uso de la coloración de Giemsa (7,8). Sin embargo, en Colombia se ha empleado la coloración modificada de Romanowsky con la metodología de dos gotas gruesas por lámina y un extendido en lámina por separado, obteniéndose históricamente una buena calidad de diagnóstico y resultados satisfactorios en los programas de evaluación del desempeño (4). Por esta razón, se planteó el presente estudio piloto con el objetivo de comparar la metodología propuesta por la OPS (9) y la utilizada en nuestro país para el diagnóstico microscópico del paludismo en Colombia.

El diagnóstico de la enfermedad por laboratorio se puede hacer mediante diferentes métodos, como microscopía, pruebas rápidas y diagnóstico molecular. Por su capacidad diagnóstica y sus ventajas económicas y operativas, el diagnóstico microscópico, es decir, la gota gruesa junto con el extendido, permite la identificación de las especies de *Plasmodium* spp. que parasitan al humano (10-12).

Empleando la microscopía, la malaria se puede diagnosticar a partir del examen de una muestra de sangre de la persona afectada. Existen dos metodologías para hacer el examen: 1) la gota gruesa, que consiste en depositar dos gotas de sangre (aproximadamente 10 µl por cada una) en una misma lámina y, de esta forma, concentrar varias capas de sangre, y 2) el extendido fino, que consiste en extender una pequeña cantidad de sangre sobre la lámina obteniendo una sola capa de sangre.

La gota gruesa es una muestra concentrada y sin hemoglobina, que permite revisar mayor cantidad de sangre en una pequeña área, lo que la hace más sensible que el extendido. Por su parte, el uso del extendido de sangre se recomienda para la confirmación de especies de *Plasmodium* ya que permite observar mejor la morfología parasitaria. Ambos tipos de muestra, la gota gruesa y el extendido, se pueden preparar en una misma lámina portaobjetos (gota gruesa combinada); esta es una de las metodologías recomendadas por la OMS, evaluada en el presente estudio: gota gruesa *versus* gota gruesa combinada. En Colombia, el

Correspondencia:

Liliana Jazmín Cortés, Grupo de Parasitología, Dirección de Redes en Salud Pública, Instituto Nacional de Salud, Calle 26 N° 51-20, CAN, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 220 7700, extensión 1337  
jcortes@ins.gov.co

Recibido: 16/02/17; aceptado: 23/09/17

método recomendado actualmente para el diagnóstico de malaria es el estudio de la gota gruesa y, como herramienta complementaria para confirmar la especie, el extendido (13).

En el diagnóstico de la malaria, la coloración permite identificar las estructuras parasitarias, principalmente el núcleo, el citoplasma y el pigmento malárico. Las coloraciones derivadas de la de Romanowsky son las utilizadas para visualizar este tipo de estructuras, entre las que se incluyen la coloración de Giemsa, la de Wright, la de Field y la modificada de Romanowsky (14). Esta última se utiliza actualmente en los puestos de microscopía de toda Colombia, según la norma nacional vigente, debido a que es una coloración estable y que no absorbe humedad del ambiente, dada su propiedad de solución acuosa que no presenta el problema de evaporación de los componentes alcohólicos, lo que la hace adecuada para los climas tropicales cálidos y húmedos existentes en el país. Por su parte, la OPS recomienda el uso de la coloración de Giemsa, procedimiento operativo estándar reconocido internacionalmente (7), la cual es una tinción de base alcohólica que requiere una serie de cuidados para evitar la evaporación y precipitación del colorante (9).

### **Materiales y métodos**

Se llevó a cabo un estudio piloto de comparación de metodologías para el diagnóstico de malaria mediante examen por microscopía, con un ensayo controlado, en el cual intervienen variables como la metodología del diagnóstico, la coloración y el recuento parasitario.

Se evaluaron dos métodos distintos de diagnóstico, la gota gruesa y la gota gruesa combinada (una gota gruesa y un extendido por lámina); dos coloraciones, la modificada de Romanowsky y la de Giemsa, y cuatro recuentos parasitarios que, para facilitar el manejo de los datos, se tomaron como valores absolutos de 500 (rango de 300 a 662), 1.000 (rango de 888 a 1.136), 5.000 (rango de 3.815 a 7.636) y 10.000 (rango de 8.528 a 14.117) parásitos por  $\mu$ l de sangre. Los tratamientos de comparación fueron 16; para calcular el promedio y la desviación estándar de las medidas y que el diseño fuera sensible a la variabilidad, cada uno de estos 16 tratamientos se replicó tres veces, para un total de 48 muestras, por lo menos.

En tubos con EDTA, se recolectaron muestras venosas de siete pacientes con malaria por *P. falciparum*, *P. vivax* o infección mixta, del municipio de Tadó en el departamento del Chocó.

Se cumplió con lo establecido en el Artículo 11 del Capítulo 1 de la Resolución N° 008430 de 1993, en la cual se establecen las normas académicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud; además, se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes.

A partir de estas muestras, se prepararon 88 láminas en el Laboratorio del Hospital San José de Tadó, en condiciones de campo y teniendo en cuenta las condiciones ambientales de humedad y temperatura y su acción sobre los colorantes. Respecto al recuento parasitario y para efectos del estudio, fue necesario hacer diluciones con sangre del grupo sanguíneo O y con factor Rh positivo de un voluntario, a partir de las parasitemias iniciales de los pacientes y, así, obtener los niveles de recuento parasitario (parásitos/ $\mu$ l) propuestos para cada tratamiento. Las parasitemias iniciales de los siete pacientes incluidos oscilaban entre 1.073 y 26.093 parásitos/ $\mu$ l de sangre, de las especies de *P. vivax*, *P. falciparum* e infecciones mixtas. A partir de esas parasitemias iniciales, se hicieron las diluciones para obtener concentraciones parasitarias de 500, 1.000, 5.000 y 10.000 parásitos/ $\mu$ l de sangre, y se procedió a preparar las gotas gruesas y las gotas gruesas combinadas con las dos coloraciones empleadas.

Las láminas de gota gruesa se colorearon con la tinción modificada de Romanowsky, según las normas nacionales (sin hemoglobina y coloración) y, con la tinción de Giemsa, siguiendo las recomendaciones de la OPS (no se hizo una precoloración de la gota gruesa). Para las de metodología combinada, el extendido se fijó con metanol y las gotas gruesas se colorearon según las normas nacionales (sin hemoglobina y coloración). Se obtuvieron los siguientes tratamientos o arreglos factoriales: 28 láminas con 500 parásitos por  $\mu$ l de sangre, 28 con 1.000, 20 con 5.000 y 12 con 10.000; todas las láminas con metodología de gota gruesa y con metodología combinada, fueron coloreadas con la tinción de Giemsa y con la modificada de Romanowsky. El extendido fue revisado para confirmar la especie parasitaria. La distribución de muestras por tratamiento se muestra en el cuadro 1.

Las láminas se codificaron para su lectura a ciegas, con el fin de evitar sesgos en los resultados. La lectura la hicieron dos profesionales entrenados con experiencia en el diagnóstico de malaria, uno de ellos certificado como microscopista para el diagnóstico de malaria por la OPS y con experiencia en el desarrollo de evaluaciones del desempeño

**Cuadro 1.** Distribución de láminas por tratamiento de investigación

Número de parásitos/ $\mu$ l de sangre	Metodología	Coloración	Lector	Especie	Segundo lector			Total
					Pf	Pv	Im	
500	Gota gruesa	Modificada de Romanowsky	Primero	Pf	4	0	0	4
				Pv	0	2	0	2
				Im	0	0	1	1
		Giemsa		Pf	4	0	0	4
				Pv	0	1	1	2
				Im	0	0	1	1
	Gota gruesa combinada	Modificada de Romanowsky	Pf	4	0	0	4	
			Pv	0	2	0	2	
			Im	0	0	1	1	
		Giemsa	Pf	4	0	0	4	
			Pv	0	1	1	2	
			Im	0	0	1	1	
1.000	Gota gruesa	Modificada de Romanowsky		Pf	4	0	0	4
				Pv	0	2	0	2
				Im	0	0	1	1
		Giemsa		Pf	4	0	0	4
				Pv	0	1	1	2
				Im	0	0	1	1
	Gota gruesa combinada	Modificada de Romanowsky	Pf	4	0	0	4	
			Pv	0	2	0	2	
			Im	0	0	1	1	
		Giemsa	Pf	4	0	0	4	
			Pv	0	1	1	2	
			Im	0	0	1	1	
5.000	Gota gruesa	Modificada de Romanowsky		Pf	3	0	0	3
				Pv	0	1	0	1
				Im	0	0	1	1
		Giemsa		Pf	3	0	0	3
				Pv	0	1	0	1
				Im	0	0	1	1
	Gota gruesa combinada	Modificada de Romanowsky	Pf	3	0	0	3	
			Pv	0	1	0	1	
			Im	0	0	1	1	
		Giemsa	Pf	3	0	0	3	
			Pv	0	1	0	1	
			Im	0	0	1	1	
10.000	Gota gruesa	Modificada de Romanowsky		Pf	1	0	0	1
				Pv	0	1	0	1
				Im	0	0	1	1
		Giemsa		Pf	1	0	0	1
				Pv	0	1	0	1
				Im	0	0	1	1
	Gota gruesa combinada	Modificada de Romanowsky	Pf	1	0	0	1	
			Pv	0	1	0	1	
			Im	0	0	1	1	
		Giemsa	Pf	1	0	0	1	
			Pv	0	1	0	1	
			Im	0	0	1	1	
Total de láminas					48	20	20	88

Pf: *Plasmodium falciparum*; Pv: *Plasmodium vivax*; Im: infección mixta

de malaria a nivel nacional. De manera ciega, se hizo la lectura microscópica para identificar la especie y hacer el conteo parasitario. Las láminas discordantes fueron revisadas por un tercer lector experto. Los resultados fueron consolidados en una base de datos, para hacer los análisis estadísticos.

### **Análisis estadístico**

El análisis del estudio comprendió tres etapas: concordancia entre observadores, con el fin de establecer la concordancia de los dos observadores en el diagnóstico de la especie parasitaria; prueba de hipótesis de comparación de dos muestras,

para establecer las diferencias en los recuentos parasitarios de los dos observadores, y análisis de varianzas (ANOVA) a dos factores, tomando como variable de respuesta el recuento parasitario.

**1. Concordancia entre observadores.** Se evaluó la precisión de dos microscopistas para identificar las especies parasitarias de cada una de las muestras. El grado de concordancia se midió con el índice kappa de Cohen, con un nivel de confianza del 95 % e intervalos de confianza definidos, el cual corresponde a la proporción de concordancias observadas sobre el total de observaciones, habiendo excluido las concordancias atribuibles al azar (15).

El coeficiente kappa ( $\kappa$ ) toma valores entre 0 y 1; mientras más cercano a 1, mayor es el grado de concordancia entre observadores. Por el contrario, un valor de  $\kappa=0$  refleja que la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa, exclusivamente, del azar. La escala de interpretación usada para el índice kappa, según Landis y Koch, es la siguiente: concordancia pobre, 0,00; leve, entre 0,01 y 0,20; aceptable, entre 0,21 y 0,40; moderada, entre 0,41 y 0,60; considerable, entre 0,61 y 0,80, y casi perfecta, entre 0,81 y 1,00 (16)

Se calculó el índice kappa para valorar el acuerdo de los dos lectores, indistintamente de los tratamientos factoriales donde se presentara la valoración, con el fin de garantizar que los profesionales de laboratorio tenían las competencias para desarrollar el proceso posterior del experimento.

Se plantearon las siguientes hipótesis, bajo un nivel de significación del 5 %:

$H_0$ : no existe concordancia en la especie parasitaria entre los observadores.

$H_1$ : existe concordancia en la especie parasitaria entre los dos observadores.

**2. Prueba de hipótesis de comparación de dos muestras.** Su objetivo fue comprobar si los conteos de cada uno de los dos microscopistas eran significativamente diferentes, partiendo del hecho de que las condiciones de estudio eran dependientes, pues se estaba midiendo la misma muestra dos veces, lo que sugiere una prueba de hipótesis de diferencia de medias pareadas. Por tanto, se plantearon las siguientes hipótesis:

$H_0$ : no existe una diferencia significativa en el recuento de las dos muestras provenientes de las poblaciones de estudio.

$H_1$ : existe una diferencia significativa entre las dos muestras.

El valor estadístico de contraste fue:

$$T_0 = \frac{\bar{y} - 0}{\hat{S}_y / \sqrt{n}}$$

Para los recuentos parasitarios no se cumplen los supuestos de normalidad ni de homocedasticidad. Además, se identificaron algunos valores atípicos (*outliers*) que afectan los cálculos estadísticos, por lo que se debieron usar pruebas no paramétricas de comparación de dos muestras por medio de la diferencia de medianas, la U de Mann-Whitney (prueba de suma de rangos de Wilcoxon) (17).

Por medio de esta prueba, se planteó el siguiente juego de hipótesis para evaluar si las medianas entre estas dos muestras eran iguales o diferentes:

$H_0$ : no existe una diferencia significativa entre las medianas de los recuentos parasitarios de los dos observadores.

$H_1$ : existe una diferencia significativa entre estas medianas.

**3. Análisis de varianzas (ANOVA).** Se desarrollaron pruebas de comparación múltiple en términos de los recuentos parasitarios. Existen dos factores asociados a este estudio: la metodología de elaboración (GG: gota gruesa; GG combinada: gota gruesa más extendido) y el método de coloración (F: modificado de Romanowsky; G: Giemsa), con una segmentación de los grupos de estudio de interés, que son los recuentos parasitarios (500, 1.000, 5.000 y 10.000 parásitos/ $\mu$ l). Se hizo la comparación para establecer si era más factible la visualización de los parásitos en casos de bajas parasitemias, teniendo una o dos gotas gruesas para examinar.

Con base en lo anterior, se llevó a cabo un análisis de varianza a dos vías para todas las posibles comparaciones de coloración con las dos metodologías usadas (gota gruesa y gota gruesa más extendido), según la coloración (modificada de Romanowsky y Giemsa).

Para el análisis multivariado ANOVA de dos factores, y tomando como variable de respuesta el recuento parasitario, se hicieron los respectivos cálculos para todas las posibles comparaciones de coloración con los dos métodos usados, según la coloración y la variable del resultado del conteo parasitario.

## Resultados

Se analizaron 88 láminas así: 28 láminas con recuento de 500 parásitos por  $\mu\text{l}$  de sangre, 28 con 1.000, 20 con 5.000, y 12 con 10.000.

Con el coeficiente kappa de Cohen, la concordancia entre observadores fue de 0,923 (IC<sub>95%</sub> 0,768-1,000), la cual se interpreta como una concordancia casi perfecta para identificar la especie. Hubo concordancias entre el observador 1 y el observador 2 en, al menos, el 95 % de los casos, lo cual indica una buena concordancia entre evaluadores (cuadro 2). Se presentaron cuatro casos de discordancia en especie, en los cuales el lector 1 diagnosticó erróneamente *P. vivax* mientras el lector 2 diagnosticó infección mixta (cuadro 1).

Al analizar los casos discordantes por grupos de láminas según el conteo parasitario, se observó que los desacuerdos se presentaron en cuatro tratamientos distintos, cuyas principales características eran el uso del colorante de Giemsa y un conteo parasitario de 500 y 1.000 por  $\mu\text{l}$ , independientemente del tipo de metodología empleada, pues ocurrieron tanto en gota gruesa como gota gruesa combinada.

Se pudo establecer que los conteos no se distribuían en forma normal, por lo que se eligió la prueba no paramétrica de comparación de dos muestras por medio de la diferencia de medianas con la prueba U de Mann-Whitney.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de las parasitemias ( $p=0,594$ ).

Para todos los conteos parasitarios se observó que, como ningún valor de  $p$  fue menor de 0,05, ninguno de los factores (A, coloración, o B, metodología) o sus interacciones (AB) tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre las láminas, con un 95,0 % de nivel de confianza (cuadro 3).

## Discusión

Al establecer el grado de concordancia entre observadores para identificar la especie parasitaria, se obtuvo un coeficiente kappa de 0,923 (IC<sub>95%</sub> 0,768-1,0) que permite confirmar que existe concordancia casi perfecta entre los dos observadores.

La variación del observador está relacionada con su entrenamiento, formación y capacidad. Esta variación puede ser del observador (respecto de sí mismo) respecto de un estándar (prueba estándar) o entre observadores, y se puede medir por medio de la concordancia alcanzada al examinar y clasificar una serie de elementos. Dicho valor estuvo influenciado por cuatro discordancias de especie entre los observadores, en las cuales el lector 1 diagnosticó erróneamente los cuatro casos como *P. vivax*, mientras el observador 2 los consideró positivos para infección mixta, siendo este último el diagnóstico real.

**Cuadro 2.** Tabla de contingencia de concordancias en general

		Lector 2			Total
		Infección mixta	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	
Lector 1	Infección mixta	n	12	0	12
		%	13,6	0,0	13,6
	<i>P. falciparum</i>	n	0	48	48
		%	0,0	54,5	54,5
	<i>P. vivax</i>	n	4	0	28
		%	4,5	0,0	27,3
Total	n	16	48	88	
	%	18,2	54,5	27,3	

**Cuadro 3.** Análisis de varianza por carga parasitaria según efecto e interacción

Efecto	Parasitemia (parásitos/ $\mu\text{l}$ ) 500		Parasitemia (parásitos/ $\mu\text{l}$ ) 1.000		Parasitemia (parásitos/ $\mu\text{l}$ ) 5.000		Parasitemia (parásitos/ $\mu\text{l}$ ) 10.000	
	Razón F	p	Razón F	p	Razón F	p	Razón F	p
A. Coloración	1,13	0,0730	0,07	0,7897	0,04	0,8462	1,65	0,2354
B. Metodología	0,96	0,3365	0	0,9940	0	0,9513	0,15	0,7131
Interacción AB	0,62	0,4376	0,11	0,7453	0,05	0,8296	0,07	0,7929

Llama la atención que estos casos se presentaron en el tratamiento de láminas coloreadas con Giemsa y con un conteo parasitario de 500 y 1.000 por  $\mu\text{l}$  (cuadro 1). Esta discordancia pudo deberse a la presencia de precipitado y acidez en las láminas coloreadas con Giemsa, evidenciada durante la lectura por parte por los microscopistas. Este aspecto, sumado a la baja parasitemia presente en la muestra, pudo ocasionar una mayor dificultad para observar los estadios asexuados de *P. falciparum*, lo cual dificulta el diagnóstico de infección mixta (18).

Respecto al factor de la coloración, es importante destacar los hallazgos de diversos estudios en los cuales se menciona la poca sensibilidad del diagnóstico microscópico empleando la coloración de Giemsa en casos de escasa parasitemia (100, 500 y 1.000 parásitos/ $\mu\text{l}$ ) (19,20), lo que no sucedió en este estudio piloto. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la coloración puede influir en forma negativa en la identificación parasitaria cuando la parasitemia es escasa, por lo cual se sugiere seguir empleando la metodología estandarizada y utilizada desde hace más de 15 años, y recomendada a nivel nacional, hasta que se hagan estudios más sólidos que justifiquen el cambio a la metodología recomendada por la OPS; debe aclararse que no existe falta de estandarización de la técnica de lectura entre observadores, lo que se evidencia en la experiencia de más de 10 años en la lectura de láminas de malaria y en los resultados de concordancia entre observadores de 0,923 ( $IC_{95\%}$  0,768-1,0).

Los resultados de este estudio piloto permiten concluir, en términos de significancia estadística, que las dos coloraciones evaluadas son adecuadas para el diagnóstico de malaria. Sin embargo, el análisis permite concluir técnicamente que la coloración acuosa modificada de Romanowsky, usada de manera rutinaria en Colombia desde los años 90, demuestra un buen desempeño en la actividad diagnóstica de la enfermedad.

Al momento de establecer la coloración modificada de Romanowsky como recomendación nacional, se destacan los aspectos técnicos adecuados de coloración, como pH y ausencia de hemoglobina, así como ausencia de contaminación y precipitados de colorante. Por otra parte, algunos aspectos que se deben tener en cuenta para garantizar el buen funcionamiento y calidad de la coloración de Giemsa, son evitar la evaporación, la oxidación por humedad elevada y la agitación del colorante,

ya que los precipitados asentados en el fondo del envase pueden desmejorar la calidad de la tinción y ocultar detalles importantes durante el examen microscópico (7).

Además, en la técnica de coloración de Giemsa sugerida por la OPS, no se utiliza el procedimiento de precoloración de Walker, lo que disminuye el contraste de colores de los parásitos y la homogeneidad del fondo de la gota gruesa (21), ya que el azul de metileno fosfatado, no solo contribuye a la lisis de los glóbulos rojos, sino que mejora el contraste de los colores y la uniformidad del fondo de lectura de la gota gruesa.

Por otro lado, como los sitios de diagnóstico de malaria se localizan principalmente en zonas rurales, de difícil acceso y bajo las condiciones óptimas de humedad relativa (60 %) y temperatura (20 a 30 °C) para la transmisión de la enfermedad (5,8), se dificulta garantizar las condiciones ideales para la coloración de Giemsa sugerida a nivel internacional. Además, en las zonas endémicas para la enfermedad, el diagnóstico lo hacen voluntarios, líderes comunitarios o personal técnico, y no profesionales, situación que supone mayores esfuerzos para mantenerlos capacitados y actualizados (5).

Otro aspecto es que la tinción modificada de Romanowsky requiere una fase previa con el método de Walker, el cual complementa la pérdida de la hemoglobina y proporciona un fondo blanco y claro que facilita la diferenciación de la especie de *Plasmodium*, pues permite observar los colores y formas características del parásito en muestras con un bajo conteo parasitario. Por ende, mejora la observación microscópica de las láminas coloreadas, en comparación con la técnica clásica de Giemsa (21). Las coloraciones acuosas, como la de Field y la modificada de Romanowsky, resultan más eficientes en lugares cálidos ya que no absorben la humedad del ambiente, como sí lo hacen la coloración de Giemsa y la de Wright (alcohólicas). Además, gracias a su sencillez y rapidez, la coloración modificada de Romanowsky es la elegida por los laboratorios de los hospitales tropicales que analizan gran número de muestras (22).

En este estudio, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las metodologías evaluadas para preparar las láminas. Sin embargo, teniendo en cuenta los aspectos técnicos y operativos, se considera que la gota gruesa conformada por dos gotas de sangre en una lámina,

en forma independiente del extendido, sigue siendo la metodología apropiada para las condiciones de los puestos de diagnóstico en Colombia, porque es sencilla, económica y rápida.

Bajo condiciones óptimas, la sensibilidad de la gota gruesa es superior al 95 %, con una detección de 10 a 30 parásitos por  $\mu\text{l}$  de sangre, lo que equivale, aproximadamente, a 0,001 % de los glóbulos rojos infectados (23,24). Además, en la gota gruesa se concentra aproximadamente 20 a 30 veces el número de capas de glóbulos rojos, y se considera, al menos, 15 veces más sensible que el extendido; esto es así en virtud de la mayor cantidad de sangre por área examinada y porque, estando los parásitos libres, es posible visualizar más parásitos por área que en la misma muestra examinada mediante extendido.

Por su lado, el extendido de sangre periférica se prepara con un volumen menor de sangre que la gota gruesa, y se utiliza principalmente para determinar la especie infectiva de *Plasmodium* o cuando hay dudas sobre las especies, lo cual hace del extendido delgado una prueba más específica (25).

La idea de unir ambas metodologías en una sola lámina, gota gruesa más extendido, podría disminuir la sensibilidad del diagnóstico pues solo se contaría con una gota concentrada de sangre y no permitiría observar los 500 campos microscópicos, lo cual es un criterio internacional de la OPS para considerar una lámina negativa para parásitos (18).

Por último, entre las limitaciones del presente estudio piloto está el número limitado de muestras. Por esta razón, se sugiere ampliar la investigación teniendo en cuenta otros aspectos, como el costo-efectividad, la logística de distribución, las condiciones ambientales y los aspectos técnicos, con el fin de reunir evidencia para que la OMS/OPS considere ampliar los criterios sobre las metodologías de preparación de láminas y el uso de diversas coloraciones derivadas de la de Romanowsky para gotas gruesas y extendidos, teniendo en cuenta los aquí sugeridos. Además, se quiso determinar si era factible visualizar los parásitos en casos de baja parasitemia, teniendo una o dos gotas gruesas para examinar.

Por lo anterior, y considerando que las bajas parasitemias son de gran interés debido a que cada vez son más frecuentes, sobre todo a medida que la incidencia de la enfermedad disminuye, se sugiere emplear parasitemias desde 16 parásitos por  $\mu\text{l}$  de sangre.

## Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento a Gabriela Rey y Wilmer Marquino de la Organización Panamericana de la Salud (OPS-OMS), y a los contratistas de la OPS Olga Lucía Ospina y César Augusto Serna, por todos sus valiosos aportes a este estudio, y también, al personal del Hospital San José de Tadó, a la Secretaría de Salud de Tadó, a la Secretaría de Salud de Quibdó y al Laboratorio de Salud Pública del Chocó.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que, durante las etapas de recolección de la información y análisis de los datos, no incurrieron en conflictos de intereses que hubieran podido afectar los resultados.

## Financiación

Los recursos económicos necesarios para el desarrollo del presente estudio, fueron aportados por la Organización Panamericana de la Salud y el Instituto Nacional de Salud.

## Referencias

1. **Instituto Nacional de Salud.** Protocolo para la Vigilancia en Salud Pública de Malaria. Subdirección de Vigilancia y Control en Salud Pública. PRO-R02-021. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2014. p. 1.
2. **Instituto Nacional de Salud.** Programa de evaluación externa del desempeño (PEED) para malaria del Grupo de Parasitología. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2015. p. 3.
3. **Instituto Nacional de Salud.** Boletín Epidemiológico Semanal. SiviGila, semana 52 de 2015. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2015. p. 35-36.
4. **Mendoza NM, Nicholls RS, Olano VA, Cortés LJ.** Manual de manejo integral de malaria. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2000. p. 88-89.
5. **Ospina OL, Cortés LJ, Cucunubá ZM, Mendoza NM, Chaparro P.** Caracterización de la Red Nacional de Diagnóstico de Malaria, Colombia, 2006-2010. *Biomédica*. 2012;32(Supl.1):46-57. <https://doi.org/10.1590/S0120-41572012000500007>
6. **Organización Panamericana de la Salud.** Guía para la reorientación de los programas de control de la malaria con miras a la eliminación. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2011. p. 3.
7. **Organización Mundial de la Salud.** Bases del diagnóstico microscópico del paludismo. Segunda edición. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2014.
8. **Servicio Nacional de Erradicación de Malaria (SNEM), Red Amazónica de Vigilancia de la Resistencia a las Drogas Antimaláricas (RAVREDA).** Manual Operativo Estándar para la Gestión del Diagnóstico Microscópico de *Plasmodium*. Quito: RAVREDA; 2008. p. 26-30.
9. **Organización Panamericana de la Salud.** Taller de capacitación y certificación de microscopistas para países de la región de las Américas. México, D.F.: OPS; 2016. p. 39-43.

10. **Pan American Health Organization.** Malaria in the Americas. PAHO Bull. 1996;17:1-8.
11. **López-Antuñano FJ, Schmunis G.** Diagnóstico microscópico de los parásitos de la malaria en la sangre. En: López-Antuñano FJ, Schmunis G, editores. Diagnóstico de malaria. Publicación científica 512. Washington, D.C.: OPS-OMS; 1988. p. 39-50.
12. **Ohr C, Prudhomme O'Meara W, Remich S, McEvoy P, Ogutu B, Mtalib R, et al.** Pilot assessment of the sensitivity of the malaria thin film. Malar J. 2008;28:7:22. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-22>
13. **Fernando SD, Ithalamulla RL, Wickremasinghe R, de Silva NL, Thilakarathne JH, Wijeyaratne P, et al.** Effects of modifying the World Health Organization standard operating procedures for malaria microscopy to improve surveillance in resource poor settings. Malar J. 2014;13:2-8. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-98>
14. **Ugah UI, Alo MN, Owolabi JO, Okata-Nwali OD, Ekejindu IM, Ibeh N, et al.** Evaluation of the utility value of three diagnostic methods in the detection of malaria parasites in endemic area. Malar J. 2017;16:189. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1838-4>
15. **Cohen J.** A coefficient of agreement for nominal scales. Educational and Psychological Measurement. 1960;20:37-46.
16. **Landis JR, Koch GG.** The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics. 1977;33:159-74.
17. **Rivas-Ruiz R, Moreno-Palacios J, Talavera J.** Diferencias de medianas con la U de Mann-Whitney. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2013;51:414-9.
18. **Ministerio de Salud y Protección Social, Organización Panamericana de la Salud, Instituto Nacional de Salud.** Guía para la atención clínica integral del paciente con malaria. Bogotá: MSPS, OPS e INS; 2010. p. 79-80.
19. **Mohapatra S, Ghosh A, Singh R, Singh DP, Sharma B, Samantaray JC, et al.** Hemozoin pigment: An important tool for low parasitemic malarial diagnosis. Korean J Parasitol. 2016;54:393-7. <https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.4.393>
20. **Bejon P, Andrews L, Hunt-Cooke A, Sanderson F, Gilbert SC, Hill AV, et al.** Thick blood film examination for *Plasmodium falciparum* malaria has reduced sensitivity and underestimates parasite density. Malar J. 2006;5:104. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-5-104>
21. **Iannacone JA, Caballero C, Rentería JA.** La técnica de precoloración de Walker para evaluar *Plasmodium vivax* Grassi y *Plasmodium malariae* Laveran en comunidades Ashaninkas en Satipo (Junín, Perú). Revista Peruana de Biología. 1999;6:171-80.
22. **World Health Organization.** Malaria microscopy. Quality assurance. Manual, Version 2. Geneva: World Health Organization; 2016. p. 22.
23. **Perandin F, Manca G, Piccolo A, Calderaro A, Galati L, Ricci L, et al.** Identification of *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae* and detection of mixed infection in patients with imported malaria in Italy. New Microbiol. 2003;26:91-100.
24. **Campuzano-Zuluaga G, Blair-Trujillo S.** Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico. Medicina y Laboratorio. 2010;16:311-54.
25. **Parsel SM, Gustafson SA, Friedlander E, Shnyra AA, Adegbulu AJ, Liu Y, et al.** Malaria over-diagnosis in Cameroon: Diagnostic accuracy of fluorescence and staining technologies (FAST) malaria stain and LED microscopy versus Giemsa and bright field microscopy validated by polymerase chain reaction. Infect Dis Poverty. 2017;6:32. <https://doi.org/10.1186/s40249-017-0251-0>

ARTÍCULO ORIGINAL

## Efectividad de las intervenciones para la transferencia y apropiación social del conocimiento de las guías de práctica clínica para pacientes y comunidad, una revisión sistemática

Nathaly Garzón-Orjuela<sup>1,2</sup>, Javier Eslava-Schmalbach<sup>1,2</sup>, Nathalie Ospina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Equidad en Salud, Hospital Universitario Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Centro de Desarrollo Tecnológico, Sociedad Colombiana de Anestesiología y Reanimación, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** Las intervenciones de transferencia y apropiación social del conocimiento contribuyen a una adecuada propagación del conocimiento, y podrían implementarse de manera rutinaria para mejorar el cumplimiento de las guías de práctica clínica.

**Objetivo.** Evaluar la efectividad de las intervenciones de transferencia y apropiación social del conocimiento de las guías de práctica clínica para mejorar su cumplimiento en los pacientes y la comunidad.

**Materiales y métodos.** Se hizo una revisión sistemática de las intervenciones de transferencia y apropiación social del conocimiento comparadas con las intervenciones clásicas en los pacientes y la comunidad. Se hizo una búsqueda hasta abril de 2017 en Medline (Ovid), Embase, Scopus, Central (Ovid®), Web of Science, LILACS, Academic Search y Scielo. Dos evaluadores independientes calificaron el riesgo de sesgo y la calidad de la evidencia de los estudios incluidos.

**Resultados.** Se incluyeron ocho estudios. El cumplimiento de las recomendaciones se reportó en dos de ellos. Hubo una gran heterogeneidad en los estudios debido a la variabilidad en la población, el tipo de guía de práctica clínica y las herramientas de medición. El riesgo de sesgo fue alto: 60 % de sesgo de desempeño; 50 % de desgaste; 25 % de selección y reporte, y cerca de 15 % de detección. La calidad de la evidencia fue moderada para el cumplimiento y la mortalidad reportados. Las intervenciones que combinaban estrategias a cargo de grupos de profesionales de salud mejoraron algunos de los resultados clínicos en los pacientes (desviación media, DM=-3,00; IC<sub>95%</sub>: -6,08 a 0,08).

**Conclusiones.** En las intervenciones a corto plazo se evidenció un leve efecto a favor en el cumplimiento, y en las mixtas (para pacientes y profesionales), en algunos resultados clínicos. Sin embargo, se requieren nuevos estudios con menos heterogeneidad para confirmar estos resultados.

**Palabras clave:** guías de práctica clínica como asunto; transferencia de experiencia; conocimiento, pacientes; participación de la comunidad.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3991>

### Effectiveness of knowledge translation and knowledge appropriation of clinical practice guidelines for patients and communities, a systematic review

**Introduction:** Knowledge translation and knowledge appropriation social interventions apply knowledge to improve health services and outcomes. These interventions can be implemented routinely to improve patient adherence to clinical practice guidelines.

**Objective:** To assess the effectiveness of knowledge translation interventions to improve patient and community adherence to clinical practice guidelines.

**Materials and methods:** We performed a systematic review of these interventions compared with classical interventions for patients and/or communities. We searched the following electronic databases up to April 2017: Medline (Ovid), Embase, Scopus, Central (Ovid), Web of Science, LILACS, Academic Search, and Scielo. Two independent raters qualified the relevance, risk of bias, and quality of included studies.

**Results:** Eight studies were included. Patient adherence to recommendations was observed in two studies. There was high heterogeneity due to the variability of the population, types of guidelines, and

#### Contribución de los autores:

Nathaly Garzón-Orjuela: escritura del protocolo, búsqueda de literatura y selección de títulos

Javier Eslava-Schmalbach: escritura del protocolo

Nathalie Ospina: selección de títulos

Todos los autores participaron en la evaluación del sesgo de riesgo, la calidad de la evidencia y la escritura del manuscrito.

types of measurement tools. The risk of bias was high: a 60% risk of performance bias, 50% risk of attrition bias, 25% risk of selection and reporting bias, and 15% risk of detection bias. The quality of evidence was moderate for the outcomes of adherence and mortality. The interventions that used a combination of strategies, such as with the group of health professionals, could improve some clinical outcomes in the patients (Average deviation: -3.00; 95% IC: -6.08-0.08).

**Conclusions:** Knowledge translation interventions might have a slight positive effect on patient adherence and some short-term clinical outcomes, particularly within mixed interventions (patients and health professionals). However, future studies with less heterogeneity are necessary to confirm these results.

**Key words:** Practice guidelines as topic; transfer; knowledge; patients; community participation.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3991>

Las guías de práctica clínica fueron definidas en el 2011 como un “conjunto de recomendaciones basadas en una revisión sistemática de la evidencia, la evaluación de los riesgos y beneficios de las diferentes alternativas, con el objetivo de optimizar la atención sanitaria a los pacientes” (1). En un estudio de Cabana, *et al.*, se detectaron barreras para el cumplimiento de las guías de práctica clínica por parte de los profesionales de la salud, como la falta de conocimiento o familiaridad con la guía, la poca aceptación de las recomendaciones, las bajas expectativas con respecto al resultado, la resistencia al cambio y las barreras de comportamiento (falta de tiempo), que pueden afectar la adecuada implementación de las guías de práctica clínica (2).

La elaboración y el uso de las guías de práctica clínica han tenido un incremento considerable en los últimos 10 años: en el 2006 había más de 2.000 nuevas guías registradas (3), y ya en el 2017 el registro había aumentado a más de 5.000 (4), es decir, se elaboraron 10.000 guías basadas en la evidencia en las últimas dos décadas.

Mathew, *et al.*, hicieron una síntesis de revisiones sistemáticas orientadas a evaluar la efectividad de las estrategias de implementación de las guías clínicas, y encontraron 33 que involucraron a 22.512 profesionales de la salud (5). Encontraron que de las 19 estrategias de implementación, las más efectivas fueron las intervenciones multifacéticas, las organizacionales y los encuentros educativos interactivos, aunque no se observó una medida de efecto global de las intervenciones (5). Solamente una de las intervenciones estaba diseñada para influir en el comportamiento del profesional de la salud mediante la información proporcionada

a los pacientes. Sin embargo, la calidad de este estudio era deficiente y no fue posible determinar la efectividad de la intervención (6).

### Descripción de las intervenciones

La apropiación social del conocimiento se define como “la democratización del acceso y el uso del conocimiento científico y tecnológico como estrategia para su adecuada transferencia y aprovechamiento entre los distintos actores sociales, que derivará en el mejoramiento de la calidad de vida de las comunidades y sus integrantes” (7).

El constructo de la apropiación social del conocimiento incluye las estrategias de transferencia de conocimiento definidas como “un proceso dinámico e iterativo que incluye la síntesis, diseminación, intercambio y la aplicación éticamente sólida del conocimiento. Es un sistema complejo de interacciones entre investigadores y usuarios del conocimiento que pueden variar en intensidad, complejidad y nivel de participación en función de la naturaleza de la investigación y los resultados, así como las necesidades de los usuarios del conocimiento en particular” (8).

En un análisis temático de la literatura del 2009, se encontraron 28 modelos que explicaban el proceso completo o parcial de transferencia del conocimiento, los cuales tenían cinco componentes en común: 1) la detección y la comunicación de problemas; 2) el desarrollo y la selección del conocimiento o la investigación; 3) el análisis de contexto; 4) las actividades de transferencia de conocimiento o intervenciones, y 5) la utilización del conocimiento o la investigación. Además, se encontraron tres tipos de procesos de transferencia de conocimiento: lineal, cíclico y dinámico “multidireccional” (9).

En general, la mayoría de los modelos de transferencia de conocimiento son dinámicos, iterativos y de múltiples dimensiones, e involucran diferentes actores e intervenciones (10-13). Graham, *et*

Correspondencia:

Nathaly Garzón-Orjuela, carrera 111 A N° 20 B 07, Bogotá, D.C., Colombia.

Celular: 311 534 5256

[ngarzono@unal.edu.co](mailto:ngarzono@unal.edu.co)

Recibido: 25/07/17; aceptado: 26/10/17

al., propusieron un marco de análisis conocido como el modelo de conocimiento-acción, el cual se ha convertido en el referente para analizar y reflexionar sobre los procesos en salud (10). Este modelo incorpora la creación y acción del conocimiento, lo cual implica la investigación, la síntesis y las herramientas de conocimiento, así como los productos (10,14).

La efectividad de las intervenciones para lograr el adecuado cumplimiento de las guías de práctica clínica en pacientes y en la comunidad es poca. La información disponible está enfocada principalmente a los profesionales de la salud. En este contexto, el objetivo de la presente revisión fue evaluar la efectividad de las intervenciones para la apropiación social y la transferencia del conocimiento de las guías de práctica clínica orientadas a mejorar su cumplimiento en los pacientes y la comunidad.

### **Materiales y métodos**

Se partió de la siguiente pregunta de investigación: ¿cuál es la efectividad de las intervenciones de apropiación social y transferencia de conocimiento de las guías de práctica clínica para mejorar su cumplimiento en los pacientes y la comunidad?

#### **Criterios de inclusión de estudios**

*Tipos de estudios.* Se incluyeron ensayos controlados aleatorizados, ensayos controlados aleatorizados en grupos y ensayos controlados no aleatorizados. Estos últimos incluyen los del tipo de antes y después, los estudios controlados de series de tiempo interrumpido y los ensayos controlados que utilizan estrategias inapropiadas de asignación al azar (estudios cuasi-aleatorizados) (15,16). Los estudios controlados de series de tiempo interrumpido se definen como aquellos con “un punto en el tiempo definido en el momento en que ocurrió la intervención y al menos tres puntos temporales en la recolección de los datos antes y después de la implementación de la intervención” (17).

*Tipos de población.* Pacientes y comunidades a quienes se dirige la guía de práctica clínica.

*Tipos de intervención.* La intervención clásica (guías para pacientes o para la comunidad o intervenciones usuales), así como otras intervenciones de transferencia de conocimiento comparadas solamente con la intervención clásica.

*Tipos de resultados.*

- Resultado primario: cumplimiento de las guías. Esta medición depende del contexto de las

recomendaciones, por ejemplo, cambios de comportamiento y actitudes ('autoeficacia' y confianza); asistencia a los programas y seguimiento de las recomendaciones, y tipo de regímenes prescritos por los médicos (medicamentos, dieta, ejercicio, cambios en el estilo de vida), entre otros (18).

- Resultados secundarios: resultados clínicos de los pacientes y conocimiento.

#### **Método de búsqueda de los estudios**

Se hizo una búsqueda exhaustiva de estudios publicados y no publicados hasta abril y marzo de 2017, inicialmente en la *Cochrane Database of Systematic Reviews* y en la *Database of Abstracts of Reviews of Effects* (DARE), con el fin de encontrar revisiones sistemáticas relacionadas y verificar que no se hubiera elaborado alguna revisión con el mismo enfoque.

*Búsqueda electrónica.* Esta se hizo en las siguientes bases de datos electrónicas: Medline (Ovid), Embase, Scopus, EBM Reviews - Cochrane Central Register of Controlled Trials (Ovid), Web of Science, LILACS, Academic Search Complete y Academic Search Premier, Scielo (anexo A: Estrategias de búsquedas).

*Búsqueda en otros recursos.* Se buscó en bases de datos de literatura gris para localizar estudios no publicados (Open Grey y Google Scholar), así como una búsqueda en “bola de nieve” en las listas de referencias de los estudios incluidos. Además, se contactó por correo electrónico a los autores de los estudios incluidos para inquirir sobre datos faltantes o plantear inquietudes con respecto a los estudios.

#### **Extracción de datos y análisis**

La selección de los estudios y la extracción de los datos (anexos B y C) fue realizada por dos autores independientes. Inicialmente se evaluó la elegibilidad mediante los resúmenes y títulos de los artículos; en caso de desacuerdo, un tercer revisor ayudó a resolver las diferencias. Se excluyeron los estudios que no cumplían con los criterios de elegibilidad. Se obtuvo una copia del texto completo de los estudios potencialmente relevantes para evaluarlos nuevamente.

El riesgo de sesgo se evaluó empleando la herramienta de Cochrane (16). Para los estudios controlados de series de tiempo interrumpido, se tuvo en cuenta si la intervención había sido independiente, si se había especificado previamente la forma del

efecto de intervención, si era poco probable que la intervención afectara la recopilación de datos, si los datos estaban completos para cada medida de tiempo, y si el análisis estadístico había sido adecuado (19). Para la evaluación de la calidad de los datos de los resultados de los estudios incluidos se utilizó la herramienta *Grades of Recommendation, Assessment, Development and Evaluation* (GRADE) (20).

En cuanto a la medida del efecto del tratamiento, los resultados dicotómicos se informaron como proporciones y se trataron con base en sus relaciones de respuesta (razón de riesgo), en tanto que los resultados continuos se trataron con base en la diferencia de medias (DM). Estas medidas de comparación se reportaron con su respectivo intervalo de confianza (IC) de 95 %. Los cálculos se realizaron en el programa RevMan 5.3© y algunos de ellos se ilustraron mediante un diagrama de bosque (*forest plot*) sin diamante global.

La homogeneidad de los estudios se verificó con base en el tipo de estudio, el tipo de guías de práctica clínica, la población y el tipo de intervención. Posteriormente, se exploró la heterogeneidad estadística del resultado primario (cumplimiento) en los grupos, conformado por las medidas de seguimiento, mediante el uso de las pruebas de I y ji al cuadrado. Sin embargo, esta evaluación cuantitativa de la heterogeneidad no fue posible debido a los pocos estudios incluidos para cada resultado, por lo que, en su lugar, se hizo una descripción cualitativa de las fuentes potenciales de heterogeneidad.

Debido a las diferencias de los tipos de guías, de las poblaciones de pacientes, y a la gran heterogeneidad, no fue posible hacer un análisis por subgrupos, ni tampoco de sensibilidad, lo que impidió explorar el sesgo de reporte mediante el uso de un gráfico de túnel (*funnel plot*).

Se obtuvieron todos los permisos de uso de las diferentes bases de datos y buscadores para la revisión sistemática, y el estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia (acta N°006-041-16).

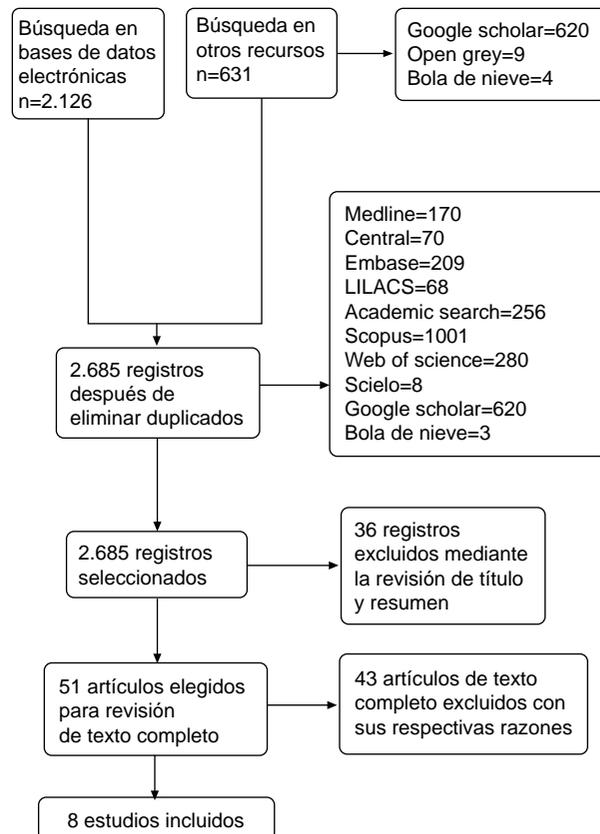
**Resultados**

**Descripción de los estudios**

La búsqueda electrónica y mediante otros recursos arrojó un total de 2.757 estudios. Después de la tamización utilizando los títulos y resúmenes, se evaluó el texto completo de 51 estudios, de

los cuales se excluyeron 43. Las razones de exclusión fueron las siguientes: 1) resultados de presentaciones en cartel u orales en congresos; 2) estudios en estado inicial; 3) estudios de protocolo; 4) población objetivo diferente; 5) estudios cualitativos; 6) intervenciones no relacionadas con las de interés, y 7) intervenciones dirigidas a profesionales de la salud, aunque se incluyeron resultados en los pacientes (anexo B, figura 1).

Se encontraron ocho investigaciones que cumplieran con los criterios de inclusión (figura 1): un estudio aleatorizado en grupos (21); un estudio aleatorizado controlado multicéntrico (22); un estudio aleatorizado simple ciego (23,24); tres estudios de antes y después (25-27); un estudio factorial controlado aleatorizado en grupos (2 x 2) (28), y un estudio aleatorizado de serie de tiempo interrumpido en grupos (29). Es importante aclarar que entre los estudios clasificados en la categoría de antes y después, uno (27) se presentaba como un estudio de series de tiempo o medidas repetidas, pero no se ajustaba a la definición de este tipo de estudio adoptada para esta revisión (17).



**Figura 1.** Diagrama de flujo (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*, PRISMA©) de los estudios

La descripción general de los estudios incluidos se detalla en el cuadro 1. Algunos de estos estudios incluyeron, además, a otros grupos de población: el de Narayanaswami, *et al.*, en el cual se incluyó a médicos neurólogos (n=1.680) con experiencia en esclerosis múltiple, aunque los resultados de este grupo fueron independientes de los del grupo de pacientes; en el de Svetkey, *et al.*, se incluyeron 24 médicos de medicina interna o familiar, los cuales se dividieron en un grupo de intervención y un grupo de control, y los resultados se reportaron conjuntamente con los del grupo de pacientes.

### Descripción de la intervención

En todos los estudios incluidos se detallaban las intervenciones relacionadas con la transferencia de conocimiento. Solamente en dos de ellos se especificó y se definió la intervención de interés exactamente con el nombre de *Knowledge Translation* o como *Knowledge transfer* (23,25). En el

cuadro 2 se presentan las intervenciones de cada estudio y la información más detallada se presenta en el anexo C.

### Descripción de los resultados

**Resultados primarios.** Dos de los estudios midieron el cumplimiento de las recomendaciones de las guías. En el estudio de Beune, *et al.*, se estimó la diferencia de medias del cumplimiento de las recomendaciones sobre estilos de vida y la medicación, y del no cumplimiento en la toma de la medicación mediante la diferencia de proporciones.

En el estudio de Brosseau, *et al.*, se evaluó el incremento del cumplimiento de la intervención a corto y a largo plazo cada tres meses en los tres grupos de comparación hasta completar 12 meses.

**Resultados secundarios.** En los estudios de Thomson, *et al.*, Brosseau, *et al.* y Narayanaswami, *et al.*, se registró como resultado el cambio en el conocimiento valorado mediante cuestionarios o escalas

**Cuadro 1.** Descripción general de los estudios incluidos

	Unidad de aleatorización	Unidad de análisis	Tipo de guía de práctica clínica	Tiempo de seguimiento
Beune, <i>et al.</i>	Grupo	Individual	Guía para el manejo de riesgo cardiovascular (30)	6 meses
Rycroft-Malone, <i>et al.</i>	Grupo	Grupo	Guías de ayuno perioperatorio para el adulto (31)	Cuatro medidas de recolección de datos previas y posteriores a la intervención; la duración de la intervención fue de 6 meses
Brosseau, <i>et al.</i>	Individual	Individual	Guías para programas de caminata para el tratamiento de la osteoartritis (32)	3,6,9,12 y 18 meses
Fan, <i>et al.</i>	Individual	Individual	Guías para el manejo de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) en pacientes ambulatorios (33)	12 meses
Thomson, <i>et al.</i>	Individual	Individual	Guía de terapia contra la trombosis (34)	Una medición previa y otra posterior a la intervención y un seguimiento mediante el envío de un cuestionario 3 meses después de la intervención
Brosseau, <i>et al.</i> (2012a)	No se incluyó	Individual	Guías de ejercicios terapéuticos y terapia manual para el manejo de la osteoartritis y artritis reumatoide en adultos (35,36)	Una medición previa y otra posterior a la intervención y un seguimiento a los tres meses después de la intervención
Narayanaswami, <i>et al.</i>	Individual	Individual	Guía de medicina complementaria y alternativa para la esclerosis múltiple (37)	No se hizo seguimiento en los pacientes
Svetkey, <i>et al.</i>	Grupo	Individual	Guía de manejo y tratamiento de la hipertensión arterial sistémica (38)	6 y 18 meses

**Cuadro 2.** Descripción de las intervenciones de transferencia del conocimiento analizadas

Estudio	Intervención relacionada con transferencia del conocimiento		Intervención de control
	Número de intervenciones	Descripción	
Beune, <i>et al.</i>	Adaptación cultural en la educación sobre la hipertensión con base en las guías	Sesiones educativas, material escrito y educación en club de estilos de vida	Cuidado usual que consistía en la educación estándar recomendada por las guías
Rycroft-Malone, <i>et al.</i>	Consistió en dos intervenciones: 1. Diseminación estándar y un paquete educativo en sitio web basado en las guías y la opinión de un líder 2. Diseminación estándar y un paquete de las guías con un plan de acción ( <i>Plan-Do-Check-Act</i> , PDSA)	1. Recurso interactivo en sitio web, más herramientas de educación como pruebas y presentación de situaciones clínicas. Todos los recursos basados en la opinión de los líderes de los servicios. 2. Interacción entre los equipos de profesionales y el paciente, sesión de facilitación.	La diseminación estándar consistía en una copia impresa de las guías en versión para los pacientes.
Brosseau, <i>et al.</i>	Consistía en dos intervenciones: 1. Programa supervisado de caminata aeróbica basada en la comunidad ( <i>Supervised community-based aerobic walking program</i> , SCAWP) 2. Intervención de comportamiento acompañado con SCAWP (Caminata y conducta)	1. Sesiones progresivas de caminata aeróbica supervisada con especialistas y material educativo impreso 2. Las intervenciones anteriores y las de comportamiento consistían en sesiones educativas grupales.	Material educativo impreso de las recomendaciones de las guías 'autodirigido'.
Fan, <i>et al.</i>	Programas de gestión integral de atención	Sesiones educativas grupales e individuales por teléfono cada mes durante los primeros 3 meses y material escrito con las recomendaciones	Cuidado usual basado en las guías (información general escrita)
Thomson, <i>et al.</i>	Ayudas de decisión computarizadas ( <i>Decision aids</i> )	Presentación individualizada de los beneficios y daños del medicamento mediante gráficos y formatos numéricos	Recomendaciones directas del profesional de la salud a los pacientes mediante material escrito
Brosseau, <i>et al.</i>	Talleres facilitadores para educadores de pacientes	A cargo de profesionales de la salud para transmitir las recomendaciones	Talleres para los pacientes a cargo de los educadores de pacientes y material impreso
Narayanaswami, <i>et al.</i>	Diseminación a través de medios sociales	Plataformas de medios sociales como audio <i>podcast</i> , YouTube, Facebook, Twitter, LinkedIn	Tradicional consistente en materiales impresos, correos y medios de comunicación por internet
Svetkey, <i>et al.</i>	Pacientes: sesiones grupales Profesionales de la salud: módulos de capacitación en línea	Se conformaron tres grupos: 1. Pacientes y médicos objeto de la intervención 2. Pacientes objeto de la intervención y médicos que no lo eran. 3. Pacientes que no eran objeto de la intervención y médicos que sí lo eran	Se basaron en pacientes y médicos que no eran objeto de la intervención. Solamente se les ofrecía material impreso (cuidado usual)

diferentes: Brosseau, *et al.*, evaluaron la reducción de la tasa de deserción y el cambio de comportamiento; Thomson, *et al.*, midieron el conflicto en la adopción de decisiones por parte de los pacientes. Brosseau, *et al.*, y Narayanaswami, *et al.*, evidenciaron el uso de estrategias de autogestión, aunque mediante mediciones y reportes de datos diferentes.

Entre los resultados clínicos se encontró un cambio de por lo menos 10 mmHg y un cambio total en el tiempo de presión arterial sistólica, así como en el índice de masa corporal en el estudio de Beune, *et al.* En el de Fan, *et al.*, se registraron cambios en

el tiempo de la primera hospitalización, la mortalidad, el número de episodios de exacerbación y el estado general de salud; en el de Brosseau, *et al.*, en la morbilidad, los síntomas de la enfermedad, el estado funcional, el dolor y el funcionamiento físico; en el de Thomson, *et al.*, en la proporción del inicio del tratamiento y el nivel de ansiedad; en el estudio de Rycroft-Malone, *et al.*, se encontraron cambios en el tiempo promedio en horas de ayuno de líquidos y sólidos, y en el de Svetkey, *et al.*, en la presión sistólica, la proporción de pacientes con la presión arterial en el nivel recomendado, en la actividad física y en el peso corporal.

**Consideraciones económicas**

Solamente en el estudio de Rycroft-Malone, *et al.*, se tuvieron en cuenta los aspectos económicos, pues se incluyó un análisis de costos para el desarrollo e implementación de las tres intervenciones a nivel nacional.

**Enfoque de equidad**

Ninguno de los estudios estuvo dirigido a poblaciones en desventaja o vulnerables. Sin embargo, en el de Beune, *et al.*, se hizo una adaptación cultural de las recomendaciones para las poblaciones de origen africano (Surinam y Ghana) que viven en el sureste de Amsterdam (Países Bajos), utilizando un marco culturalmente sensible de la enfermedad de base para estas poblaciones (21).

**Marcos conceptuales para la implementación de las intervenciones**

En tres estudios se utilizó algún modelo conceptual para la implementación de las intervenciones: Beune, *et al.*, utilizaron dos modelos, el *Culturally-sensitive framework for eliciting a patient’s explanatory model of hypertension* y el de las 5 A (39,40); Brosseau, *et al.*, se basaron en el modelo de *Knowledge-To-Action Cycle* (10), y Rycroft-Malone, *et al.*, utilizaron como modelo de base el *The Promoting Action on Research Implementation in Health Services* (PARIHS) (41).

**Riesgo de sesgo de los estudios incluidos**

Se evidenció un gran riesgo de sesgo en los estudios, así: en 60 %, sesgo de desempeño o realización; en 50 %, sesgo de desgaste; en 25 %, sesgo de selección y reporte o notificación, y en cerca del 15 %, sesgo de detección (figura 2).

En la figura 3 se puede observar que de los dos estudios aleatorizados controlados (22,23), en el de Brosseau, *et al.* (2012) se registró un gran

riesgo de sesgo de reporte, debido a que no se especificó claramente el porqué de las variaciones de los datos incompletos (anexo C) (23,24).

El estudio de Rycroft-Malone, *et al.*, presentó un alto riesgo de sesgo, ya que no hubo cegamiento de la intervención y, aunque los autores señalaron que ello se debió a la naturaleza de la intervención, no discutieron las posibles consecuencias en los resultados del estudio. Además, los autores no describieron con claridad si la intervención no se había visto afectada por el cambio de las medidas de tiempo o si ello había podido afectar la recolección de los datos. Asimismo, el análisis de los datos de las series de tiempo no fue el adecuado, ya que promediaron las medidas previas y posteriores a la intervención, pero no mostraron los datos de la serie de tiempo separadamente, ni realizaron ningún tipo de ajuste por grupo.

**Calidad de la evidencia según GRADE**

Esta se valoró mediante la comparación de los resultados según los tipos de intervenciones. En lo relacionado con los resultados de cumplimiento, especialmente de las recomendaciones sobre estilos de vida y medicación (Beune, *et al.*), y el incremento del cumplimiento a corto y largo plazo (Brosseau, *et al.*), la evidencia se calificó como de calidad moderada. Otro de los resultados que obtuvo esta misma calificación fue el de mortalidad (Fan, *et al.*). En cuanto a los datos de otros resultados, en 14 de ellos la calidad fue baja y en 40, muy baja (anexo D).

**Efecto de la intervención**

Se observó una alta heterogeneidad debida, a que las guías iban dirigidas a poblaciones, tipos de enfermedades y tratamientos diferentes, ya que las intervenciones de transferencia del conocimiento, así como los tipos de estudio, diferían.

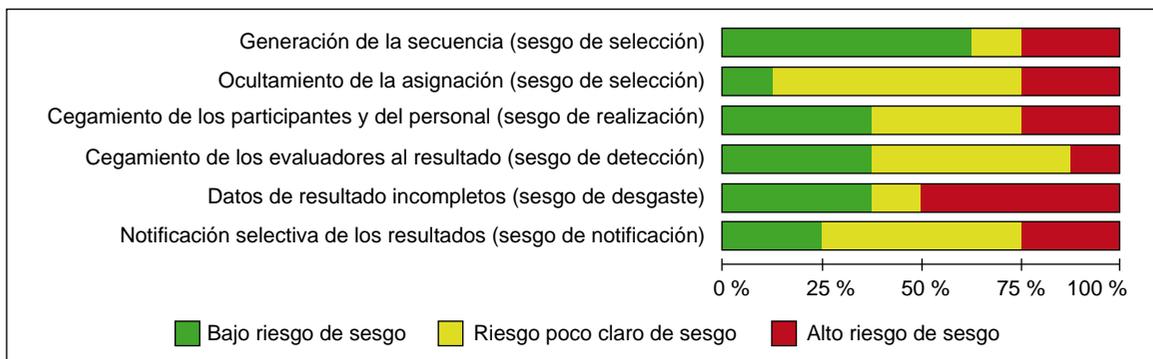


Figura 2. Riesgo de sesgo de los estudios

**Efecto del cumplimiento de las recomendaciones de las guías.** En el estudio de Beune, *et al.*, el efecto de la intervención en el cumplimiento de las recomendaciones sobre estilos de vida presentó una desviación media (DM) de 0,19 (IC<sub>95%</sub>: -0,04 a 0,42); en cuanto al cumplimiento en la toma de la medicación, esta fue de 0,25 (IC<sub>95%</sub>: -0,41 a 0,91), y se encontró un efecto a favor de la intervención después del seguimiento, como se observa en la figura 4.

La razón de probabilidades (*odds ratio*, OR) no ajustada reportada en el estudio de Beune, *et al.*, coincidió con la calculada para la elaboración de la figura 4. Los autores estimaron la OR ajustada por conglomerado en la regresión logística, y obtuvieron un valor de 0,10 (IC<sub>95%</sub>: 0,01 a 0,75; p=0,024) (21).

Los efectos de la intervención en los resultados en cada uno de los seguimientos del estudio de Brosseau, *et al.* (2012), se presentan en el cuadro

3. Se observó que solamente en el seguimiento de los tres primeros meses se presentaron diferencias significativas en la comparación “caminata Vs. ‘autodirigido’” y “caminata & conducta Vs. ‘autodirigido’” (p=0,045 y p=0,012, respectivamente) (24).

**Efecto en el conocimiento de las recomendaciones de las guías.** De los tres estudios que reportaron este resultado, solamente el estudio de Brosseau, *et al.*, presentó los datos completos después de la intervención para el cálculo del efecto, arrojando una DM entre los grupos de -0,32 (IC<sub>95%</sub>: -1,96 a 1,32).

**Efecto en algunos desenlaces clínicos.** Fan, *et al.*, reportaron el tiempo de la primera hospitalización con una razón de riesgo (*hazard ratio*, HR) de 1,13 (IC<sub>95%</sub>: 0,70 a 1,8) y la mortalidad relacionada con la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), con una HR de 3,6 (IC<sub>95%</sub>: 0,99 a 13,1). Este estudio se suspendió debido a la elevada mortalidad de pacientes en el grupo de intervención.

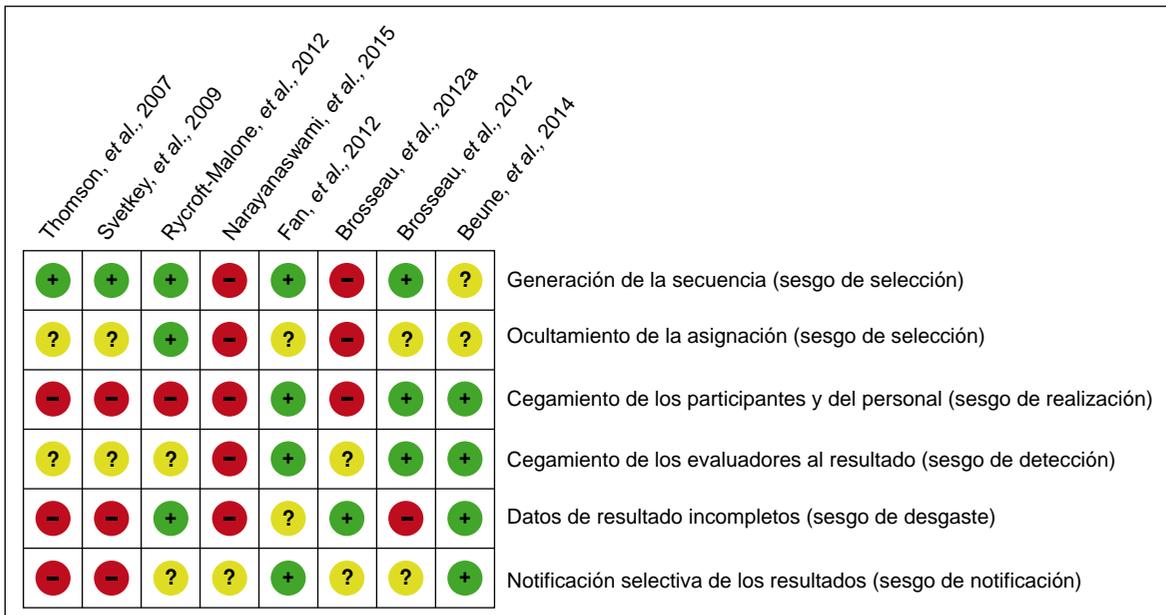


Figura 3. Resumen del riesgo de sesgo de los estudios

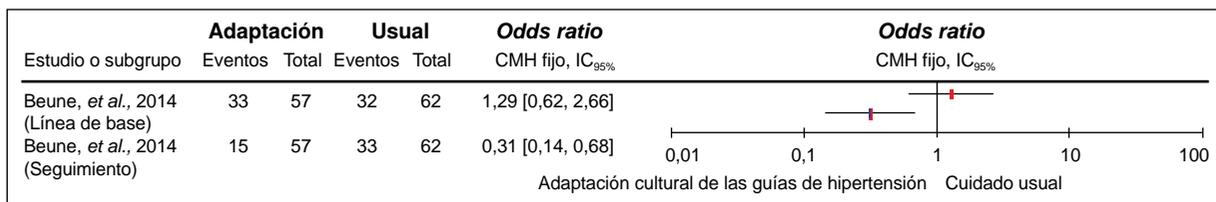


Figura 4. Efecto de la intervención en la proporción de la falta de cumplimiento de la medicación (Beune, *et al.*)  
CMH: Cochran-Mantel-Haenszel

Beune, *et al.*, evaluaron el cambio de la presión sistólica, la cual presentó una DM de -2,15 (IC<sub>95%</sub>: -7,07 a 2,77), y el cambio del índice de masa corporal (IMC), con una DM de -0,23 (IC<sub>95%</sub>: -1,89 a 1,43). En la figura 5 se puede observar el efecto de la intervención en el estudio de Svetkey, *et al.*, con respecto al cambio de la presión sistólica en los tres grupos analizados y comparados con el grupo de control.

En el anexo C se presentan los efectos de las intervenciones en otros resultados secundarios. Debido a la gran cantidad de información suministrada en forma narrativa en los ocho estudios analizados, en el cuadro 4 se resumieron las intervenciones, los resultados, la calidad de los datos y las conclusiones

**Discusión**

La presente revisión sistemática resume la evidencia de ocho estudios sobre la efectividad de las intervenciones para la transferencia y la apropiación social del conocimiento de las guías de práctica clínica entre los pacientes y la comunidad. Se evidenció que las intervenciones de transferencia del conocimiento se centraban en la adaptación cultural de las guías, la diseminación y la implementación en la población objetivo mediante la utilización de diferentes estrategias, como paquetes educativos en sitios web, algunos de ellos acompañados de la opción de participación de los

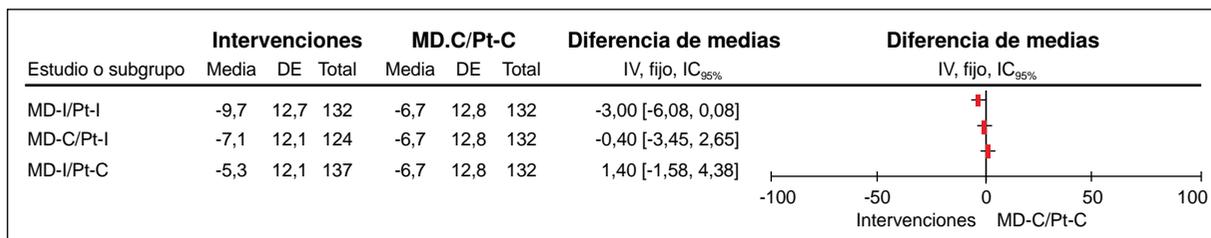
líderes; paquetes de planes de acción; programas supervisados basados en la comunidad; programas de atención integral; ayudas computarizadas para la toma de decisiones, talleres facilitadores para educadores de pacientes (21-29).

Dada la gran heterogeneidad de los estudios no se pudo determinar el efecto global de la efectividad de las estrategias de transferencia del conocimiento. Este problema también se presentó en la revisión sistemática de Flodgren, *et al.*, sobre intervenciones para mejorar el cumplimiento de las guías de prevención de infecciones relacionadas con dispositivos por parte de los profesionales de la salud, en la cual se encontró una gran heterogeneidad entre los estudios en razón de los diferentes tipos de profesionales de la salud, la condición y la gravedad de la enfermedad y las categorías de las intervenciones (42).

Tres de los estudios evaluados utilizaron modelos conceptuales para el desarrollo e implementación de las intervenciones, lo cual enfatiza en la necesidad de evaluar el tipo de barreras que se analizan, el nivel al cual se dirigen las intervenciones, y la necesidad de las intervenciones (desarrollo de un concepto de progresión, etapas de adopción de las directrices y creación de estrategias de apoyo) (43,44). Por ejemplo, se ha sugerido que usar el marco conceptual del *Canadian Institutes of Health Research knowledge translation framework* podría ser una guía para el cambio organizacional,

**Cuadro 3.** Efecto de la intervención en el cumplimiento del programa basado en las guías (Brosseau, *et al.*)

Seguimiento	Diferencia de medias (IC <sub>95%</sub> ) Caminata Vs. 'autodirigido'	Diferencia de medias (IC <sub>95%</sub> ) Caminata & conducta Vs. 'autodirigido'
0-3 meses	0,15 (0,03 a 0,27)	0,12 (0,00 a 0,23)
3-6 meses	0,10 (-0,04 a 0,24)	0,08 (-0,06 a 0,22)
6-9 meses	0,01 (-0,14 a 0,15)	-0,06 (-0,20 a 0,08)
9-12 meses	-0,04 (-0,19 a 0,10)	-0,03 (-0,17 a 0,11)



**Figura 5.** Efecto de las intervenciones en el cambio de la presión sistólica a los seis meses de las intervenciones (Svetkey, *et al.*)

MD-I/Pt-I: médicos y pacientes objeto de intervenciones más estrategias de educación

MD-C/Pt-I: médicos más cuidado usual y pacientes objeto de intervención más estrategias de educación

MD-I/Pt-C: médicos objeto de intervención más estrategias de educación y pacientes más material impreso

MD-C/Pt-C: cuidado usual del médico y material impreso para pacientes

**Cuadro 4.** Resumen de las intervenciones analizadas, de los resultados, la calidad de la información y las conclusiones

Intervención relacionada con la transferencia de conocimiento	Intervención de control	Resultados evaluados	Calidad de la información	Conclusiones
Adaptación cultural de la educación sobre la hipertensión arterial sistémica con base en las guías ( <i>Culturally adapted hypertension education, CAHE</i> ) (21)	Cuidado usual que consistía en la educación estándar recomendada por las guías	Cumplimiento	⊕⊕⊕○ Moderada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La intervención tuvo efecto positivo sobre los cambios de la presión sistólica y el cumplimiento de las recomendaciones sobre estilos de vida en pacientes africanos de Surinam y de Ghana con mal control de la hipertensión.</li> <li>• CAHE entregado en la práctica general como medio para la adaptación cultural de la educación sobre hipertensión en diferentes entornos de atención en salud.</li> <li>• Se necesitan estudios más amplios para estudiar los efectos a largo plazo de la CAHE y saber si es también aplicable y eficaz para los pacientes hipertensos de otras poblaciones étnicas.</li> </ul>
		Clínicos	⊕⊕○○ Baja	
Diseminación estándar y paquete educativo en sitio web basado en las guías y opinión de un líder (29)	La diseminación estándar consistía en una copia impresa de las guías en versión para los pacientes.	Clínicos	⊕○○○ Muy baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hubo cambios significativos en la duración de la administración de fluidos ni de alimentos sólidos después de las intervenciones.</li> <li>• La duración de la administración de fluido rápido superó sustancialmente la recomendación de una duración de dos horas, y el ayuno rápido sigue siendo sustancialmente mejor que el de 6 horas, independientemente de la intervención utilizada.</li> <li>• La evaluación de la implementación en el contexto de la práctica de ayuno proporcionó un medio útil para exponer algunos de los problemas generales y de los desafíos para implementar las pruebas en la práctica.</li> </ul>
Diseminación estándar y un paquete de las guías con un plan de acción (PDSA) (29)				
Programa supervisado de caminata aeróbica basada en la comunidad ( <i>Supervised community-based aerobic walking program, SCAWP</i> ) (Caminata) (23,24)	Material educativo impreso de las recomendaciones de las guías (aprendizaje 'autodirigido' o control 'autodirigido').	Cumplimiento	⊕⊕⊕○ Moderada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El enfoque de "Caminata (<i>walk, W</i>) &amp; conducta (<i>behavior, B</i>)" de la intervención multifacética de transferencia de conocimiento mejoró el cumplimiento del SCAWP cuando se comparó con los otros dos grupos durante un período corto.</li> <li>• La WB demostró ser la mejor estrategia de transferencias de conocimiento para reducir la deserción en comparación con el grupo W y el grupo de aprendizaje 'autodirigido' o control 'autodirigido'. Las tres estrategias fueron equivalentes a largo plazo (hasta 18 meses) para mejorar el cambio de comportamiento.</li> <li>• Se necesitan más estudios para analizar mejor el cumplimiento a largo plazo o el conocimiento logrado con el SCAWP.</li> <li>• Los tres grupos de caminata demostraron resultados globalmente equivalentes para la implementación de estrategias de transferencia de conocimiento en cuanto a la mejoría de la calidad de vida y los resultados clínicos a largo plazo (12 y 18 meses)</li> <li>• Los resultados evidenciaron que un programa basado en la comunidad o en el hogar puede ser una estrategia eficaz para controlar la osteoartritis de la rodilla.</li> </ul>
		Tasa de deserción	⊕⊕○○ Baja	
		Comportamiento para mejorar la 'autoeficacia'	⊕⊕○○ Baja	
		Morbilidad	⊕⊕○○ Baja	
		Síntomas	⊕○○○ Muy baja	
		Cumplimiento	⊕⊕○○ Baja	
Intervención en el comportamiento acompañada con SCAWP (Caminata & conducta) (23,24)		Tasa de deserción	⊕○○○ Muy baja	
		Comportamiento para mejorar la 'autoeficacia'	⊕○○○ Muy baja	
		Morbilidad	⊕○○○ Muy baja	
		Síntomas	⊕○○○ Muy baja	
		Cumplimiento	⊕⊕○○ Baja	
		Tasa de deserción	⊕○○○ Muy baja	
Programas de gestión integral de atención (22)	Cuidado usual basado en las guías (información general escrita)	Tiempo de la primera hospitalización	⊕⊕○○ Baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El ensayo se suspendió porque la mortalidad fue mayor en el grupo de intervención y ello no se pudo explicar satisfactoriamente ni siquiera con la recopilación de datos adicionales.</li> <li>• No se pudo demostrar una mejoría en el conocimiento sobre la EPOC.</li> <li>• Hubo una pequeña diferencia estadísticamente significativa en la tasa de uso de prednisona por exacerbación, pero no de antibióticos, y las diferencias en el momento de administración de la prednisona o el uso de antibióticos no fueron estadísticamente significativas.</li> <li>• La intervención no produjo un cambio de comportamiento, ya que los pacientes del grupo de intervención no alcanzaron a iniciar su plan de acción frente al empeoramiento de los síntomas respiratorios.</li> </ul>
		Mortalidad	⊕⊕⊕○ Moderada	
		Conocimiento	⊕⊕○○ Baja	
		Clínicos	⊕⊕○○ Baja	

Ayudas de decisión computarizadas ( <i>Decision aids</i> ) (26)	Recomendaciones directas a cargo del profesional de la salud para los pacientes mediante material escrito	Conflicto de decisión Conocimiento Inicio del tratamiento Ansiedad	⊕○○○ Muy baja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se evidenció un conflicto de decisión significativamente menor en el grupo de ayuda computarizada que en el grupo de control inmediatamente después de la investigación, hallazgo presente en todos los pacientes, independientemente de su tratamiento inicial.</li> <li>• Los participantes en el grupo de ayuda computarizada iniciaron el uso de warfarina más tarde que los del grupo control. Los resultados evidenciaron que este enfoque tuvo un impacto positivo en el conflicto de decisión, comparable a otros estudios de ayudas de decisión, pero también redujo la aceptación de un tratamiento clínicamente efectivo con eventuales implicaciones importantes para los resultados de salud.</li> </ul>
Talleres facilitadores para educadores de pacientes (25)	Talleres a pacientes a cargo de los educadores de pacientes y material impreso	Conocimiento Intención y uso	⊕○○○ Muy baja	<p>Aparentemente, el programa educativo intensivo basado en la evidencia y orientado al entrenamiento de educadores para las guías de práctica clínica puede ser un método eficaz de transferencia de conocimiento en pacientes con osteoartritis. Se utilizarían de nuevo actividades similares de transferencia de conocimiento, pero con mayor atención al uso de estrategias de medios.</p> <p>La mayoría de los participantes habían aplicado su estrategia de gestión cuando se les preguntó tres meses después del taller. Se sugiere que la causa pudo ser la disponibilidad, la accesibilidad y los costos asociados a estos programas en lugar de la motivación de los pacientes.</p>
Diseminación a través de medios sociales (27)	Tradicional, consistente en materiales impresos, información por correo y medios de comunicación por internet	Conocimiento Intención	⊕○○○ Muy baja	<p>Los métodos de difusión basados en los medios sociales no representan un beneficio adicional frente a los métodos basados en materiales impresos, el correo electrónico y el internet para aumentar el conocimiento sobre las guías de práctica clínica y el cambio en la intención de uso por parte de los médicos o los pacientes. Se requiere investigar más sobre la selección del público, el formato y la entrega de mensajes para utilizar las tecnologías web óptimamente.</p>
Pacientes: sesiones grupales Profesionales de la salud: módulos de capacitación en línea (28)	Se basaron en pacientes y médicos que no eran objeto de la intervención. Solamente se le ofreció a cada grupo material impreso (cuidado usual)	Clínicos Cambios en la actividad física y peso	⊕○○○ Muy baja	<p>Una intervención intensiva en torno a la conducta relacionada con estilos de vida (médico y paciente) redujo significativamente la presión arterial a los 6 meses, con evidencia de que este efecto ocurrió debido a la adopción de un patrón dietético saludable y la pérdida de peso.</p> <p>La implementación de similares programas de intervención en el estilo de vida requeriría de mayor desarrollo para hacerla asequible, aplicable en escala en los sistemas de salud y capaz de producir mejoras sostenidas en el comportamiento, así como cambios en la presión arterial.</p>

facilitar la implementación de las guías de práctica clínica y mejorar los resultados de salud (45). Sin embargo, es evidente que hace falta un modelo conceptual para el desarrollo e implementación de este tipo de intervenciones, especialmente cuando las recomendaciones están destinadas a la comunidad. Ospina, *et al.*, también concluyeron que es importante hacer futuros estudios para el uso coherente de un modelo conceptual que mejore la efectividad de las intervenciones (46).

No se logró establecer un efecto significativo a favor de las intervenciones debido a la diversidad de las poblaciones y los tipos de estudio, a la ausencia de un marco conceptual para el desarrollo de las intervenciones y a la variedad de estrategias, entre otros. Sin embargo, se evidenció un leve efecto a favor en el resultado del cumplimiento a corto plazo de las recomendaciones de las guías en el estudio de Brosseau, *et al.* (23).

En los estudios sobre el cumplimiento de las recomendaciones de las guías de práctica clínica por parte de los profesionales de la salud, también se observó un mayor cumplimiento a corto plazo y una disminución al cabo de un año de la implementación (47). Asimismo, se ha observado un efecto sobre algunos resultados clínicos como el cambio de la presión sistólica, especialmente en las intervenciones que incluyen la participación de un profesional de la salud comparadas con aquellas dirigidas exclusivamente a un grupo en particular (28), lo cual concuerda con el estudio de Schipper, *et al.*, en el cual se sugiere seguir en gran medida los principios de diseminación de las estrategias entre los profesionales de la salud para facilitar la educación y la información de los pacientes contando con su participación directa, no solo en la difusión sino también en el desarrollo de las recomendaciones (48).

Por otra parte, a pesar de que en las estrategias no se incluyó explícitamente el enfoque de equidad, se observó una adaptación cultural de las guías, aunque sin especificar si estaban orientadas a disminuir las inequidades (21). Algunos autores han señalado la importancia de incorporar la equidad en el desarrollo e implementación de las guías de práctica clínica (49-51), recalcando factores importantes como la vinculación de la población objetivo durante todas las fases de su desarrollo, el análisis y la adaptación al contexto cultural, la consideración de factores psicosociales que podrían afectar su implementación y sus resultados, y la consideración de las inequidades del sistema de salud (49,52). Asimismo, se ha empezado a considerar la equidad en salud pública y en el sistema de salud en la metodología de GRADE para el desarrollo de guías clínicas (50,51,53-55).

La principal limitación de la presente revisión fueron los sesgos relacionados con aquellos artículos no publicados que pudieran ser relevantes, cuyo efecto trató de disminuirse haciendo una búsqueda exhaustiva de estudios publicados y no publicados. A pesar de la inclusión de bases de datos latinoamericanas y de no haber considerado el idioma como criterio de exclusión, no se encontraron estudios relevantes en otros idiomas diferentes al inglés, o provenientes de países latinoamericanos. Otra limitación de la revisión fue el gran riesgo de sesgo en los estudios analizados que pudo haber afectado directamente los resultados, especialmente el sesgo de desgaste y de notificación.

Las intervenciones de transferencia de conocimiento a corto plazo presentaron un leve efecto a favor en el resultado de cumplimiento, así como en algunos resultados clínicos de los pacientes cuando incluían la participación de profesionales de la salud. Sin embargo, se requieren nuevos estudios para confirmar estos hallazgos. Por otro lado, sería relevante para el desarrollo e implementación de las guías de práctica clínica incluir los modelos conceptuales, los factores contextuales, el enfoque de equidad y los análisis económicos de las intervenciones, así como a poblaciones vulnerables para evaluar la efectividad de las guías en la comunidad.

#### Conflicto de intereses

Ninguno.

#### Financiación

El estudio fue financiado en el marco del programa de becas y pasantías de Jóvenes Investigadores e Innovadores (706 de 2015) de Colciencias.

#### Referencias

1. **Institute of Medicine, Board on Health Care Services, Committee on Standards for Developing Trustworthy Clinical Practice Guidelines, Graham R, Mancher M, Wolman DM, et al.** Clinical Practice Guidelines We Can Trust. Washington, D.C.: The National Academies Press; 2011. <https://doi.org/10.17226/13058>
2. **Cabana MD, Rand CS, Powe NR, Wu AW, Wilson MH, Abboud PA, et al.** Why don't physicians follow clinical practice guidelines? A framework for improvement. *JAMA*. 1999; 282:1458-65. <https://doi.org/10.1001/jama.282.15.1458>
3. **Weisz G, Cambrosio A, Keating P, Knaapen L, Schlich T, Tournay VJ.** The emergence of clinical practice guidelines. *Milbank Q*. 2007;85:691-727 <https://doi.org/10.1111/j.1468-0009.2007.00505.x>
4. **National Guideline Clearinghouse.** Guideline Summaries Archive. Agency for Healthcare Research and Quality. 2017. Fecha de consulta: 8 de mayo de 2017. Disponible en: <https://www.guideline.gov/summaries/archive>
5. **Prior M, Guerin M, Grimmer-Somers K.** The effectiveness of clinical guideline implementation strategies - A synthesis of systematic review findings. *J Eval Clin Pract*. 2008;14:888-97. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2753.2008.01014.x>
6. **Bero LA, Grilli R, Grimshaw JM, Harvey E, Oxman AD, Thomson MA.** Closing the gap between research and practice: An overview of systematic reviews of interventions to promote the implementation of research findings. *BMJ*. 1998;317:465-8. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7156.465>
7. **Agudelo M, Alejandro S.** Apropiación social del conocimiento: una nueva dimensión de los archivos. *Rev Interam Bibl*. 2012;35:55-62.
8. **Canadian Institutes of Health Research.** Guide to knowledge translation planning at CIHR: Integrated and end-of-grant approaches. CIHR. 2015 Fecha de consulta: 4 de mayo de 2017. Disponible en: <http://www.cihr-irsc.gc.ca/e/45321.html>
9. **Ward V, House A, Hamer S.** Developing a framework for transferring knowledge into action: A thematic analysis of the literature. *J Health Serv Res Policy*. 2009;14:156-64. <https://doi.org/10.1258/jhsrp.2009.008120>
10. **Graham ID, Logan J, Harrison MB, Straus SE, Tetroe J, Caswell W, et al.** Lost in knowledge translation: Time for a map? *J Contin Educ Health Prof*. 2006;26:13-24. <https://doi.org/10.1002/chp.47>
11. **Jacobson N, Butterill D, Goering P.** Development of a framework for knowledge translation: Understanding user context. *J Health Serv Res Policy*. 2003;8:94-9. <https://doi.org/10.1258/135581903321466067>
12. **Kitson AL, Rycroft-Malone J, Harvey G, McCormack B, Seers K, Titchen A.** Evaluating the successful implementation of evidence into practice using the PARIHS framework: Theoretical and practical challenges. *Implement Sci*. 2008;3:1. <https://doi.org/10.1186/1748-5908-3-1>
13. **Greenhalgh T, Robert G, Macfarlane F, Bate P, Kyriakidou O.** Diffusion of innovations in service organizations: Systematic review and recommendations. *Milbank Q*. 2004;82:581-629. <https://doi.org/10.1111/j.0887-378X.2004.00325.x>

14. **Maison P, Desamericq G, Hemery F, Elie N, Del'Volgo A, Dubois-Randé JL, et al.** Relationship between recommended chronic heart failure treatments and mortality over 8 years in real-world conditions: A pharmacoepidemiological study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013;69:901-8 <https://doi.org/10.1007/s00228-012-1400-9>
15. **Armstrong R, Waters E, Jackson N, Oliver S, Popay J, Shepherd J, et al.** Guidelines for systematic reviews of health promotion and public health interventions. Version 2. Melbourne: Melbourne University; 2007.
16. **Higgins JPT, Green S.** Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 [updated March 2011]. Vol. 4, The Cochrane Collaboration. 2011. Fecha de consulta: 8 de mayo de 2017. Disponible en: [www.handbook.cochrane.org](http://www.handbook.cochrane.org)
17. **Effective Practice and Organisation of Care.** Interrupted time series (ITS) analyses. EPOC Resources for review authors. Vol. 13. Oslo: Norwegian Knowledge Centre for the Health Services; 2013. p. 1-13.
18. **Martin LR, Williams SL, Haskard KB, DiMatteo MR.** The challenge of patient adherence. *Ther Clin Risk Manag.* 2005;1:189-99.
19. **Cochrane Public Health Group.** Data Extraction and assessment template. 2011. Fecha de consulta: 8 de mayo de 2017. Disponible en: <http://ph.cochrane.org/review-authors>
20. **Schünemann H, Brożek J, Guyatt G, Oxman A.** Handbook for grading the quality of evidence and the strength of recommendations using the GRADE approach. GRADE Handbook. 2013. Fecha de consulta: 3 de octubre de 2017. Disponible en: <http://gdt.guidelinedevelopment.org/app/handbook/handbook.html>
21. **Beune EJ, Moll Van Charante EP, Beem L, Mohrs J, Agyemang CO, Ogedegbe G, et al.** Culturally adapted hypertension education (CAHE) to improve blood pressure control and treatment adherence in patients of African origin with uncontrolled hypertension: Cluster-randomized trial. *PLoS One.* 2014;9:1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090103>
22. **Fan VS, Gaziano JM, Lew R, Bourbeau J, Adams SG, Leatherman S, et al.** A comprehensive care management program to prevent chronic obstructive pulmonary disease hospitalizations: A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2012;156:673-83. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-156-10-201205150-00003>.
23. **Brosseau L, Wells GA, Kenny GP, Reid R, Maetzel A, Tugwell P, et al.** The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis: A knowledge translation randomized controlled trial: Part II: Clinical outcomes. *BMC Public Health.* 2012;12:1073 <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-871>
24. **Brosseau L, Wells GA, Kenny GP, Reid R, Maetzel A, Tugwell P, et al.** The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis (OA): A knowledge translation (KT) randomized controlled trial (RCT): Part I: The Uptake of the Ottawa Panel clinical practice guidelines (CPGs). *BMC Public Health.* 2012;12:871 <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-871>
25. **Brosseau L, Lineker S, Bell M, Wells G, Casimiro L, Egan M, et al.** People getting a grip on arthritis: A knowledge transfer strategy to empower patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Health Educ J.* 2012;71:255-67. <https://doi.org/10.1177/0017896910387317>
26. **Thomson RG, Eccles MP, Steen IN, Greenaway J, Stobbart L, Murtagh MJ, et al.** A patient decision aid to support shared decision-making on anti-thrombotic treatment of patients with atrial fibrillation: Randomised controlled trial. *Qual Saf Heal Care.* 2007;16:216-23. <https://doi.org/10.1136/qshc.2006.018481>
27. **Narayanawami P, Gronseth G, Dubinsky R, Penfold-Murray R, Cox J, Bever C, et al.** The impact of social media on dissemination and implementation of clinical practice guidelines: A longitudinal observational study. *J Med Internet Res.* 2015;17:e193. <https://doi.org/10.2196/jmir.4414>
28. **Svetkey LP, Pollak KI, Yancy WS, Dolor RJ, Batch BC, Samsa G, et al.** Hypertension improvement project: Randomized trial of quality improvement for physicians and lifestyle modification for patients. *Hypertension.* 2009;54:1226-33. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134874>
29. **Rycroft-Malone J, Seers K, Crichton N, Chandler J, Hawkes CA, Allen C, et al.** A pragmatic cluster randomised trial evaluating three implementation interventions. *Implement Sci.* 2012;7:80. <https://doi.org/10.1186/1748-5908-7-80>
30. **Smulders YM, Burgers JS, Scheltens T, van Hout BA, Wiersma T, Simoons ML, et al.** Clinical practice guideline for cardiovascular risk management in the Netherlands. *Neth J Med.* 2008;66:169-74.
31. **Westby M, Bullock I, Gray W, Lardner-Browne C, Rashid R.** RCN/RCoA: Perioperative fasting in adults and children: Clinical Practice Guidelines. RCN Institute. London: Royal College of Nursing; 2005. Fecha de consulta: 30 de mayo de 2017. Disponible en: [https://my.rcn.org.uk/\\_data/assets/pdf\\_file/0009/78678/002800.pdf](https://my.rcn.org.uk/_data/assets/pdf_file/0009/78678/002800.pdf)
32. **Loew L, Brosseau L, Wells GA, Tugwell P, Kenny GP, Reid R, et al.** Ottawa panel evidence-based clinical practice guidelines for aerobic walking programs in the management of osteoarthritis. *Arch Phys Med Rehabil.* 2012;93:1269-85. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2012.01.024>
33. **The Management of COPD Working Group.** VA/DoD Clinical Practice Guideline for Management of Outpatient Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Washington, D.C.: U.S. Department of Veterans Affairs/U.S. Department of Defense; 2007. Fecha de consulta: 1 de abril de 2017. Disponible en: [https://www.healthquality.va.gov/guidelines/CD/copd/copd\\_20.pdf](https://www.healthquality.va.gov/guidelines/CD/copd/copd_20.pdf)
34. **Scottish Inter-Collegiate Guidelines Network.** Scottish Inter-Collegiate Guidelines Network Antithrombotic therapy: A national clinical guideline. Edinburgh: Scottish Inter-Collegiate Guidelines Network; 1999. Fecha de consulta: 1 de abril de 2017. Disponible en: <http://www.sign.ac.uk/guidelines/fulltext/129/>
35. **Loew L, Brosseau L, Wells GA, Tugwell P, Kenny GP, Reid R, et al.** Ottawa Panel evidence-based clinical practice guidelines for therapeutic exercises and manual therapy in the management of osteoarthritis. *Phys Ther.* 2005;85:907-71. <https://doi.org/10.1093/ptj/85.9.907>

36. **Brosseau L, Wells G, Tugwell P, Egan M, Dubouloz C-J, Casimiro L, et al.** Ottawa panel evidence-based clinical practice guidelines for therapeutic exercises in the management of rheumatoid arthritis in adults. *Phys Ther.* 2004;84:934-72. <https://doi.org/10.1093/ptj/84.10.934>.
37. **Yadav V, Bever C, Bowen J, Bowling A, Weinstock-Guttman B, Cameron M, et al.** Summary of evidence-based guideline: Complementary and alternative medicine in multiple sclerosis: Report of the Guideline Development Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology.* 2014;82:1083-92. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000250>
38. **Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al.** Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension.* 2003;42:1206-52. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000107251.49515.c2>
39. **Kleinman A, Eisenberg L, Good B.** Culture, illness, and care: Clinical lessons from anthropologic and cross-cultural research. *Ann Intern Med.* 1978;88:251-8.
40. **Whitlock EP, Orleans CT, Pender N, Allan J.** Evaluating primary care behavioral counseling interventions: An evidence-based approach. *Am J Prev Med.* 2002;22:267-84. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181657e0d>
41. **Rycroft-Malone J, Kitson A, Harvey G, McCormack B, Seers K, Titchen A, et al.** Ingredients for change: Revisiting a conceptual framework. *Qual Saf Health Care.* 2002;11:174-80. <https://doi.org/10.1136/qhc.11.2.174>
42. **Flodgren G, Lo C, Mayhew A, Omar O, Cr P, Shepperd S.** Interventions to improve professional adherence to guidelines for prevention of device-related infections. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;3:CD006559. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006559.pub2>
43. **Moulding N, Silagy C, Weller D.** A framework for effective management of change in clinical practice: Dissemination and implementation of clinical practice guidelines. *Qual Heal Care.* 1999;8:177-83.
44. **Harrison MB, Legare F, Graham ID, Fervers B.** Adapting clinical practice guidelines to local context and assessing barriers to their use. *Can Med Assoc J.* 2010;182:E78-84. <https://doi.org/10.1503/cmaj.081232>
45. **Licskai C, Sands T, Ong M, Paolatto L, Nicoletti I.** Using a knowledge translation framework to implement asthma clinical practice guidelines in primary care. *Int J Qual Heal Care.* 2012;24:538-46 <https://doi.org/10.1093/intqhc/mzs043>
46. **Ospina MB, Taenzer P, Rashiq S, MacDermid JC, Carr E, Chojecki D, et al.** A systematic review of the effectiveness of knowledge translation interventions for chronic noncancer pain management. *Pain Res Manag.* 2013;18:e129-41.
47. **Ament SM, de Groot JJ, Maessen JM, Dirksen CD, van der Weijden T, Kleijnen J.** Sustainability of professionals' adherence to clinical practice guidelines in medical care: A systematic review. *BMJ Open.* 2015;5:e008073 <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-008073>
48. **Schipper K, Bakker M, De Wit M, Ket JCF, Abma TA.** Strategies for disseminating recommendations or guidelines to patients: A systematic review. *Implement Sci.* 2016; 11:1-17. <https://doi.org/10.1186/s13012-016-0447-x>
49. **Acosta N, Pollard J, Mosquera P, Reveiz L.** Equidad en el desarrollo de guías de práctica clínica. *Rev Salud Pública.* 2011;13:327-38. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642011000200014>
50. **Eslava-Schmalbach JH, Welch VA, Tugwell P, Amaya AC, Gaitán H, Mosquera P, et al.** Incorporating equity issues into the development of Colombian clinical practice guidelines: Suggestions for the GRADE approach. *Rev Salud Pública.* 2016;18:72-81 <https://doi.org/10.15446/rsap.v18n1.45002>
51. **Welch VA, Akl EA, Guyatt G, Pottie K, Eslava-Schmalbach J, Ansari MT, et al.** GRADE Equity guidelines 1: Health equity in guideline development- introduction and rationale. *J Clin Epidemiol.* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2017.01.014>
52. **Eslava-Schmalbach J, Sandoval-Vargas G, Mosquera P.** Incorporating equity into developing and implementing for evidence-based clinical practice guidelines. *Rev Salud Pública.* 2011;13:339-51. <https://doi.org/10.1590/S0124-00642011000200015>
53. **Welch VA, Akl EA, Pottie K, Ansari MT, Briel M, Christensen R, et al.** GRADE equity guidelines 3: Health equity considerations in rating the certainty of synthesized evidence. *J Clin Epidemiol.* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2017.01.015>
54. **Akl EA, Welch V, Pottie K, Eslava-Schmalbach J, Darzi A, Sola I, et al.** GRADE Equity Guidelines 2: Considering health equity in GRADE guideline development: Equity extension of the Guideline Development Checklist. *J Clin Epidemiol.* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2017.01.017>
55. **Pottie K, Welch V, Morton R, Akl EA, Eslava-Schmalbach JH, Katikireddi V, et al.** GRADE equity guidelines 4: Guidance on how to assess and address health equity within the evidence to decision process. *J Clin Epidemiol.* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2017.08.001>

## Anexo A. Estrategias de búsqueda

---

### 1. Bases de datos

---

MEDLINE (OVID) 1946 to March Week 3 2017 (25-03-17)

1. exp Guideline Adherence/ (26462)
2. Guideline Adherence.ti,ab,tw (857)
3. exp Practice Guideline/ (22660)
4. practice guideline\$1.ti,ab (16761)
5. Clinical practice guideline\$1. ti,ab,tw (8876)
6. exp practice guidelines as topic/ (98854)
7. (Clinical ADJ2 practice guideline\$1) (9094)
8. (guideline? adj3 (adher\$ OR influenc\$ OR implement\$ OR impact\$ OR follow)).ti,ab,tw. (12610)
9. 1 OR 2 OR 3 OR 4 OR 5 OR 6 OR 7 OR 8 (147700)
10. knowledge translation.ti,ab,tw (1322)
11. ((knowledge translation) ADJ2 (tool OR (to action cycle))).ti,ab. (22)
12. Knowledge transfer. ti,ab (882)
13. Knowledge transference.ti,ab (6)
14. KT.ti,ab (7751)
15. (Knowledge Translation in health care).mp. (5)
16. Knowledge Translation Toolkit.mp (0)
17. knowledge utilization.ti,ab,tw (68)
18. implementation research.ti,ab,tw (550)
19. Appropriate knowledge.tw (357)
20. patient decision.ti,ab (924)
21. (Knowledge AND (Patient Education as Topic)) (14195)
22. community Knowledge.ti,ab (259)
23. (knowledge ADJ2 (exchang\$ OR translat\$ OR transfer\$ OR diffus\$ OR disseminat\$ OR implement\$ OR utili\$ OR evaluation OR adoption)).ti,ab,tw. (6708)
24. (KT ADJ2 (exchang\$ OR translat\$ OR transfer\$ OR diffus\$ OR disseminat\$ OR implement\$ OR utili\$)). ti,ab,tw. (238)
25. (Knowledge AND (Diffusion of Innovation)) (2221)
26. 10 OR 11 OR 12 OR 13 OR 14 OR 15 OR 16 OR 17 OR 18 OR 19 OR 20 OR 21 OR 22 OR 23 OR 24 OR 25 (31067)
27. exp patients/ (54493)
28. (Patient\$1 OR outpatient\$1 OR (Patient Participation)).ti,ab (5076959)
29. Communit\$.ti,ab (378157)
30. (adherence ADJ3 patient\$1).ti,ab (7411)
31. 27 OR 28 OR 29 OR 30 (5377438)
32. 9 AND 23 AND 28 (929)
33. (randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR clinical trial) (843344)
34. random\$.ti,ab. (803339)
35. controlled.ti. (122236)
36. (control\$ adj (clinical OR group\$ OR trial\$ OR study OR studies OR design\$ OR method\$)) (1203427)
37. single-blind method/ OR double-blind method/ (169051)
38. Cluster Analysis/ (53082)
39. (Controlled before and after studies) (594)
40. Interrupted time series Analysis/ (250)
41. 30 OR 31 OR 32 OR 33 OR 34 OR 35 OR 36 OR 37 (1870262)
42. 29 AND 38 (179)

---

CENTRAL (OVID) EBM Reviews - Cochrane Central Register of Controlled Trials February 2017 (25-03-17)

1. exp Guideline Adherence/ (818)
2. Guideline Adherence.ti,ab,tw (141)
3. practice guideline\$1.ti,ab (887)
4. Clinical practice guideline\$1. ti,ab,tw (502)
5. exp practice guidelines as topic/ (1309)
6. (Clinical ADJ2 practice guideline\$1) (623)
7. (guideline? adj3 (adher\$ OR influenc\$ OR implement\$ OR impact\$ OR follow)).ti,ab. (1484)
8. 1 OR 2 OR 3 OR 4 OR 5 OR 6 OR 7 (3405)
9. knowledge translation.ti,ab (107)
10. ((knowledge translation) ADJ2 (tool OR (to action cycle))).ti,ab. (2)
11. Knowledge transfer. ti,ab (61)
12. Knowledge transference.ti,ab (0)
13. KT.ti,ab (863)
14. (Knowledge Translation in health care).ti,ab. (0)

15. Knowledge Translation Toolkit.ti,ab. (0)
16. knowledge utilization.ti,ab,tw (7)
17. implementation research.ti,ab,tw (84)
18. Appropriate knowledge.tw (10)
19. patient decision.ti,ab (152)
20. (Knowledge and Patient Education as Topic).mp. (2005)
21. community Knowledge.ti,ab (17)
22. (knowledge ADJ2 (exchang\$ OR translat\$ OR transfer\$ OR diffus\$ OR disseminat\$ OR implement\$ OR utili\$ OR evaluation OR adoption)).ti,ab. (454)
23. (KT ADJ2 (exchang\$ OR translat\$ OR transfer\$ OR diffus\$ OR disseminat\$ OR implement\$ OR utili\$)).ti,ab (31)
24. (Knowledge and Diffusion of Innovation).mp (35)
25. 9 OR 10 OR 11 OR 12 OR 13 OR 14 OR 15 OR 16 OR 17 OR 18 OR 19 OR 20 OR 21 OR 22 OR 23 OR 24 (3405)
26. exp patients/ (4601)
27. (Patient\$1 OR outpatient\$1 OR (Patient Participation)).ti,ab (538468)
28. Communit\$.ti,ab (21567)
29. (adherence ADJ3 patient\$1).ti,ab (2109)
30. 26 OR 27 OR 28 OR 29 (552456)
31. 8 AND 25 AND 30 (80)
32. (randomized controlled trial OR controlled clinical trial OR clinical trial) (276355)
33. random\$.ti,ab. (532154)
34. controlled.ti. (122412)
35. (control\$ adj (clinical OR group\$ OR trial\$ OR study OR studies OR design\$ OR method\$)) (377488)
36. single-blind method/ OR double-blind method/ (134569)
37. Cluster Analysis/ (1745)
38. (Controlled before and after studies) (111964)
39. (Interrupted time series) (6)
40. 32 OR 33 OR 34 OR 35 OR 36 OR 37 OR 38 OR 39 (674165)
41. 31 AND 40 (74)

## EMBASE 25-03-17

1. 'Guideline Adherence':ti,ab (1344)
2. 'Guideline Adherence'/exp (365649)
3. 'Practice Guideline'/de OR 'practice guideline'/exp OR 'practice guideline' (366408)
4. 'practice guideline\*':ti,ab (23029)
5. 'Clinical practice guideline\*':ti,ab (12138)
6. 'practice guidelines as topic'/exp (365649)
7. (Clinical NEXT/2 'practice guideline\*') (12820)
8. (Guideline\* NEXT/3 (adher\* OR influenc\* OR implement\* OR impact\* OR follow)):ti,ab (7215)
9. 1 OR 2 OR 3 OR 4 OR 5 OR 6 OR 7 OR 8 (371068)
10. 'knowledge translation':ti,ab (1900)
11. ('knowledge translation' NEXT/2 (tool OR 'to action cycle')):ti,ab. (36)
12. 'Knowledge transfer':ti,ab (1305)
13. 'Knowledge transference':ti,ab (10)
14. KT:ti,ab (10146)
15. 'Knowledge Translation in health care' (5)
16. 'Knowledge Translation Toolkit' (4)
17. 'knowledge utilization':ti,ab (85)
18. 'implementation research':ti,ab (608)
19. 'Appropriate knowledge' (551)
20. 'patient decision':ti,ab (1378)
21. (Knowledge AND ('Patient Education as Topic')) (41)
22. 'community Knowledge':ti,ab (325)
23. (knowledge NEXT/2 (exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* OR evaluation OR adoption)):ti,ab (5119)
24. (KT NEXT/2 (exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\*)):ti,ab (25)
25. (Knowledge AND ('Diffusion of Innovation')) (87)
26. 10 OR 11 OR 12 OR 13 OR 14 OR 15 OR 16 OR 17 OR 18 OR 19 OR 20 OR 21 OR 22 OR 23 OR 24 OR 25 (17280)
27. patients/exp (1901615)
28. (Patient\* OR outpatient\* OR 'Patient Participation'):ti,ab (7236256)
29. Communit\*:ti,ab (479253)
30. (adherence NEXT/3 patient\*):ti,ab (5574)
31. 27 OR 28 OR 29 OR 30 (7573393)
32. 9 AND 23 AND 28 (622)
33. 32 AND ('clinical article'/de OR 'clinical trial'/de OR 'controlled clinical trial'/de OR 'controlled study'/de OR 'major clinical study'/de OR 'multicenter study'/de OR 'practice guideline'/de OR 'prospective study'/de OR 'randomized controlled trial'/de) AND [embase]/lim NOT [medline]/lim (209)

## SCOPUS 21-07-16

1. (TITLE-ABS-KEY ("Guideline Adherence") OR TITLE-ABS-KEY ("Practice Guideline") OR TITLE-ABS-KEY ("Clinical practice guideline\*") OR TITLE-ABS-KEY ("practice guidelines as topic") OR ALL (( clinical PRE/2 "practice guide line\*") ) OR TITLE-ABS-KEY (( guideline\* PRE/3 (adher\* OR influenc\* OR implement\* OR impact\* OR follow ))) ) (466878)
2. (ALL ("knowledge translation") OR TITLE-ABS-KEY (( "knowledge translation" PRE/2 ( tool OR "to action cycle" ) ) ) OR TITLE-ABS-KEY ("Knowledge transfer") OR TITLE-ABS-KEY ( knowledge transference ) OR TITLE-ABS-KEY ( kt ) OR TITLE-ABS-KEY ("Knowledge Translation in health care") OR ALL ("Knowledge Translation in health care") OR ALL ("Knowledge Translation Toolkit") OR TITLE-ABS-KEY ("knowledge utilization") OR TITLE-ABS-KEY ("implementation research") OR ALL ("Appropriate knowledge") OR TITLE-ABS-KEY ("patient decision") OR TITLE-ABS-KEY (( knowledge AND ("Patient Education as Topic") ) ) OR TITLE-ABS-KEY ("community Knowledge") OR TITLE-ABS-KEY (( knowledge PRE/2 ( exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* OR evaluation OR adoption ) ) ) OR TITLE-ABS-KEY (( kt PRE/2 ( exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* ) ) ) OR ALL (( knowledge AND ("Diffusion of Innovation") ) ) ) (93044)
3. (TITLE-ABS-KEY (patients) OR TITLE-ABS-KEY (( patient\* OR outpatient\* OR "Patient Participation" ) ) OR TITLE-ABS-KEY (communit\*) OR TITLE-ABS-KEY (( adherence PRE/3 patient\* ) ) ) (7927348)
4. 1 AND 2 AND 3 (4421)
5. 4 AND (LIMIT-TO ( DOCTYPE , "ar" ) ) AND ( LIMIT-TO ( SRCTYPE , "j" ) ) (2946)
6. 5 AND ( TITLE-ABS-KEY ( "clinical trial" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "controlled clinical trial" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "controlled study" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "randomized controlled trial" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Cluster Analysis" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Controlled before and after studies" ) OR TITLE-ABS-KEY ( "Interrupted time series" ) ) AND ( LIMIT-TO ( DOCTYPE , "ar" ) ) AND ( LIMIT-TO ( SRCTYPE , "j" ) ) AND ( LIMIT-TO ( LANGUAGE , "English" ) OR LIMIT-TO ( LANGUAGE , "Spanish" ) ) (1047)

## Web of science 25/03/17

1. (TI=("Guideline Adherence") OR TI=("Practice Guideline")) AND Tipos de documento: (Article) (799)
2. (TI=("Clinical practice guideline\*") OR TI=("practice guidelines as topic")) AND Tipos de documento: (Article) (1.608)
3. (TS=(guideline\* NEAR/3 (adher\* OR influenc\* OR implement\* OR impact\* OR follow ))) AND Tipos de documento: (Article) (16.905)
4. (TS=(clinical NEAR/2 "practice guideline\*")) AND Tipos de documento: (Article) (8.963)
5. (TS=("Clinical practice guideline\*") OR TS=("practice guidelines as topic")) AND Tipos de documento: (Article) (8.740)
6. (TS=("Guideline Adherence") OR TS=("Practice Guideline")) AND Tipos de documento: (Article) (4.407)
7. (TI=(guideline\* NEAR/3 (adher\* OR influenc\* OR implement\* OR impact\* OR follow ))) AND Tipos de documento: (Article) (2.170)
8. (TI=(clinical NEAR/2 "practice guideline\*")) AND Tipos de documento: (Article) (1.626)
9. 1 OR 2 OR 3 OR 4 OR 5 OR 6 OR 7 OR 8 (25.302)
10. (TS=("community Knowledge") OR TS=(knowledge NEAR/2 ( exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* OR evaluation OR adoption ) ) OR TS=(kt NEAR/2 ( exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* ) ) OR TS=(knowledge AND ("Diffusion of Innovation") ) ) AND Tipos de documento: (Article) (16.535)
11. (TS=("knowledge utilization") OR TS=("implementation research" OR "Appropriate knowledge") OR TS=("patient decision") OR TS=(knowledge AND ("Patient Education as Topic") ) ) AND Tipos de documento: (Article) (1.928)
12. (TS=("Knowledge Translation in health care" OR "Knowledge Translation in health care" OR "Knowledge Translation Toolkit") ) AND Tipos de documento: (Article) (1)
13. (TS=("Knowledge transfer") OR TS=("knowledge transference") OR TS=(kt) ) AND Tipos de documento: (Article) (12.795)
14. (TS=("knowledge translation") OR TS=("knowledge translation" NEAR/2 ( tool OR "to action cycle" ) ) ) AND Tipos de documento: (Article) (1.538)
15. (TI=("community Knowledge") OR TI=(knowledge NEAR/2 ( exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* OR evaluation OR adoption ) ) OR TI=(kt NEAR/2 ( exchang\* OR translat\* OR transfer\* OR diffuse\* OR disseminat\* OR implement\* OR utili\* ) ) OR TI=(knowledge AND ("Diffusion of Innovation") ) ) AND Tipos de documento: (Article) (2.366)
16. (TI=("knowledge utilization") OR TI=("implementation research" OR "Appropriate knowledge") OR TI=("patient decision") OR TI=(knowledge AND ("Patient Education as Topic") ) ) AND Tipos de documento: (Article) (287)
17. (TI=("Knowledge Translation in health care" OR "Knowledge Translation in health care" OR "Knowledge Translation Toolkit") ) AND Tipos de documento: (Article) (1)
18. (TI=("Knowledge transfer") OR TI=(kt) ) AND Tipos de documento: (Article) (1.067)
19. (TI=("knowledge translation") OR TI=("knowledge translation" NEAR/2 ( tool OR "to action cycle" ) ) ) AND Tipos de documento: (Article) (348)
20. 10 OR 11 OR 12 OR 13 OR 14 OR 15 OR 16 OR 17 OR 18 OR 19 (26.916)
21. TS=(Patients) OR TS=(patient\* OR outpatient\* OR "Patient Participation" ) OR TS=( communit\* OR (adherence NEAR/3 patient\* ) ) (3.700.199)
22. TI=(Patients) OR TI=(patient\* OR outpatient\* OR "Patient Participation" ) OR TI=( communit\* OR (adherence NEAR/3 patient\* ) )
23. 22 OR 21 (3.700.199)
24. 23 AND 20 AND 9 (280)

---

**Academic Search 27/03/17**

TX ( guideline adherence OR Practice Guideline OR Clinical practice guidelines OR practice guidelines as topic ) AND TX ( knowledge translation OR Knowledge transfer OR Knowledge transference OR KT OR Knowledge Translation in health care OR Knowledge Translation Toolkit OR implementation research OR Appropriate knowledge OR patient decision OR knowledge utilization ) AND TX ( patient OR outpatient OR community ) AND TX ( randomized controlled trials OR controlled study )

Limitar: patients, clinical trials, randomized controlled trial, decision making

Limitar tipo de Publicación: trials, implementation science, journal of evaluation in clinical practice (256)

---

**LILACS – Virtual health library 27/03/17**

((tw:(Guideline Adherence)) OR (tw:(Practice Guideline)) OR (tw:(Clinical practice guideline)) OR (tw:(practice guidelines as topic))) AND ((tw:(knowledge translation)) OR (tw:(Knowledge transfer)) OR (tw:(Knowledge transference)) OR (tw:(KT)) OR (tw:(Knowledge Translation in health care)) OR (tw:(Knowledge Translation Toolkit)) OR (tw:(knowledge utilization)) OR (tw:(implementation research)) OR (tw:(Appropriate knowledge)) OR (tw:(patient decision)) OR (tw:(community Knowledge)) OR (tw:(Diffusion of Innovation))) AND ((tw:(patients)) OR (tw:(outpatients)) OR (tw:(Patient Participation)) OR (tw:(Community))) AND filter by database(IBECS, LILACS, CUMED, Hanseniase, Leprosy, MedCarib,REPIDISCA) (71)

---

**Scielo 27/03/17**

((guideline adherence) OR (practice guideline) OR (clinical practice guideline) OR (practice guidelines as topic)) AND ((knowledge translation) OR (knowledge transfer) OR (knowledge transference) OR (kt) OR (knowledge translation in health care) OR (knowledge translation toolkit) OR (knowledge utilization) OR (implementation research) OR (appropriate knowledge) OR (patient decision) OR (community knowledge) OR (diffusion of innovation)) AND ((patients) OR (outpatients) OR (patient participation)) (10)

---

**2. Búsqueda de literatura gris en otros recursos****Google scholar (Noviembre 2016):**

“Clinical practice guidelines” AND “knowledge translation” AND “patients” AND “randomized”. Se ordenó por relevancia y se revisaron 620, seleccionando 3 artículos relevantes para la revisión.

---

**Open grey (Noviembre 2016):**

((guideline adherence) OR (practice guideline) OR (clinical practice guideline) OR (practice guidelines as topic)) AND ((knowledge translation) OR (knowledge transfer) OR (knowledge transference) OR (kt) OR (knowledge translation in health care) OR (knowledge translation toolkit) OR (knowledge utilization) OR (implementation research) OR (appropriate knowledge) OR (patient decision) OR (community knowledge) OR (diffusion of innovation)) AND ((patients) OR (outpatients) OR (patient participation)). La búsqueda arrojó 9 estudios ninguno de los estudios cumplió con los criterios de inclusión.

---

**Anexo B.** Criterios de inclusión/exclusión de los artículos de texto completo

Nº	Estudio	Incluido/No incluido	Criterios de exclusión	Razón de exclusión
1	An interdisciplinary concept to optimize patient safety--a pilot study (1)	No incluido	Intervención	No son explícitos con el tipo de intervención y además el artículo esta en alemán
2	Implementation of a clinical practice guideline for walking recovery: Standardized users improve knowledge translation (2)	No incluido	Poster de congreso	Se les escribió a los autores para obtener el artículo de los resultados pero no se obtuvo respuesta.
3	Informed shared decision-making supported by decision coaches for women with ductal carcinoma in situ: Study protocol for a cluster randomized controlled trial (3)	No incluido	Estado de reclutamiento ISRCTN46305518	Se contactó a los investigadores, los cuales contestaron que el estudio se encuentra en proceso y que no pueden dar más información.
4	People getting a grip on arthritis: A knowledge transfer strategy to empower patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis (4)	Incluido	-----	-----
5	Strategies for health system implementation of guidelines on overweight and obesity (5)	No incluido	Conferencia	Se les escribió a los autores para obtener el artículo de los resultados pero no se obtuvo respuesta.
6	A cluster randomized controlled trial comparing three methods of disseminating practice guidelines for children with croup (6)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
7	A cluster-randomized controlled trial evaluating the effect of culturally-appropriate hypertension education among Afro-Surinamese and Ghanaian patients in Dutch general practice: study protocol (7)	Incluido	Artículo original: Culturally Adapted Hypertension Education (CAHE) to Improve Blood Pressure Control and Treatment Adherence in Patients of African Origin with Uncontrolled Hypertension: Cluster-Randomized Trial (8)	
8	A comprehensive care management program to prevent chronic obstructive pulmonary disease hospitalizations: A randomized, controlled trial (9)	Incluido	-----	-----
9	A Multifaceted Knowledge Translation Strategy Can Increase Compliance with Guideline Recommendations for Mechanical Bowel Preparation (10)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
10	A patient decision aid to support shared decision-making on anti-thrombotic treatment of patients with atrial fibrillation: Randomised controlled trial (11)	Incluido	-----	-----
11	Achieving treat to target in gout: a clinical practice improvement project (12)	No incluido	Tipo de estudio	Estudio cualitativo enfocado en grupos focales.
12	Baseline feature of a randomized trial assessing the effects of disease management programs for the prevention of recurrent ischemic stroke (13)	No incluido	Intervención	Programa educativo no relacionado con la intervención de interés
13	Best strategies to implement clinical pathways in an emergency department setting: study protocol for a cluster randomized controlled trial. (14)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
14	Can evidence change the rate of back surgery? A randomized trial of community-based education. (15)	No incluido	No se encontró el artículo original	Se les escribió a los autores, pero no hubo respuesta

15	Community-based Rehabilitation Intervention for people with Schizophrenia in Ethiopia (RISE): study protocol for a cluster randomised controlled trial. (16)	No incluido	No hay resultados hasta el momento	Estudio en proceso inicial
16	Dentists United to Extinguish Tobacco (DUET): a study protocol for a cluster randomized, controlled trial for enhancing implementation of clinical practice guidelines for treating tobacco dependence in dental care settings. (17)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
17	Development and pilot testing of a mobile health solution for asthma self-management: Asthma action plan smartphone application pilot study (18)	No incluido	Tipo de estudio	Es un estudio de antes y después, pero sin grupo control
18	Effectiveness of a clinical guideline to improve dental health among orthodontically treated patients: study protocol for a cluster randomized controlled trial. (19)	No incluido	No hay resultados hasta el momento	Estudio en el proceso curso
19	Effectiveness of disseminating consensus management recommendations for ulcer bleeding: a cluster randomized trial (20)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
20	Enhanced implementation of low back pain guidelines in general practice: study protocol of a cluster randomised controlled trial. (21,22)	No incluido	Población	Intervención esta dirigida a profesionales
21	Evaluating the QUIT-PRIMO clinical practice ePortal to increase smoker engagement with online cessation interventions: a national hybrid type 2 implementation study. (23)	No incluido	Intervención	Programa no relacionado con la intervención de interés
22	Evaluation of a tailored intervention to improve management of overweight and obesity in primary care: study protocol of a cluster randomised controlled trial.(24)	No incluido	Población	Artículo Original: Cluster randomised trial of a tailored intervention to improve the management of overweight and obesity in primary care (25)
23	Evaluation of asthma knowledge and quality of life in Hungarian asthmatics (26)	No incluido	Intervención	Programa basado en guías que no son basadas en la evidencia.
24	Evaluation of the acceptability, feasibility and effectiveness of two methods of involving patients with disability in developing clinical guidelines: study protocol of a randomized pragmatic pilot trial. (27)	No incluido	No se encontró el artículo original	Se les escribió a los autores, pero no hubo respuesta
25	Fever, hyperglycaemia and swallowing dysfunction management in acute stroke: A cluster randomised controlled trial of knowledge transfer. (28)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
26	adhesion in heart failure: Randomized Clinical Trial HELEN-I. (29)	No incluido	Intervención	Programa no relacionado con la intervención de interés
27	Improving cancer pain management in communities: Main results from a randomized controlled trial (30)	No incluido	Intervención	Programa no relacionado con la intervención de interés
28	Impact of an interprofessional shared decision-making and goal-setting decision aid for patients with diabetes on decisional conflict--study protocol for a randomized controlled trial. (31)	No incluido	No hay resultados hasta el momento	Estudio en proceso inicial de reclutamiento
29	Improving stress testing compliance following chest pain presentations to the emergency department. (32)	No incluido	Intervención	Programa no relacionado con la intervención de interés

30	Intermediate and long-term effects of a standardized back school for inpatient orthopedic rehabilitation on illness knowledge and self-management behaviors: a randomized controlled trial. (33)	No incluido	Intervención	Programa no relacionado con la intervención de interés
31	Knowledge transfer in family physicians managing patients with acute low back pain: a prospective randomized control trial. (34)	No incluido	Intervención y comparador	Guías de pacientes comparadas sin intervención
32	Knowledge translation tool to improve pregnant women's awareness of gestational weight gain goals and risks of gaining outside recommendations: A non-randomized intervention study (35)	No incluido	Intervención	Programa basado en guías que no son basadas en la evidencia.
33	Monitoring strategies in children with asthma: A randomised controlled trial (36)	No incluido	Intervención	Programa no relacionado con la intervención de interés
34	Protocol: Adaptive Implementation of Effective Programs Trial (ADEPT): cluster randomized SMART trial comparing a standard versus enhanced implementation strategy to improve outcomes of a mood disorders program. (37)	No incluido	No hay resultados hasta el momento	Estudio en proceso inicial de reclutamiento
35	Supervised versus non-supervised implementation of an oral health care guideline in (residential) care homes: a cluster randomized controlled clinical trial (38)	No incluido	Población	Dirigido a profesionales de la salud
36	The effect of a materials-based intervention on knowledge of risk-based clinical prevention screening guidelines. (39)	No incluido	Tipo de estudio	Tipo de estudio no relacionado con la los de interés
37	The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis (OA): a knowledge translation (KT) randomized controlled trial (RCT): Part I: The Uptake of the Ottawa Panel clinical practice guidelines (CPGs). (40)	Incluido	-----	-----
38	The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis: A knowledge translation randomized controlled trial: Part II: Clinical outcomes (41)	Incluido	-----	-----
39	Training mental health professionals in suicide practice guideline adherence: Cost-effectiveness analysis alongside a randomized controlled trial (42)	No incluido	Intervención	Programa basado en guías que no son basadas en la evidencia.
40	Translation of clinical practice guidelines for childhood obesity prevention in primary care mobilizes a rural Midwest community (43)	No incluido	Tipo de estudio	Es una revisión de documentación
41	Using a knowledge translation framework to implement asthma clinical practice guidelines in primary care. (44)	No incluido	Tipo de estudio	Es un estudio de antes y después pero sin grupo control
42	Knowledge translation of the HELPinKIDS clinical practice guideline for managing childhood vaccination pain: usability and knowledge uptake of educational materials directed to new parents (45)	No incluido	Tipo de estudio	Tipo de estudio no relacionado con la los de interés
43	Asthma and chronic obstructive pulmonary disease guideline implementation: lessons learned on recruitment of primary care physicians to a knowledge translation study (46)	No incluido	Poblacion	Dirigida a profesionales de la salud
44	The impact of social media on dissemination and implementation of clinical practice guidelines: A longitudinal observational study (47)	Incluido	-----	-----

45	Impact of guideline implementation on patient care: a cluster RCT (48)	No incluido	Poblacion	Aunque los resultados son en los paciente, la intervención va dirigida a los profesionales de salud dental.
46	Hypertension Improvement Project (HIP): study protocol and implementation challenges. (49)	Incluido	Articulo original: Hypertension Improvement Project(HIP): Randomized Trial Of Quality Improvement For Physicians And Lifestyle Modification For Patients (50)	
47	A pragmatic cluster randomised trial evaluating three implementation interventions (51)	Incluido	-----	-----
48	Effectiveness and cost-effectiveness of a health coaching intervention to improve the lifestyle of patients with knee osteoarthritis: Cluster randomized clinical trial (52)	No incluido	Protocolo	Se contacta a los autores pero no se obtuvo respuesta
49	THU0451 Implementation of the osteoarthritis clinical guideline: Results of a cluster randomized trial in primary care (53)	Es un abstract de presentación de poster, al revisarlo entra incluido, se contacta a los autores para localización del articulo original. No se obtiene respuesta.		
50	Effects of two guideline implementation strategies on patient outcomes in primary care: a cluster randomized controlled trial (54) days in pain, physical activity, quality of life, or days of sick leave (secondary outcomes.	No incluido	Intervención	Incluyen en las medidas del resultado a los pacientes, pero las intervenciones van dirigidas a los profesionales de salud.
51	Implementation of clinical guidelines on physical therapy for patients with low back pain: randomized trial comparing patient outcomes after a standard and active implementation strategy (55)	No incluido	Población	Incluyen en las medidas del resultado a los pacientes, pero las intervenciones van dirigidas a los terapeutas físicos.

## References

- Bertsche T, Lindner S, Damm M, Frontini R, Exner C, Himmerich H.** Ein interdisziplinäres Konzept zur Optimierung der Patientensicherheit – Eine Pilotstudie. *Psychiatr Prax* [Internet]. 2014 Oct 27;42(4):216-20. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-0034-1387227>
- Wilks M, Devers A, Pidcoe P.** Implementation of a clinical practice guideline for walking recovery: Standardized users improve knowledge translation. *Arch Phys Med Rehabil* [Internet]. M. Wilks, Sheltering Arms Rehabilitation Hospitals, United States; 2014;95(10):e24. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L71665601>
- Berger-Hoger B, Liethmann K, Muhlhauser I, Haastert B, Steckelberg A.** Informed shared decision-making supported by decision coaches for women with ductal carcinoma in situ: study protocol for a cluster randomized controlled trial. *Trials*. 2015;16:452.
- Brosseau L, Lineker S, Bell M, Wells G, Casimiro L, Egan M, et al.** People getting a grip on arthritis: A knowledge transfer strategy to empower patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Health Educ J* [Internet]. L. Brosseau, School of Rehabilitation Sciences, Faculty of Health Sciences, University of Ottawa, Ottawa, ON K1H 8M5, Canada; 2012;71(3):255–67. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L364856289>
- Abrahamian Y, Watson H.** Strategies for Health System Implementation of Guidelines on Overweight and Obesity. *BMJ Qual Saf* [Internet]. 2013 Aug 15;22(Suppl1):A34.2-A34. Available from: <http://qualitysafety.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bmjqs-2013-002293.101>
- Johnson DW, Craig W, Brant R, Mitton C, Svenson L, Klassen TP.** A cluster randomized controlled trial comparing three methods of disseminating practice guidelines for children with croup [ISRCTN73394937]. *Implement Sci* [Internet]. BioMed Central; 2006 Jan;1:10–3. Available from: <http://10.0.4.162/1748-5908-1-10>
- Haafkens JA, Beune EJAJ, Moll van Charante EP, Agyemang CO.** A cluster-randomized controlled trial evaluating the effect of culturally-appropriate hypertension education among Afro-Surinamese and Ghanaian patients in Dutch general practice: study protocol. *BMC Health Serv Res* [Internet]. 2009;9:193. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2771011&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Beune EJAJ, Moll Van Charante EP, Beem L, Mohrs J, Agyemang CO, Ogedegbe G, et al.** Culturally adapted hypertension education (CAHE) to improve blood pressure control and treatment adherence in patients of African Origin with uncontrolled hypertension: Cluster-randomized trial. *PLoS One*. 2014;9(3):1-11.

9. **Fan VS, Gaziano JM, Lew R, Bourbeau J, Adams SG, Leatherman S, et al.** A comprehensive care management program to prevent chronic obstructive pulmonary disease hospitalizations: A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 2012;156(10):673-83.
10. **Eskicioglu C, Pearsall E, Victor JC, Aarts MA, Okrainec A, McLeod RS.** A Multifaceted Knowledge Translation Strategy Can Increase Compliance with Guideline Recommendations for Mechanical Bowel Preparation. *J Gastrointest Surg.* 2014;19(1):39-45.
11. **Thomson RG, Eccles MP, Steen IN, Greenaway J, Stobbart L, Murtagh MJ, et al.** A patient decision aid to support shared decision-making on anti-thrombotic treatment of patients with atrial fibrillation: Randomised controlled trial. *Qual Saf Heal Care [Internet]. Epidemiology and Public Health, Institute of Health and Society, Medical School, Framlington Place, Newcastle upon Tyne NE2 4HH, United Kingdom; 2007;16(3):216–23.* Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-34250891369&partnerID=40&md5=4d99ccd28e4489413ce6eaab0bd66cfe>
12. **Lim A, Shen L, Tan C, Lateef A, Lau T, Teng G.** Achieving treat to target in gout: a clinical practice improvement project. *Scand J Rheumatol [Internet].* 2012;41(6):450–7. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03009742.2012.689325>
13. **Fukuoka Y, Hosomi N, Hyakuta T, Omori T, Ito Y, Uemura J, et al.** Baseline feature of a randomized trial assessing the effects of disease management programs for the prevention of recurrent ischemic stroke. *J Stroke Cerebrovasc Dis [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;24(3):610–7.* Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2014.10.007>
14. **Jabbour M, Curran J, Scott SD, Guttman A, Rotter T, Ducharme FM, et al.** Best strategies to implement clinical pathways in an emergency department setting: study protocol for a cluster randomized controlled trial. *Implement Sci [Internet].* England: Jabbour, Mona. Division of Emergency Medicine, Children's Hospital of Eastern Ontario, Ottawa, Canada. [jabbour@cheo.on.ca](mailto:jabbour@cheo.on.ca); 2013;8:55. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=23692634>
15. **Goldberg HI, Deyo RA, Taylor VM, Cheadle AD, Conrad DA, Loeser JD, et al.** Can evidence change the rate of back surgery? A randomized trial of community-based education. *Eff Clin Pract. United States; 2001;4(3):95-104.*
16. **Asher L, De Silva M, Hanlon C, Weiss HA, Birhane R, Ejigu DA, et al.** Community-based Rehabilitation Intervention for people with Schizophrenia in Ethiopia (RISE): study protocol for a cluster randomised controlled trial. *Trials [Internet]. BioMed Central; 2016 Jun 24;17:1–14.* Available from: <http://10.0.4.162/s13063-016-1427-9>
17. **Ostroff JS, Li Y, Shelley DR.** Dentists United to Extinguish Tobacco (DUET): a study protocol for a cluster randomized, controlled trial for enhancing implementation of clinical practice guidelines for treating tobacco dependence in dental care settings. *Implement Sci [Internet].* England: Ostroff, Jamie S. Department of Psychiatry and Behavioral Sciences, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, 1275 York Avenue, New York, NY 10022, USA. [ostroffj@mskcc.org](mailto:ostroffj@mskcc.org); 2014;9:25. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=24559178>
18. **Licskai CJ, Sands TW, Ferrone M.** Development and pilot testing of a mobile health solution for asthma self-management: Asthma action plan smartphone application pilot study. *Can Respir J.* 2013;20(4):301-6.
19. **Oosterkamp BCM, Wafae A, Schols JGJH, van der Sanden WJM, Wensing M.** Effectiveness of a clinical guideline to improve dental health among orthodontically treated patients: study protocol for a cluster randomized controlled trial. *Trials [Internet]. BioMed Central; 2016 Apr 15;17:1–9.* Available from: <http://10.0.4.162/s13063-016-1325-1>
20. **Barkun AN, Bhat M, Armstrong D, Dawes M, Donner A, Enns R, et al.** Effectiveness of disseminating consensus management recommendations for ulcer bleeding: A cluster randomized trial. *Cmaj.* 2013;185(3):156-66.
21. **Riis A, Jensen CE, Bro F, Maindal HT, Petersen KD, Jensen MB.** Enhanced implementation of low back pain guidelines in general practice: study protocol of a cluster randomised controlled trial. *Implement Sci [Internet]. BioMed Central; 2013 Nov;8(1):1-21.* Available from: <http://10.0.4.162/1748-5908-8-124>
22. **Riis A, Jensen CE, Bro F, Maindal HT, Petersen KD, Bendtsen MD, et al.** A multifaceted implementation strategy versus passive implementation of low back pain guidelines in general practice: a cluster randomised controlled trial. *Implement Sci [Internet]. Implementation Science; 2016 Dec 21;11(1):143.* Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24139140%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4015716>
23. **Houston TK, Sadasivam RS, Allison JJ, Ash AS, Ray MN, English TM, et al.** Evaluating the QUIT-PRIMO clinical practice ePortal to increase smoker engagement with online cessation interventions: a national hybrid type 2 implementation study. *Implement Sci [Internet]. BioMed Central; 2015 Nov 2;10:1–16.* Available from: <http://10.0.4.162/s13012-015-0336-8>
24. **J. K, S. A, D.H. B, A. R, D. S, S. R, et al.** Evaluation of a tailored intervention to improve management of overweight and obesity in primary care: Study protocol of a cluster randomised controlled trial. *Trials [Internet].* 2014;15(1):no pagination. Available from: <http://www.trialsjournal.com/content/15/1/82%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed12&NEWS=N&AN=2014230970>
25. **Goodfellow J, Agarwal S, Harrad F, Shepherd D, Morris T, Ring A, et al.** Cluster randomised trial of a tailored intervention to improve the management of overweight and obesity in primary care in England. *Implement Sci [Internet]. Implementation Science; 2016;11:1–13.* Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13012-016-0441-3>
26. **Meszaros A, Orosz M, Magyar P, Mesko A, Vincze Z.** Evaluation of asthma knowledge and quality of life in Hungarian asthmatics. *Allergy [Internet].* 2003;58(7):624–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12823122>

27. **Lamontagne M-E, Perreault K, Gagnon M-P.** Evaluation of the acceptability, feasibility and effectiveness of two methods of involving patients with disability in developing clinical guidelines: study protocol of a randomized pragmatic pilot trial. *Trials* [Internet]. England: Lamontagne,Marie-Eve. Center for Interdisciplinary Research in Rehabilitation and Social Integration, Institut de readaptation en deficiencie physique de Quebec, 525, boulevard Wilfrid-Hamel, Quebec G1M 2S8, QC, Canada. marie-eve.lamontagne@cirris.ulaval.ca; 2014;15:118. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=medl&NEWS=N&AN=24721114>
28. **Middleton S, Levi C, Ward J, Grimshaw J, Griffiths R, D'Este C, et al.** Fever, hyperglycaemia and swallowing dysfunction management in acute stroke: A cluster randomised controlled trial of knowledge transfer. *Implement Sci* [Internet]. BioMed Central; 2009 Jan;4:1–11. Available from: <http://10.0.4.162/1748-5908-4-16>
29. **Mussi CM, Ruschel K, de Souza EN, Lopes ANM, Trojahn MM, Paraboni CC, et al.** Home visits improves knowledge, self-care and adherence in heart failure: Randomized clinical trial HELEN-I. *Rev Lat Am Enfermagem* [Internet]. 2013;21:20–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23459887%5Cnhttp://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=psyc8&NEWS=N&AN=2013-08980-004>
30. **Elliott TE, Murray DM, Oken MM, Johnson KM, Braun BL, Elliott B a, et al.** Improving cancer pain management in communities: main results from a randomized controlled trial. *J Pain Symptom Manage.* 1997;13(4):191-203.
31. **Yu CH, Ivers NM, Stacey D, Rezmovitz J, Telner D, Thorpe K, et al.** Impact of an interprofessional shared decision-making and goal-setting decision aid for patients with diabetes on decisional conflict-study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* Li Ka Shing Knowledge Institute of St. Michael's Hospital, 30 Bond Street, Toronto, ON, Canada; 2015;16(1).
32. **Chung K, Playford D, Macdonald SP.** Improving Stress Testing Compliance Following Chest Pain Presentations To the Emergency Department. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. American College of Cardiology Foundation; 2012;59(13):E1953. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109712619548>
33. **Meng K, Seekatz B, Roband H, Worrigen U, Vogel H, Faller H.** Intermediate and long-term effects of a standardized back school for inpatient orthopedic rehabilitation on illness knowledge and self-management behaviors: A randomized controlled trial. *Clin J Pain* [Internet]. Rehabilitation Sciences Unit, Department of Psychotherapy and Medical Psychology, University of Würzburg, Marcusstrasse 9-11, D-97070, Würzburg, Germany; 2011;27(3):248–57. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-79951682694&partnerID=40&md5=f67ba5b6223254814dd1923b1d8ba397>
34. **Bishop PB, Wing PC.** Knowledge transfer in family physicians managing patients with acute low back pain: a prospective randomized control trial. *Spine J* [Internet]. United States: Bishop,Paul B. Combined Neurosurgical and Orthopaedic Spine Program, Vancouver General Hospital/University of British Columbia, 2733 Heather Street, Vancouver, BC, Canada V5Z 3J5. pbishop@vanhosp.bc.ca; 2006;6(3):282–8. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=16651222>
35. **McDonald SD, Park CK, Pullenayegum E, Bracken K, Sword W, McDonald H, et al.** Knowledge translation tool to improve pregnant women's awareness of gestational weight gain goals and risks of gaining outside recommendations: a non-randomized intervention study. *BMC Pregnancy Childbirth* [Internet]. ???; 2015;15:105. Available from: [http://apps.webofknowledge.com.myaccess.library.utoronto.ca/full\\_record.do?product=UA&search\\_mode=CitationReport&qid=212&SID=4EirZUh2VYElgZyijGI&page=1&doc=3&cacheurlFromRightClick=no](http://apps.webofknowledge.com.myaccess.library.utoronto.ca/full_record.do?product=UA&search_mode=CitationReport&qid=212&SID=4EirZUh2VYElgZyijGI&page=1&doc=3&cacheurlFromRightClick=no)
36. **Voorend-van Bergen S, Vaessen-Verberne a. a., Brackel HJ, Landstra a. M, van den Berg NJ, Hop WC, et al.** Monitoring strategies in children with asthma: a randomised controlled trial. *Thorax* [Internet]. 2015;70(6):543–50. Available from: <http://thorax.bmj.com/cgi/doi/10.1136/thoraxjnl-2014-206161>
37. **Kilbourne AM, Almiral D, Eisenberg D, Waxmonsky J, Goodrich DE, Fortney JC, et al.** Protocol: Adaptive Implementation of Effective Programs Trial (ADEPT): cluster randomized SMART trial comparing a standard versus enhanced implementation strategy to improve outcomes of a mood disorders program. *Implement Sci* [Internet]. BioMed Central; 2014 Oct;9(1):1–32. Available from: <http://10.0.4.162/s13012-014-0132-x>
38. **van der Putten G-J, De Visschere L, Schols J, de Baat C, Vanobbergen J.** Supervised versus non-supervised implementation of an oral health care guideline in (residential) care homes: a cluster randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health.* 2010;10:17.
39. **Terry PE.** The effect of a materials-based intervention on knowledge of risk-based clinical prevention screening guidelines. *J Occup Med* [Internet]. 1994 Mar;36(3):365–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8195908>
40. **Brosseau L, Wells GA, Kenny GP, Reid R, Maetzel A, Tugwell P, et al.** The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis (OA): a knowledge translation (KT) randomized controlled trial (RCT): Part I: The Uptake of the Ottawa Panel clinical practice guidelines (CPGs). *BMC Public Health* [Internet]. BMC Public Health; 2012;12(1):871. Available from: BMC Public Health
41. **Brosseau L, Wells GA, Kenny GP, Reid R, Maetzel A, Tugwell P, et al.** The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis: A knowledge translation randomized controlled trial: Part II: Clinical outcomes. *BMC Public Health* [Internet]. BMC Public Health; 2012 Dec 13;12(1):1073. Available from: BMC Public Health
42. **De Beurs DP, Bosmans JE, De Groot MH, De Keijser J, Van Duijn E, De Winter RFP, et al.** Training mental health professionals in suicide practice guideline adherence: Cost-effectiveness analysis alongside a randomized controlled trial. *J Affect Disord*

- [Internet]. Department of Clinical Psychology, EMGO Institute for Health and Care Research, VU University, Amsterdam, Netherlands; 2015;186:203–10. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84938789144&partnerID=40&md5=e894219aed9f0dbe53e5421d3245e1d6>
43. **Gibson SJ.** Translation of clinical practice guidelines for childhood obesity prevention in primary care mobilizes a rural Midwest community. *J Am Assoc Nurse Pract.* 2016;28(3):130–7.
  44. **Licskai C, Sands T, Ong M, Paolatto L, Nicoletti I.** Using a knowledge translation framework to implement asthma clinical practice guidelines in primary care. *Int J Qual Heal Care [Internet].* 2012;24(5):538–46. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3441097&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
  45. **Taddio A, Shah V, Leung E, Wang J, Parikh C, Smart S, et al.** Knowledge translation of the HELPinKIDS clinical practice guideline for managing childhood vaccination pain: usability and knowledge uptake of educational materials directed to new parents. *BMC Pediatr [Internet].* 2013;13(1):23. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84873439734&partnerID=tZOtx3y1>
  46. **Boulet L-P, Hernandez P, Devlin H, Freeman MA, Gupta S.** Asthma and chronic obstructive pulmonary disease guideline implementation: lessons learned on recruitment of primary care physicians to a knowledge translation study. *Can Respir J.* 2013;20(4):275–80.
  47. **Narayanaswami P, Gronseth G, Dubinsky R, Penfold-Murray R, Cox J, Bever C, et al.** The impact of social media on dissemination and implementation of clinical practice guidelines: A longitudinal observational study. *J Med Internet Res.* 2015;17(8).
  48. **Mettes TG, van der Sanden WJM, Bronkhorst E, Grol RPTM, Wensing M, Plasschaert a JM.** Impact of guideline implementation on patient care: a cluster RCT. *J Dent Res [Internet].* 2010;89(1):71–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19966044>
  49. **Dolor RJ, Yancy WSJ, Owen WF, Matchar DB, Samsa GP, Pollak KI, et al.** Hypertension Improvement Project (HIP): study protocol and implementation challenges. *Trials [Internet].* England: Dolor, Rowena J. Department of Medicine, Duke University Medical Center, Durham, NC, USA. [rowena.dolor@duke.edu](mailto:rowena.dolor@duke.edu); 2009;10:13. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med5&NEWS=N&AN=19245692>
  50. **Svetkey LP, Pollak KI, Yancy WS, Dolor RJ, Batch BC, Samsa G, et al.** Hypertension improvement project: Randomized trial of quality improvement for physicians and lifestyle modification for patients. *Hypertension.* 2009;54(6):1226-33.
  51. **Rycroft-Malone J, Seers K, Crichton N, Chandler J, Hawkes CA, Allen C, et al.** A pragmatic cluster randomised trial evaluating three implementation interventions. *Implement Sci [Internet].* England: Rycroft-Malone, Jo. Centre for Health Related Research, School of Healthcare Sciences, Bangor University, Ffriddoedd Road, Bangor, UK. [j.rycroft-malone@bangor.ac.uk](mailto:j.rycroft-malone@bangor.ac.uk); 2012;7:80. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=med1&NEWS=N&AN=22935241>
  52. **Carmona-Terés V, Lumillo-Gutiérrez I, Jodar-Fernández L, Rodríguez-Blanco T, Moix-Queraltó J, Pujol-Ribera E, et al.** Effectiveness and cost-effectiveness of a health coaching intervention to improve the lifestyle of patients with knee osteoarthritis: Cluster randomized clinical trial. *BMC Musculoskelet Disord [Internet].* Departamento de Psicología Básica Evolutiva Y de la Salud. Edificio B, Universitat Autònoma de Barcelona; Facultat de Psicologia, Campus de la UAB, Bellaterra, 08193 Barcelona, Spain; 2015;16(1). Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84924226755&partnerID=40&md5=dfa476693d2af305e21f47969fd2379c>
  53. **Maximov D, Lesnyak O.** THU0451 Implementation of the osteoarthritis clinical guideline: Results of a cluster randomized trial in primary care. *Ann Rheum Dis [Internet].* 2013 Jun 23;71(Suppl 3):307.3-308. Available from: <http://ard.bmj.com/lookup/doi/10.1136/annrheumdis-2012-eular.2416>
  54. **Becker A, Leonhardt C, Kochen MM, Keller S, Wegscheider K, Baum E, et al.** Effects of two guideline implementation strategies on patient outcomes in primary care: A cluster randomized controlled trial. *Spine (Phila Pa 1976) [Internet].* Department of General Practice, Preventive and Rehabilitation Medicine, University of Marburg, Marburg, Germany; 2008;33(5):473–80. Available from: <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-41049087047&partnerID=40&md5=a8743f03b487b6bf17896d3a03de02a8>
  55. **Bekkering GE, van Tulder MW, Hendriks EJM, Koopmanschap MA, Knol DL, Bouter LM, et al.** Implementation of clinical guidelines on physical therapy for patients with low back pain: randomized trial comparing patient outcomes after a standard and active implementation strategy. *Phys Ther.* United States; 2005 Jun;85(6):544-55.

**Anexo C. Características y extracción de la información de los estudios seleccionados**

<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	Culturally Adapted Hypertension Education (CAHE) to Improve Blood Pressure Control and Treatment Adherence in Patients of African Origin with Uncontrolled Hypertension: Cluster-Randomized Trial	1
Autores	Beune EJAJ, Moll Van Charante EP, Beem L, Mohrs J, Agyemang CO, Ogedegbe G, et al.	
Año	2014	
ID o DOI	doi:10.1371/journal.pone.0090103	
Objetivo	To evaluate the effect of a practice-based, culturally appropriate patient education intervention on blood pressure (BP) and treatment adherence among patients of African origin with uncontrolled hypertension.	
Protocolo y registro	The study protocols were approved by the medical ethics committee of the Academic Medical Center in Amsterdam(protocol IDMEC09/070#09.17.0725) and CCMO (NL27507.018.09). This trial is registered at the ISRCTN Register under registration number ISRCTN35675524 ( <a href="http://www.controlled-trials.com/ISRCTN35675524">http:// www.controlled-trials.com/ISRCTN35675524</a> )	2
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	Dutch primary health care centres (PHCC) among hypertensive Surinamese and Ghanaian patients with poor BP control.	2
Entorno (incluye localización y contexto social)	Four PHCCs in Southeast Amsterdam. The percentage of Surinamese and Ghanaian residents in this area is relatively high (33% and 9% respectively).	2
Total de la población al inicio del estudio	146 patients	5
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	Four PHCCs as unit of randomized (Cluster randomisation was chosen to prevent contamination between the two conditions within the health care centres)	2
Edad o grupos etarios	Mean age: years (SD)	6
	• Intervention group: 53,3 (10,2)	
	• Control group: 54,6 (9,5)	
Sexo	• Intervention group: Female (43 - 61%) and Male (28 – 39%)	6
	• Control group: Female (30 - 44%) and Male (38 – 56%)	
Raza/etnia	• Intervention group: Ghanaian (20 - 28%) and Surinamese (51 – 72%)	6
	• Control group: Ghanaian (26 - 38%) and Surinamese (42 – 62%)	
Severidad de la enfermedad/co-morbilidades	Higher prevalence of hypertension (HTN) based on the International Classification of Primary care codes K85, K86 or K87, and having SBP≥140 mmHg at the last office visit	2
Mediciones por subgrupo	No	
Obtención de consentimiento informado	In accordance with the Declaration of Helsinki, written informed consent was obtained from all participants.	2
<b>Métodos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Diseño	Cluster randomised trial	2
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	The intervention was delivered to patients individually and the outcome measures were also assessed individually	2
Fecha Inicio/Final	Patient recruitment occurred in all four PHCCs between November 2009 and March 2010 and the intervention ran from December 2009 to October 2010	5
Duración total del estudio	Not clear	
Criterios de inclusión	Systolic blood pressure (SBP), self-identification, ability to speak and understand basic Dutch or English	5 2
	These patients had to meet the following eligibility criteria: aged 20 or older, having a diagnosis of HTN based on the International Classification of Primary care codes K85, K86 or K87, and having SBP≥140 mmHg at the last office visit	
Criterios de Exclusión	Patients were excluded if they had type 1 or type 2 diabetes, since diabetes requires additional care	2
Método de reclutamiento	Eligible patients were sent a letter with information about the study and an invitation to participate, co- signed by their GP. Study participants were promised an incentive payment of 40 Euros upon completion of the final assessments. If patients failed to respond, a reminder was sent after two weeks.	2
Calculo de tamaño de muestra	we aimed for a sample size of 74 participants in each arm of the trial, based on $\alpha=0.05$ and $\beta=0.20$ and an intercluster correlation (ICC)=0.03 to detect a difference of 10 (SD 15) mmHg in SBP between the study arms after 6 months.	4
Aprobación de comité de ética	The study protocols were approved by the medical ethics committee of the Academic Medical Center in Amsterdam	2

Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)			pg & fig/tabla
Dominio	Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")	Soportes	
Generación de la secuencia aleatoria	Poco claro	Cita="The PHCCs were randomly assigned to either the intervention (n=2) or the control status (n=2)" Comentario= No describen la metodología de aleatorización	2
Ocultamiento de la secuencia	Poco claro	Not described	2
Cegamiento de los participantes y personal	Bajo	Cita= "Due to the behavioural nature of the intervention, neither the patients nor the PN were blinded to the intervention... "Two trained RA's, who were blinded to the study condition, performed the baseline and follow-up assessments". Comentario: A pesar de no realizar el cegamiento de los participantes, realizan y describen otras alternativas para minimizar el sesgo	3
			4
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Bajo	Cita="The statistician who analysed the data was blinded to the intervention assignments"	4
Datos de resultados incompletos	Bajo	Cita="The main analysis was intention-to-treat"... loss to follow-up were: not contactable (n=4, intervention and n=1, control) and no longer interested in participation (n=2, control)". Comentario: Las pérdidas en el seguimiento fueron equilibradas y todos los demás resultados están completos.	4
			5
Notificación selectiva de los resultados	Bajo	ISRCTN35675524. Comentario: El protocolo está disponible y describen claramente en el estudio algunos cambios con el protocolo (Tiempo de seguimiento)	4
			5
Otros posibles riesgos			
Grupos 1			pg & fig/tabla
Nombre grupo	Intervención – CAHE (culturally adapted hypertension education)		2
Nº de personas o clúster	75 pacientes (2 grupos para la unidad de aleatorización)		5
Descripción	Patients at the intervention sites received usual care plus (i) three structured 30-minute culturally appropriate counselling Effects of Culturally Adapted Hypertension Care sessions at 2 weeks, 8 weeks and at 20 weeks after baseline assessment; (ii) culturally appropriate written educational materials; and (iii) if applicable, referrals to neighbourhood facilities, such as walking clubs and health food stores, that support patients in adopting healthier lifestyles and are suitable for Surinamese and Ghanaian people.		2
			3
Duración de seguimiento	6 months		2
Variables económicas (costo de la intervención...)	No		
Grupos 2			pg & fig/tabla
Nombre grupo	Control – usual care		2
Nº de personas o clúster	71 pacientes (2 grupos para la unidad de aleatorización)		5
Descripción	Patients in the control sites received standard hypertension care and education as recommended by the Dutch clinical guidelines for GPs		2
Duración de seguimiento	6 months		2
Variables económicas (costo de la intervención...)	No		
Desenlaces			pg & fig/tabla
Nombre del desenlace	Primario		3
Definición	The between-group difference in the proportion of patients with a SBP reduction of at least 10 mmHg at 6 months.		3
Unidad de medición es relevante	"The results of CAHE are clinically relevant because many studies have shown that BP reductions translate into the prevention of cardiovascular complications". Comentario: Además describen porque es relevante el punto de 10 mmHg		9
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Se aplico en las sesiones (primera y ultima) "BP was measured three times using an automated BP monitor (Omron 705-IT), after the patient had been seated for 5 minutes. The average of the last two readings was used to calculate the SBP and DBP."		3
Pérdidas (%)	Grupo control= 4,2%		5
	Grupo intervención= 5,3%		
Imputación de datos perdidos	No		
Nombre del desenlace	Secundario SBP (Systolic blood pressure: mmHg)		3
Definición	The mean between- group differences in changes in SBP		3
Unidad de medición es relevante	"The results of CAHE are clinically relevant because many studies have shown that BP reductions translate into the prevention of cardiovascular complications".		9

Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Se aplico en las sesiones (primera y ultima) "BP was measured three times using an automated BP monitor (Omron 705-IT), after the patient had been seated for 5 minutes. The average of the last two readings was used to calculate the SBP and DBP. The average of the last two readings was used to calculate the SBP and DBP"	3
Perdidas (%)	Grupo control= 4,2%	5
	Grupo intervención= 5,3%	
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/herramienta es validada	Si	
Nombre del desenlace	Secundario DBP (Diastolic blood pressure: mmHg)	3
Definición	The mean between- group differences in changes in DBP	3
Unidad de medición es relevante	"The results of CAHE are clinically relevant because many studies have shown that BP reductions translate into the prevention of cardiovascular complications".	9
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Se aplico en las sesiones (primera y ultima) "BP was measured three times using an automated BP monitor (Omron 705-IT), after the patient had been seated for 5 minutes. The average of the last two readings was used to calculate the SBP and DBP. The average of the last two readings was used to calculate the SBP and DBP"	3
Perdidas (%)	Grupo control= 4,2%	5
	Grupo intervención= 5,3%	
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/ herramienta es validada	Si	
Nombre del desenlace	Secundario - Adherence to lifestyle	3
Definición	The mean between- group differences in changes in adherence to lifestyle	3
Unidad de medición es relevante	No realizan la relevancia de la unidad de medición dentro del artículo, y realizan el promedio de un rango de 1-4 según la perspectiva del paciente.	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	A scale that was based on the four-item Morisky scale. This scale contains three questions: 1) Have you been advised by your PN/GP about smoking, nutrition, alcohol, weight control and/or physical activity (Yes/No)? 2) If yes, what advice was given? 3) To what extent did you follow this advice (range: never (1) – always (4))? On the basis of answers to these questions a composite score for adherence to lifestyle recommendations was computed (range: 1–4), with 4 indicating full adherence and lower scores indicating lower levels of adherence.	3
Perdidas (%)	Grupo control= 4,2%	5
	Grupo intervención= 5,3%	
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/ herramienta es validada	Se observa según la referencia bibliográfica que es una herramienta validada	3
Nombre del desenlace	Secundario - Adherence to medication recommendations	3
Definición	The mean between- group differences in changes in adherence to medication	3
Unidad de medición es relevante	Es relevante ya que el manejo de la medicación en este caso es importante determinar su adherencia	3
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Adherence to medication was assessed with the eight-item Morisky medication adherence scale (MMAS-8). The MMAS-8 asks patients to respond with "yes" or "no" to a set of 7 questions and to one 5- point Likert scale question. The score for full adherence is 8, with lower scores indicating a poorer level of adherence.	3
Perdidas (%)	Grupo control= 4,2%	5
	Grupo intervención= 5,3%	
	In the intervention group, 19 patients were treated for hypertension without medication, versus 7 in the control group.	
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/ herramienta es validada	This scale is well validated in studies of African-American populations	3
Nombre del desenlace	Non-adherence to medication according to treatment condition	3
Definición	Difference in the proportion of patients non-adherence to medication according to treatment condition	8
Unidad de medición es relevante	To crosscheck MMAS-8 data on self-reported medication adherence we collected registration data from the EMR's, on the number of requests for prescription renewals patients were expected to order and the number of prescription renewals they actually ordered, for two periods: (i) the 12 months prior to their inclusion in the trial, and (ii) the 12 months after their inclusion in the trial.	3
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Registration data from the EMR's on the number of requests for antihypertensive prescription renewals doctors received from patients who were included in the study showed a decline in medication non-adherence rates	7
Perdidas (%)	No	

Imputación de datos perdidos	No				
El desenlace/ herramienta es validada	Se mencionan la importancia para realizar la comparación con el desenlace secundario de adherencia a la medicación				
Nombre del desenlace	Sodium intake			3	
Definición	Exploratory outcomes were the mean between-group differences in sodium intake reduction			3	
Unidad de medición es relevante	Exploratory				
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Sodium intake was calculated from urine analysis of an overnight sample			3	
Perdidas (%)	No				
Imputación de datos perdidos	No				
El desenlace/ herramienta es validada	No se mencionan s un desenlace exploratorio				
Nombre del desenlace	BMI reduction			3	
Definición	Exploratory outcomes were the mean between-group differences in BMI reduction			3	
Unidad de medición es relevante	Exploratory				
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	BMI was calculated from the patient's height and weight. Height and weight were measured in the absence of shoes and heavy clothing, using a validated tape rule and weighing scale respectively. Measurements were recorded to the nearest 0.1 cm and 0.1 kg.			3	
Perdidas (%)	No				
Imputación de datos perdidos	No				
El desenlace/ herramienta es validada	No se mencionan un desenlace exploratorio				
<b>Resultados</b>				<b>pg &amp; fig/tabla</b>	
<b>Dicotómicos</b>					
Comparación	Difference in the proportion of patients with a SBP reduction of at least 10 mmHg at 6 months			3	
Desenlace	Primario			3	
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base (6 meses)			8	
Resultados	Intervención		Comparación		8
	Nº eventos: 34 (48%)	Nº Participantes: 71	Nº eventos: 29 (43)	Nº Participantes: 68	
Nº perdidas y razón	Not contactable=4		Not contactable=1		5
			No longer interested in participation=2		
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No		No		
Algún otro resultado reportado	Unadjusted Odds Ratio (int/control)- OR (95% IC): 1,24 (0,63 a 2,41) p=0.535				8
	Adjusted Odds Ratio (int/control)- OR (95% IC): 0,94 (0,45 a 1,98) p=0.865 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement.)				
	Adjusted Odds Ratio (int/control)- OR (95% IC): 0,42 (0,11 a 1,54) p=0190 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement and clustering effect.)				
Unidad de análisis	Individuo				
Método estadístico usado	Análisis de regresión logística y cuando es ajustado por el efecto del cluster fue realizado "nlmixed to estimate the model and calculate treatment and control proportions predicted from the model, with education level and clusters weighted by their relative sizes and covariates set at the means in the entire sample"			4	
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo				
Nota:	"After adjustment for pre-specified covariates of age, sex, duration of HTN, education, baseline BP and clustering effect, the estimated between-group difference in the proportion of patients with a SBP reduction of at least 10 mmHg was not significant"			5	
Comparación	Difference in the proportion of patients non-adherence to medication according to treatment condition			3	
Desenlace	Otro				
Post-intervención o cambios en la línea de base	Data gathered through electronic medical chart review (follow up one year after baseline), only among patients who had been prescribed medication.			8	
Resultados	Intervención		Comparación		8
	Base	Nº eventos: 33 (58%) Nº Participantes: 57	Nº eventos: 32 (52)	Nº Participantes: 62	
Seguimiento	Nº eventos: 15 (26%)		Nº eventos: 33 (53)		
Nº perdidas y razón					

Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	No					
Algún otro resultado reportado	Unadjusted Odds Ratio (int/control)- OR (95% IC): 0,31 (0,15 a 0,68) p=0.003						8
	Adjusted Odds Ratio (int/control)- OR (95% IC): 0,13 (0,04 a 0,36) p=0.001 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement.)						
	Adjusted Odds Ratio (int/control)- OR (95% IC): 0,10 (0,01 a 0,75) p=0.024 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement and clustering effect.)						
Unidad de análisis	Individuo						
Método estadístico usado	Análisis de regresión logística y cuando es ajustado por el efecto del cluster fue realizado "nlmixed to estimate the model and calculate treatment and control proportions predicted from the model, with education level and clusters weighted by their relative sizes and covariates set at the means in the entire sample"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:	The expected effect of CAHE on self-reported medication adherence did not occur. This result is, however, inconsistent with our data on prescription refills that were registered by physicians in the EMRs of the patients, which suggested an improvement in medication adherence in the intervention group. This						7
<b>Continuos</b>							
Comparación	The mean between- group differences in changes in SBP						3
Desenlace	Secundario SBP						3
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base (6 meses)						
Resultados	Intervención			Comparación			8
Línea de base	Media=156,73	DE=12,26	Nº participantes=71	Media=155,19	DE=10,69	Nº participantes=68	
Seguimiento	Media=146,78	DE=16,23	Nº participantes=71	Media=148,93	DE=13,25	Nº participantes=68	
Nº perdidas y razón	Not contactable=4			Not contactable=1 No longer interested in participation=2			5
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			
Algún otro resultado reportado	Unadjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -3,69 (-8,34 a 0,96) p=0,119 Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -1,59 (-6,08 a 2,89) p=0,488 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement) Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -1,69 (-6,01 a 2,62) p=0,444 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement and clustering effect.)						8
Unidad de análisis	Individuo						
Método estadístico usado	Regresión lineal presentando las siguientes características: "using a treatment indicator as the variable of central interest, the cluster effect as a fixed effect nested within treatment and the same a priori covariates that were used for dichotomous variables"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:							
Comparación	The mean between- group differences in changes in DBP						3
Desenlace	Secundario DBP						3
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base (6 meses)						
Resultados	Intervención			Comparación			8
Línea de base	Media=91,02	DE=9,61	Nº participantes=71	Media=89,60	DE=9,36	Nº participantes=68	
Seguimiento	Media=85,30	DE=10,93	Nº participantes=71	Media=87,9	DE=9,53	Nº participantes=68	
Nº perdidas y razón	Not contactable=4			Not contactable=1 No longer interested in participation=2			5
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			
Algún otro resultado reportado	Unadjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -4,03 (-7,01 a -1,04) p=0,009 Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -2,98 (-5,81 a -0,16) p=0,04 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement) Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -3,01 (-5,73 a -0,30) p=0,032 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement and clustering effect.)						8
Unidad de análisis	Individuo						

Método estadístico usado	Regresión lineal presentando las siguientes características: "using a treatment indicator as the variable of central interest, the cluster effect as a fixed effect nested within treatment and the same a priori covariates that were used for dichotomous variables"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:							
Comparación	The mean between- group differences in changes in adherence to lifestyle						3
Desenlace	Secundario – Adherence to lifestyle						3
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base (6 meses)						
Resultados	Intervención			Comparación			8
Línea de base	Media=2,74	DE=0,73	Nº participantes=52	Media=2,98	DE=0,70	Nº participantes=45	
Seguimiento	Media=3,05	DE=0,52	Nº participantes=52	Media=2,86	DE=0,63	Nº participantes=45	
Nº perdidas y razón	Not contactable=4			Not contactable=1 No longer interested in participation=2			5
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			
Algún otro resultado reportado	Unadjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): 0,43 (0,16 a 0,71) p=0,002 Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): 0,28 (0,07 a 0,51) p=0,013 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement) Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): 0,34 (0,12 a 0,55) p=0,003 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement and clustering effect.)						8
Unidad de análisis	Individuo						
Método estadístico usado	Regresión lineal presentando las siguientes características: "using a treatment indicator as the variable of central interest, the cluster effect as a fixed effect nested within treatment and the same a priori covariates that were used for dichotomous variables"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:	No se observa si la herramienta se ha validado en esta población.						7
Comparación	The mean between- group differences in changes in adherence to medication						3
Desenlace	Secundario – Adherence to medication						3
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base (6 meses)						3
Resultados	Intervención			Comparación			8
Línea de base	Media=5,99	DE=1,95	Nº participantes=50	Media=5,59	DE=2,17	Nº participantes=60	
Seguimiento	Media=6,49	DE=1,69	Nº participantes=50	Media=6,24	DE=1,82	Nº participantes=60	
Nº perdidas y razón	Not contactable=4			Not contactable=1 No longer interested in participation=2			5
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			
Algún otro resultado reportado	Unadjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -0,15 (-0,84 a 0,55) p=0,672 Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -0,13 (-0,69 a 0,43) p=0,649 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement) Adjusted between group difference (int/control)- Mean (95% IC): -0,09 (-0,65 a 0,46) p=0,738 (Adjusted for age, sex, education, duration of hypertension, baseline measurement and clustering effect.)						8
Unidad de análisis	Individuo						
Método estadístico usado	Regresión lineal presentando las siguientes características: "using a treatment indicator as the variable of central interest, the cluster effect as a fixed effect nested within treatment and the same a priori covariates that were used for dichotomous variables"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:	But MMAS-8 is not validated for the patient groups we studied. It is possible that MMAS-8 questions urged patients to give socially desirable answers, at baseline.						7
Comparación	Mean between-group differences in sodium intake						3
Desenlace	Sodium intake						3
Post-intervención o cambios en la línea de base	At 6 months						3

Resultados	Intervención			Comparación			
Línea de base	Media=65,81	DE=56,73	Nº participantes=71	Media=54,93	DE=39,92	Nº participantes=68	7
Seguimiento	Media=47,69	DE=38,94		Media=55,55	DE=48,75		
Nº perdidas y razón	Not contactable=4			Not contactable=1 No longer interested in participation=2			5
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			
Algún otro resultado reportado	Adjusted between-group difference 215.56: 95% CI: 239.36 to 8.23; P=0.197						7
Unidad de análisis	Individuo						
Método estadístico usado	Regresión lineal presentando las siguientes características: "using a treatment indicator as the variable of central interest, the cluster effect as a fixed effect nested within treatment and the same a priori covariates that were used for dichotomous variables"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:							7
<b>Comparación</b>	Mean between-group differences in BMI reduction						3
<b>Desenlace</b>	BMI reduction						3
<b>Post-intervención o cambios en la línea de base</b>	At 6 months						3
Resultados	Intervención			Comparación			
Línea de base	Media=31,13	DE=5,26	Nº participantes=71	Media=31,07	DE=4,80	Nº participantes=68	7
Seguimiento	Media=30,97	DE=5,20		Media=31,13	DE=4,81		
Nº perdidas y razón	Not contactable=4			Not contactable=1 No longer interested in participation=2			5
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			
Algún otro resultado reportado	Adjusted between-group difference -0,49: 95% CI: -1.08 to 0.10; P=0.10						7
Unidad de análisis	Individuo						
Método estadístico usado	Regresión lineal presentando las siguientes características: "using a treatment indicator as the variable of central interest, the cluster effect as a fixed effect nested within treatment and the same a priori covariates that were used for dichotomous variables"						4
Requirió re-análisis	Ajuste del modelo						
Nota:							7
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>							<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	La intervención está enfocada en poblaciones de Surinamese and Ghanaian No mira las posibles diferencias del efecto de la intervención en otro tipo de poblaciones Y dentro de las sesiones tienen en cuenta: elicit contextual influences on hypertension management (social, culture/religion, migration and finance)						2
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	The trial was carried out in Dutch primary health care centres (PHCC) among hypertensive Surinamese and Ghanaian patients with poor BP control.						2
Nota:							
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>							<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Culturally-sensitive framework for eliciting a patient's explanatory model of hypertension and The Dutch guidelines recommend motivational interviewing according to the "5 A's" framework (i.e. ask, assess, advise, assist and arrange)							
<b>Otra información</b>							<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	Nurse-led, culturally adapted patient education appears to have a beneficial effect on DBP and adherence to lifestyle recommendations for African-Surinamese and Ghanaian patients with uncontrolled HTN when compared with usual care. That CAHE can complement standard hypertension care and that patients of African origin with uncontrolled HTN can benefit from the intervention. The study provides clear directions on how CAHE can be delivered in general practice, and may pave the way for the cultural adaptation of hypertension education in different health care settings. Larger studies are needed to confirm our observations and to identify which particular components of the intervention contribute to improved treatment outcomes. Similarly, future studies will have to study the long-term effects of CAHE and whether it is also applicable to and effective for hypertensive patients from other ethnic populations.						9

	This intervention led to significant improvements in DBP and adherence to lifestyle recommendations, supporting the need for culturally appropriate hypertension care	9
Fuentes de financiamiento	This study was funded by ZonMw, the Netherlands organisation for health research and development (grant no. 122000008). ZonMw-website: <a href="http://www.zonmw.nl/en/">http:// www.zonmw.nl/en/</a> . The study sponsor funded the study and carried out annual and mid-term reviews of the study's progress. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript	1
Nota:	This cluster randomised trial is one of the first European studies evaluating the effect of a culturally adapted educational intervention on BP reduction and treatment adherence in ethnic minority patients.	9
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	A comprehensive care management program to prevent chronic obstructive pulmonary disease hospitalizations: A randomized, controlled trial	673
Autores	Fan VS, Gaziano JM, Lew R, Bourbeau J, Adams SG, Leatherman S, et al	
Año	2012	
ID o DOI	10.1059/0003-4819-156-10-201205150-00003	
Objetivo	To determine the efficacy of a comprehensive care management program (CCMP) in reducing the risk for COPD hospitalization.	
Protocolo y registro	Study protocol: Available from the data coordinating center at the Massachusetts Veterans Epidemiology Research and Information Center (MAVERIC) (e-mail, MAVERIC-Info @va.gov). Statistical code: Available from Dr. Lew (e-mail, robert.lew2 @va.gov). Data set: Not available	682
	ClinicalTrials.gov registration number: NCT00395083	673
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	Patients hospitalized for COPD in the past year (12 months before enrollment)	673-4
Entorno (incluye localización y contexto social)	20 Veterans Affairs (VA) hospital-based outpatient clinics (Boston)	673
Total de la población al inicio del estudio	426 patient	676
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	No aplica	
Edad o grupos etarios	Mean age (SD)	677
	<ul style="list-style-type: none"> <li>Usual care group=65,8 (8,2)</li> <li>Intervention grupo=66,2 (8,4)</li> </ul>	
Sexo	<ul style="list-style-type: none"> <li>Usual care group= Male 96,3%</li> <li>Intervention grupo= Male 97,6%</li> </ul>	677
Raza/etnia	<ul style="list-style-type: none"> <li>Usual care group= White (88%), African American (9,2%), American Indian (2,3%), Asian (0,5%), Hawaiian/Pacific Islander (0%)</li> <li>Intervention group= White (86,6%), African American (11,5%), American Indian (1,4%), Asian (0%), Hawaiian/Pacific Islander (0,5%)</li> </ul>	677
Severidad de la enfermedad/comorbilidades	<ul style="list-style-type: none"> <li>Usual care group= Ischemic heart disease (28,1%), Congestive heart failure (14,7%), Atrial fibrillation (6,9%), Hypertension (60,4%), Stroke (10,1%), Peripheral vascular disease (6,9%), Diabetes mellitus (28,1%), Chronic renal failure (3,2%), Cancer (other than skin cancer) (12,4%), Depression (15,7%).</li> <li>Intervention group= Ischemic heart disease (34,9%), Congestive heart failure (20,1%), Atrial fibrillation (8,6%), Hypertension (61,7%), Stroke (7,7%), Peripheral vascular disease (11,5%), Diabetes mellitus (24,9%), Chronic renal failure (3,4%), Cancer (other than skin cancer) (10,5%), Depression (19,1%).</li> </ul>	677
Mediciones por subgrupo	No	
Obtención de consentimiento informado	The institutional review boards at all sites approved the study, and all patients gave written informed consent	674
<b>Métodos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Diseño	Multisite, randomized, controlled	674
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Individuo (paciente hospitalizado)	674
Fecha Inicio/Final	January 2007	677
Duración total del estudio	September 2009	677
Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none"> <li>Patients in the study had been hospitalized for COPD in the 12 months before enrollment.</li> <li>Postbronchodilator ratio of FEV1 to FVC below 0.70 with an FEV1 below 80% predicted</li> </ul>	674

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Age older than 40 years</li> <li>• Current or past history of cigarette smoking (&gt;10 pack-years)</li> <li>• At least 1 visit in the past year to either a primary care or pulmonary clinic at a Veterans Affairs (VA) medical center</li> <li>• No COPD exacerbation in the past 4 weeks</li> <li>• Ability to speak English</li> <li>• Access to a telephone</li> </ul>	674
Criterios de Exclusión	• A primary diagnosis of asthma or any medical conditions that would impair their ability to participate in the study or to provide informed consent.	674
Método de reclutamiento	The CSP Coordinating Center in Boston, Massachusetts, randomly assigned eligible patients in equal numbers to 2 groups, stratifying patients by site to allow for possible regional differences in patient characteristics and clinical practice patterns.	674
Calculo de tamaño de muestra	The sample size on the test of the primary hypothesis (the COPD hospitalization hazard rate for intervention did not differ from that for standardized care) with 90% power to reject the null hypothesis for the log-rank test, based on enrolling 960 patients and losing 7% annually and assuming a hazard ratio (HR) of 1.37 (or 0.73). No interim analyses were planned. The study began with 6 sites to determine whether recruitment goals could be met. After this was achieved, the study was expanded to the full 20 sites.	675
Aprobación de comité de ética	In accordance with VA Cooperative Studies Program (CSP) procedures, the ethical and scientific aspects of the study were evaluated by the CSP Human Rights Committee. A Data and Safety Monitoring Committee (DMC) reviewed the study at least annually.	674

Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)			pg & fig/tabla
Dominio	Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")	Soportes	
Generación de la secuencia aleatoria	Bajo	Cita: "...Randomization lists were generated on the basis of random, permuted blocks of variable size to ensure approximate balance over time... stratifying by site based on random, permuted blocks of variable size".	674
Ocultamiento de la secuencia	Poco claro	Comentario: No se describe el método el método respectivo de la forma de asignación de la intervención por tal razón no hay suficiente información para permitir una evaluación.	
Cegamiento de los participantes y personal	Bajo	Comentario: No se realiza el cegamiento debido al tipo de intervención, pero los autores consideran que es probable que esto no afecte a los resultados.	674
		Cita: "The 2 groups differed on the basis of a complex behavioral intervention that made blinding impossible.... we believe that the threats to internal validity, such as biased group assignment or biased outcome assessment, were not contributors"	681
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Bajo	Comentario: No se realiza el cegamiento, pero los autores consideran que es probable que esto no afecte a los resultados. Además realizan la recolección de los desenlaces con personal cegado	673
		Cita: "we believe that the threats to internal validity, such as biased group assignment or biased outcome assessment, were not contributors... all outcomes were collected by centralized staff blinded to study group, and all hospitalizations were adjudicated by a committee that was also blinded to study group"	674/681
Datos de resultados incompletos	Poco claro	Comentario: No hay datos suficientes para realizar esta evaluación, a pesar de que en la figura 1 mencionan que no presentaron perdidas en el seguimiento, mencionan 18 personas que no continuaron. Cita: "a total of 8 patients in the intervention group and 10 in the usual care group either did not attend scheduled study visits or formally withdrew from the study"	677
		Comentario: Además solo realizaron para el resultado primario un análisis por intención a tratar, pero se observa en los secundarios datos incompletos pero no se proporciona los motivos. Cita: "For the primary intention-to-treat analysis"	675
Notificación selectiva de los resultados	Bajo	Comentario: hacen referencia a la presencia de un protocolo, pero este no está disponible, pero también fue monitoreado por Data and Safety Monitoring Committee (DMC). Y al observar el registro del estudio en clinicaltrials.gov se observan que se reportaron todos los resultados especificados. Cita: "The DMC monitored patient accrual, outcomes, complications, and protocol adherence"	676
Otros posibles riesgos			
Grupos 1			pg & fig/tabla
Nombre grupo	CCMP Intervention (comprehensive care management programs)		676
Nº de personas o clúster	209 patients		676
Descripción	The CCMP included COPD the educational program consisted of 4 individual 90-minute weekly sessions. The sessions used an educational booklet developed specifically for this study. Topics and educational objectives were a needs assessment followed by an overview of COPD, including medications and exacerbations; self-monitoring of respiratory symptoms and instructions for self-initiation of an antibiotic or prednisone for an exacerbation; learning breathing and coughing techniques and strategies for energy conservation and reduction of anxiety; and medication adherence, smoking cessation, nutrition, and regular exercise at home. The individual lessons were reinforced during a group session and by telephone calls from the case manager once per month for 3 months and every 3 months thereafter. Also, received a COPD informational booklet; their primary care providers received a copy of COPD guidelines and were advised to manage their patients according to these guidelines.		673-675
Duración de seguimiento	12 months		675
Variables económicas (costo de la intervención...)	No fueron incluidas		

<b>Grupos 2</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	Guideline-Based Usual Care	675
Nº de personas o clúster	217 patient	
Descripción	Primary care providers for patients in both groups received the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease guidelines and were advised to manage their patients according to published guidelines. All participants received a general information booklet for patients with COPD and had access to an existing VA 24-hour help line for any medical questions about their COPD.	675
Duración de seguimiento	12 months	675
Variables económicas (costo de la intervención...)	No fueron incluidas	
<b>Desenlaces Primario</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre del desenlace	Time from randomization to first COPD hospitalization	675
Definición	A COPD exacerbation was defined as an increase in or new onset of 1 or more respiratory symptoms (cough, sputum, wheezing, dyspnea, or chest tightness) persisting for at least 2 days.	675
Unidad de medición es relevante	Si es relevante además fue revisada por tres especialistas por separado y sesgados.	675
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Research staff blinded to study group contacted patients every 2 months to determine whether they developed symptoms of a COPD exacerbation, along with details of treatment and health care use. Per protocol, 3 blinded pulmonologists reviewed discharge summaries and other available information to determine the primary cause of all hospitalizations and classified them as COPD-related (exacerbation or pneumonia), cardiovascular, or other.	675
Perdidas (%)	0% no presentaron perdidas (Tabla 2)	679
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/herramienta es validada	Fue evaluado por tres especialistas para ser considerado como el desenlace de interés	675
<b>Desenlaces Secundarios</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre del desenlace	Mortality	675
Definición	Included All-cause mortality	674
Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Deaths were ascertained by staff at the study sites, by review of VA electronic medical and administrative records and by a search of the Social Security Death Index. Extensive multivariate analyses failed to identify any factors alone or combined that could plausibly explain the difference in mortality. Two of the authors who were blinded to study group reviewed all available medical information and did not find anything in the deaths that would not be expected in frail patients with COPD	677
Perdidas (%)	0% no presentaron perdidas (Tabla 3)	679
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/herramienta es validada		
Nombre del desenlace	Treatment for exacerbations in each group	676
Definición	We compared the annual rates of prednisone and antibiotic treatment for exacerbations in each group by using data from the first year of follow-up, number of exacerbation episodes requiring prednisone and antibiotic use, the number of days from onset of an episode to first use of prednisone or an antibiotic, and the number of days over time per patient, assuming that each patient's series of monthly exacerbation counts were autocorrelated (first-order structure) and weighting the data according to each patient's time in the study if less than 1 year	676
Unidad de medición es relevante	The early termination led to several unplanned post-hoc analyses focusing on the use of prednisone and antibiotics.	676
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	The rates as the number of times the medication was taken divided by the total patient-years.	677
Perdidas (%)	0% no presentaron perdidas (Tabla 3)	679
Imputación de datos perdidos	No	
El desenlace/herramienta es validada	Post-hoc analyses	676

Nombre del desenlace	Others: health-related quality of life, Depression, COPD-related knowledge, and self-efficacy					675	
Definición	Desenlaces secundarios						
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	At baseline and 1-year study visits					675	
Perdidas (%)	No específica, pero se observa que los pacientes analizados son menos que los desenlaces primarios					675	
Imputación de datos perdidos	No específica						
El desenlace/herramienta es validada	No específica validación de las herramientas						
<b>Resultados</b>						<b>pg &amp; fig/tabla</b>	
<b>Dicotómicos</b>							
Comparación	time from randomization to first COPD hospitalization intervention vs usual care					675	
Desenlace	Primario - Hospitalizations					677	
Resultados	Intervención			Comparación			
All	Nº eventos: 54	Nº Participantes: 209		Nº eventos:55	Nº Participantes:217		679
COPD-related	36			34			
Exacerbation	27			26			
Exacerba/Pneumonia	6			4			
Pneumonia	3			4			
Nº perdidas y razón	No		No				676
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No		No				
Algún otro resultado reportado	At that time, the 1-year cumulative incidence of COPD- related hospitalization was 27% in the intervention group and 24% in the usual care group (HR, 1.13 [95% CI, 0.70 to 1.80]; P = 0.62) Cardiovascular HR, 2.06 [95% CI, 0.87 to 4.86]; P = 0.099 Other HR, 1.06 [95% CI, 0.59 to 1.86]; P = 0.86					677	
Unidad de análisis	Time to event for a first COPD hospitalization					675	
Método estadístico usado	For the primary intention-to-treat analysis, the null hypothesis was that the COPD hospitalization hazard rate for intervention did not differ from that for standardized care. The log-rank test had a 2-sided alternative hypothesis that the ratio of the 2 hazard rates was either greater than 1.37 or less than 0.73 (1/1.37).  The estimated HR comparing treatments was obtained from the Cox proportional hazards model analogous to the log-rank test. One-year rates of COPD hospitalization-free survival were obtained by the Kaplan-Meier method. Planned exploratory analyses used the Cox proportional hazards model to indicate whether covariates could account for some of the treatment effect.					675-676	
Requirió re-análisis	To predict what the result would have been if the trial had continued, we computed the probability of rejecting the null hypothesis conditional on the accrued data of 109 events when enrollment stopped. Under the alternative hypothesis (HR, 1/1.37= 0.73; log[HR], -0.315), the probability that future data acquired up to the planned termination would have led to rejection of the null hypothesis was 0.0002. In other words, if a futility analysis had been planned, this result would have ended the study					678	
Nota:	The assumption of proportional hazards was not rejected, indicating a good fit of the model to the data.					677	
Comparación	Assessment of General Health Status, Depression, COPD-Related Knowledge, and Patient Self-Efficacy					W-235	
Desenlace	Others						
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base					W-235	
Resultados Cambios línea de base y al año	Intervención			Comparación			W-235
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	
Total General Health Status	-1,36	11,2	101	-1,67	11,5	108	
Depression	-1,28	5,3		-0,73	4,9		
Knowledge	0,32	2,2		0,21	1,8		
Self-efficacy	1,12	2,3		0,47	2,3		
Nº perdidas y razón	Solo incluyeron a la mitad de los pacientes fueron los que completaron en su totalidad la línea de base y la visita de un año			Solo incluyeron a la mitad de los pacientes fueron los que completaron en su totalidad la línea de base y la visita de un año			679
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			

Algún otro resultado reportado	No statistically significant improvements in COPD-specific or general health status, depressive symptoms, COPD-related knowledge, or patient satisfaction A statistically significant improvement was observed in patient self-efficacy (mean difference of 1-year change in self-efficacy score, 0.65 [SD, 2.3] [CI, 0.02 to 1.29]; P = 0.044)	W 235 679
Método estadístico usado	General health-related quality of life was measured with the Veterans Medical Outcomes Study Short Form-12, which has 12 questions summarized in 2 subscales (physical and mental component summary scales); scores range from 0 (worst) to 100 (best). Depressive symptoms with the 8-item Patient Health Questionnaire, the score of which ranges from 0 (no depressive symptoms) to 24; a score of 10 or higher indicates depression A 15-item COPD knowledge questionnaire assessed medication use, management of dyspnea, and exacerbations They developed an 8-item questionnaire to measure patients' self-efficacy in carrying out the targeted self- management behavior	675
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No lo considera	
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No	
Nota:		
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
No		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	The trial was stopped because all-cause mortality was higher in the intervention group than in the usual care group. We could not demonstrate an improvement in COPD knowledge. There was a modest statistically significant difference in the rate of use of prednisone per exacerbation, but not of antibiotics, and the differences in the timing of either prednisone or antibiotic use were not statistically significant. The self-management intervention failed to yield a structural behavioral change, in that patients in the intervention group did not initiate their action plan for worsening respiratory symptoms any sooner than the patients in the control group, as was intended. The intervention group had an unexpected excess mortality that we could not satisfactorily explain, even with additional data collection. Whatever the reason, our findings suggest that self-management or intensive management protocols may not be appropriate for all subsets of patients with COPD.	680
Fuentes de financiamiento	By the Cooperative Studies Program (CSP #560), Veterans Affairs Office of Research and Development.	681
Nota:	Limitations: Available data could not fully explain the excess mortality in the intervention group. Ability to assess the quality of the educational sessions provided by the case managers was limited	673
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	The implementation of a community-based aerobic walking program for mild to moderate knee osteoarthritis (OA): a knowledge translation (KT) randomized controlled trial (RCT)	
Autores	Brosseau L, Wells GA, Kenny GP, Reid R, Maetzel A, Tugwell P, et al	
Año	2012	Part I - 1
ID o DOI	Part I= 10.1186/1471-2458-12-871 / Part II= 10.1186/1471-2458-12-1073 Son dos artículos en donde reportan los resultados de un mismo estudio por separado	
Objetivo	The purpose of this randomized controlled trial (RCT) was to compare 1) improvements in quality of life (QOL) (primary outcome) and clinical outcomes such as pain, mobility and endurance 2) adherence rates 3) confidence and self-efficacy after the implementation of a 12-month supervised community-based aerobic walking program (SCAWP) based on the Ottawa Panel clinical practice guidelines (CPG) [3-5] among three knowledge translation (KT) intervention arms	Part I - 2
Protocolo y registro	Current Controlled Trials IRCTN09193542	
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	Adult with moderate osteoarthritis (OA)	Part I - 1
Entorno (incluye localización y contexto social)	Club sites in Ottawa, Ontario, Canada and one in Gatineau Quebec Canada	Part I - 4
Total de la población al inicio del estudio	222	Part I - 4
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	No aplica	

Edad o grupos etarios	Mean (SD) 63,4 (8,6)	Part I - 6
Sexo	Group: (Women) Walking=55(69,9%) Walking and behavioural=51(73,9%) Self-directed control=47(63,5%) Total=153(68,9%)	Part I - 6
Raza/etnia	Group: % Walking=White (87,3), Black (1,3), Hispanic (2,5), Asian or Pacific Islander (6,3), American Indian or Alaskan native (1,3), Other (1,3) Walking and behavioural=White (87), Black (4,3), Hispanic (2,9), Asian or Pacific Islander (5,8), American Indian or Alaskan native (0), Other (0) Self-directed control=White (91,9), Black (1,4), Hispanic (5,4), Asian or Pacific Islander (1,4), American Indian or Alaskan native (0), Other (0) Total=White (88,7), Black (2,3), Hispanic (3,6), Asian or Pacific Islander (4,5), American Indian or Alaskan native (0,5), Other (0,5)	Part I - 6
Severidad de la enfermedad/ co- morbilidades	Affected knee=(%) Walking=Right (41,8), Left (39,2), Both side (19) Walking and behavioural=Right (44,9), Left (33,3), Both side (28,4) Self-directed control=Right (33,8), Left (37,8), Both side (28,4) Total= Right (40,1), Left (36,9), Both side (23) Mean duration of OA total= 10,3 (9,26)	Part I - 6
Mediciones por subgrupo	No	
Obtención de consentimiento informado	cita='At the first visit, written informed consent was obtained if the patient met all inclusion criteria'	Part I - 3
<b>Métodos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Diseño	This single blind RCT, funded by the Canadian institutes of Health Research, used a parallel group design (1:1:1)	Part I - 3
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Individuo	
Fecha Inicio/Final	January 2007 and December 2008, 629 study participants were assessed for eligibility .... Follow-up for the last recruited participant was completed in May 2010	Part I - 9
Duración total del estudio	Participants were assessed by an independent evaluator at baseline and at each 3 month interval (months 3, 6, 9, 12) during the intervention period. Participants were then assessed at 3 and 6 months post-intervention during the follow-up period (15 and 18-months).	Part I - 7
Criterios de inclusión	* Had a confirmed diagnosis with mild to moderate unilateral or bilateral OA according to the American College of Rheumatology clinical and radiographic/magnetic resonance imagery criteria. * Reported pain for at least 3 months. * Expected his/her medication to change during the study period. * Demonstrated an ability to ambulate for a minimum of 20 minutes, at their own pace with minimal reports of pain ( $\leq 3$ out of 10 on a visual analogue pain rating scale) * Were able to be treated as an out-patient * were available three times a week over a period of 12 months	Part I - 3
Criterios de Exclusión	1) Participated in regular physical or aerobic sports $\geq 2$ times per week for more than 20 minutes per session during the previous 6 months 2) severe OA of the knee or other weight bearing joints of the lower extremity 3) no written consent from their physician to participate in the study 4) pain at rest or at night 5) received rehabilitation treatment, corticosteroids injection, or any other pain-related treatment besides medication for arthritis within the last 12 months 6) uncontrolled hypertension (Systolic blood pressure $>160$ mm Hg confirmed by the screening initial VO2 max test at the Ottawa Heart Institute) 7) other illnesses, such as rheumatoid arthritis (judged by the patient or study physician to make participation in this study inadvisable) 8) significant cognitive deficit resulting in an inability to understand or comply with instructions 9) surgery planned in the next year 10) Intention to move away from Ottawa region in the next year 11) an inability to communicate in English or French 12) an unwillingness to sign informed consent	Part I - 3
Método de reclutamiento	The study coordinator assessed the inclusion/exclusion criteria of all potential participants by telephone	Part I - 3
Calculo de tamaño de muestra	No mencionan este aspecto en ninguno de los dos articulos	
Aprobación de comité de ética	This community-based study was approved by the University of Ottawa Research Ethics Board and the City of Ottawa Public Health Research Ethics Board. This	Part I - 3
<b>Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
<b>Dominio</b>	<b>Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")</b>	<b>Soportes</b>
Generación de la secuencia aleatoria	Bajo	Cita="Participants were randomly assigned to one of the three KT intervention groups using central randomization and computer generated numbers"
Ocultamiento de la secuencia	Poco claro	Cita="...using central randomization..." Comentario= No se describe con detalle suficiente la forma de central de aleatorización para permitir una evaluación definitiva

Cegamiento de los participantes y personal	Bajo	Cita="research staff and evaluators were blinded to the treatment allocation.. the effectiveness of blinding the evaluator to treatment allocation was assessed through a questionnaire where she was asked to identify which group each participant belonged to. The blinding rate of the evaluator was high (98%).... Due to the nature of the physical intervention, it was not practical to blind the study participants and PA specialists supervising the aerobic walking program" Comentario= Solo se realiza el cegamiento al personal que realiza la recolección de los datos, pero realizan la aclaración del porque no se realiza a los pacientes y personal de los programas.	Part I - 4 Part I - 10
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Bajo	Cita="An independent evaluator was blinded to assess outcome measures"	Part I - 4
Datos de resultados incompletos	Alto	Cita="The analysis was conducted on an intention-to-treat basis...Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data" ..."The drop-out rate results are comparable to other long-term studies which have used an aerobic PA intervention with a behavioural intervention component" ...Limitation...there were missing data from the 7-day PAR questionnaire as not all participants completed their log- books and had difficulties remembering which activities were performed, resulting in a potential recall bias Comentario= A pesar de realizar un adecuado análisis de los datos y que estos datos faltantes están equilibrados entre los tres grupos. Se observan datos en desenlaces que no se reportan y no coinciden con la tasa de abandono reportada por el estudio.	Part I - 8 Part I - 10 Part II - 12
Notificación selectiva de los resultados	Poco claro	Cita="Trial Registration: Current Controlled Trials IRSCN09193542" Comentario= No hay información suficiente para permitir la evaluación, debido a que no se describe la presencia de un protocolo y al revisar el registro en IRSCN sale que no hay resultados encontrados para este número de registro"	Part I - 2
Otros posibles riesgos			
<b>Grupos WB</b>			<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	Walking and Behavioural intervention		Part I - 4
Nº de personas	79		Part I - 4
Descripción	<p>Received the <b>SCAWP</b> (supervised community-based aerobic walking program) with a behavioural intervention and an educational pamphlet on the benefits of walking for OA.</p> <p>Participants took part in three weekly walking sessions over a 12-month period. Every walking session began with a 10-minute warm-up, consisting of light aerobic exercises, before engaging in the 45-minute aerobic walking phase. The walking sessions ended with a 10-minute cool-down consisting of light aerobic exercises and stretching. The target intensity of the walking phase was approximately 50% to 70% of the subjects' pre-determined maximum heart rate as recommended in The Ottawa Panel guidelines. The SCAWP was divided into two stages: 1) A "progressive aerobic phase" wherein the duration and heart rate intensity progressively increased over time and 2) a "maintenance aerobic phase" wherein the duration and heart rate intensity remained constant for the remainder of the walking program.</p> <p>Following randomization, the PA specialist met each subject in the walking groups to explain the SCAWP and its progression (Additional file 2) and was present for a minimum of three weekly scheduled sessions over one year to supervise the subjects. The PA specialist was responsible for monitoring and recording attendance, blood pressure, heart rate (during and after the walking session), time duration, and number of steps (pedometer) at each walking session.</p> <p>The <b>behavioural intervention</b> consisted of twenty 2-hour group sessions discussing short-term goal setting and education of arthritis-related topics over a duration of 20 consecutive weeks. Individual long-term goal setting was discussed at the beginning of the PACEx program and was followed by monthly face-to-face meetings throughout the first 6 months of the program. The last six months of the 12-month supervised phase consisted of participants receiving counselling via telephone discussing long-term goals and barriers/facilitators to adhere to the walking program.</p>		Part I - 3-4-5
Duración de seguimiento	Participants were assessed each 3 month interval (months 3, 6, 9, 12) during the intervention period. Participants were then assessed at 3 and 6 months post-intervention during the follow-up period (15 and 18-months).		Part I - 8
Variables económicas (costo de la intervención...)	No incluyeron este aspecto		
<b>Grupos W</b>			<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	Walking intervention		Part I - 4
Nº de personas	69		Part I - 4
Descripción	<p>Received the SCAWP and an educational pamphlet on the benefits of walking for OA.</p> <p>Participants took part in three weekly walking sessions over a 12-month period. Every walking session began with a 10-minute warm-up, consisting of light aerobic exercises, before engaging in the 45-minute aerobic walking phase. The walking sessions ended with a 10-minute cool-down consisting of light aerobic exercises and stretching. The target intensity of the walking phase was approximately 50% to 70% of the subjects' pre-determined maximum heart rate as recommended in The Ottawa Panel guidelines. The SCAWP was divided into two stages: 1) A "progressive aerobic phase" wherein the duration and heart rate intensity progressively increased over time and 2) a "maintenance aerobic phase" wherein the duration and heart rate intensity remained constant for the remainder of the walking program.</p> <p>Following randomization, the PA specialist met each subject in the walking groups to explain the SCAWP and its progression (Additional file 2) and was present for a minimum of three weekly scheduled sessions over one year to supervise the subjects. The PA specialist was responsible for monitoring and recording attendance, blood pressure, heart rate (during and after the walking session), time duration, and number of steps (pedometer) at each walking session.</p>		Part I - 3-4-5
Duración de seguimiento	Participants were assessed each 3 month interval (months 3, 6, 9, 12) during the intervention period. Participants were then assessed at 3 and 6 months post-intervention during the follow-up period (15 and 18-months).		Part I - 8

Variables económicas (costo de la intervención...)	No incluyeron este aspecto	
<b>Grupos control (C)</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	Self-directed control	Part I - 4
Nº de personas o clúster	74	Part I - 4
Descripción	Received the educational pamphlet. Participants were invited to consult an educational pamphlet on walking and OA. One introductory session was provided to the participant wherein they were provided an educational pamphlet describing the benefits of walking for OA, a pedometer to monitor PA, and a log- book to record activity level and adherence while partaking in the self-directed walking program. Participants in this group received monetary compensation for the completion his/her log books. The self-directed (C) group did not have any contact with participants in the two other groups, avoiding potential contamination	Part I - 4-5-7
Duración de seguimiento	Participants were assessed each 3 month interval (months 3, 6, 9, 12) during the intervention period. Participants were then assessed at 3 and 6 months post-intervention during the follow-up period (15 and 18-months).	Part I - 8
Variables económicas (costo de la intervención...)	No incluyeron este aspecto	
<b>Desenlaces</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre del desenlace	Increase short and long term adherence to the SCAWP	Part I-3
Definición	Participant adherence was assessed as the number of attended walking sessions divided by the number of prescribed sessions (3 sessions per week). From baseline to 12 months, the adherence rates were expressed as percentages of adherence among walkers who did not drop out and were reported as means (+/-standard deviation) for each time period between groups	Part I-8 y 10
Unidad de medición es relevante	Si - es un resultado principal de las intervenciones KT	Part I - 2
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Among the W and WB groups, the number of attended walking sessions throughout the 12-month duration was recorded by the exercise therapist on site as well as through the use of participants' completed log- books which provided information on the amount of performed PA during the 12-month intervention period. The C group's adherence was only assessed by the completed log books.	Part I- 8
Perdidas (%)	During the 12-month intervention period, the dropout rates were 43.1% for the W group, 40.6% for the WB group and 49.3% for the self-directed (C) group. From baseline to 18 months, the dropout rates were 44.3% for the W group; 40.6% for the WB group and 52.1% for the self-directed (C) group	Part I 10
Imputación de datos perdidos	The adherence rates were expressed as percentages of adherence among walkers who did not drop out Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part I - 10 Part I - 8
El desenlace/ herramienta es validada	No especifican la validacion del desenlace pero si la importancia que es uno de los principales resultados de las intervenciones KT y es medida en otros estudios similares.	Part I - 2
Nombre del desenlace	Reduce the dropout rate and Retation Rate	Part I-3 Appendices 4
Definición	No especifica	
Unidad de medición es relevante	Si ya que la alta tasa de abandono afecta los resultados del estudio	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	no especifica claramente y la tasa de retencion solo la mencionan en el apendice	
Perdidas (%)	During the 12-month intervention period, the dropout rates were 43.1% for the W group, 40.6% for the WB group and 49.3% for the self-directed (C) group. From baseline to 18 months, the dropout rates were 44.3% for the W group; 40.6% for the WB group and 52.1% for the self-directed (C) group	Part I 10
Imputación de datos perdidos	Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part I - 8
El desenlace/ herramienta es validada	No especifican la validacion del desenlace	Part I - 3
Nombre del desenlace	Behaviour change by improving self-efficacy	Part I - 3
Definición	Behaviour change was based on the concept of self-efficacy and was measured using the Stanford scale on chronic disease.	Part I - 8
Unidad de medición es relevante	No es muy clara la unidad de medicion de la escala	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	In regards to the research question, behaviour change results were only reported at 12 and 18-months	Part I - 8
Perdidas (%)	During the 12-month intervention period, the dropout rates were 43.1% for the W group, 40.6% for the WB group and 49.3% for the self-directed (C) group. From baseline to 18 months, the dropout rates were 44.3% for the W group; 40.6% for the WB group and 52.1% for the self-directed (C) group	Part I 10
Imputación de datos perdidos	Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part I - 8
El desenlace/ herramienta es validada	No es claro en la validacion de la escala utilizada, ademas que no tiene referencia. Al realizar la busqueda se encuentra la siguiente <a href="http://patienteducation.stanford.edu/research/cdquest.pdf">http://patienteducation.stanford.edu/research/cdquest.pdf</a> la cual es la mas cercan a lo reportado en el estudio.	
Nombre del desenlace	Health-related quality of life - Arthritis	Part II - 3
Definición	Improvements in quality of life (QOL) (primary outcome) - The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2) is a disease-specific QOL scale that consists of 101 items and includes various subscale scores. The AIMS2 walking and bending sub-scale was considered as the primary outcome. All other AIMS2 sub-scales were used as secondary outcomes, since the use of the global scale could not be aggregated.	Part II - 3

Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Participants were asked to complete a collection of validated questionnaires as well as perform physical tests as each assessment.	Part II - 3
Perdidas (%)	W=44,3% (12 m y 18 m) WB= 36,2% (12 m) y 40,6% (18 m) C=45,2% (12 m) y 50,7% (18 m)	Calculada con los datos tabla 2
Imputación de datos perdidos	Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part II - 4
El desenlace/ herramienta es validada	Si= AIMS2 has been shown to possess good internal consistency (alpha coefficients ranging from 0.72 to 0.91) and good test-retest results (Intraclass correlation coefficients ranging from 0.78 to 0.94). The construct and criterion validity have also been examined. Standardized response means for changes in AIMS2 scores over 3 months ranged from 0.36 to 0.80 [36,44].	Part II - 3
Nombre del desenlace	Health-related quality of life - QOL	Part II - 3
Definición	The SF-36 (Short Form), which consists of 8 subscales and 36 questions, is a reliable and valid scale for several medical conditions, including rheumatic diseases.	Part II - 3
Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Participants were asked to complete a collection of validated questionnaires as well as perform physical tests as each assessment.	Part II - 3
Perdidas (%)	W=44,3% (12 m y 18 m) WB= 36,2% (12 m) y 40,6% (18 m) C=45,2% (12 m) y 50,7% (18 m)	Calculada con los datos tabla 2
Imputación de datos perdidos	Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part II - 4
El desenlace/ herramienta es validada	Internal consistency via Cronbach's alpha ranged between 0.74 to 0.96 over the different sections. Test- retest intra-class correlation coefficients range from 0.75 to 0.93. Validity testing revealed that the SF-36 correlates moderately with several other measures related to disease activity, pain, depression and QOL.	Part II - 3
Nombre del desenlace	Functional status	Part II - 3
Definición	self-administered multidimensional index containing dimensions for pain, stiffness and function	Part II - 3
Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Participants were asked to complete a collection of validated questionnaires as well as perform physical tests as each assessment.	Part II - 3
Perdidas (%)	W=45,6% (12 m y 18 m) WB= 39,7% (12 m) y 38,2% (18 m) C=42,9% (12 m) y 50% (18 m)	Calculada con los datos total tabla 3
Imputación de datos perdidos	Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part II - 4
El desenlace/ herramienta es validada	This five-point instrument has been shown to be valid and reliable in individuals with hip or knee rheumatic conditions, and is sensitive to change over time. The WOMAC questionnaire has been adapted for lower extremity joints affected with OA, such as the knee or hip. WOMAC is widely used and has been extensively validated. The minimal clinically important rehabilitation effects ranged from 0.80 to 1.01	Part II - 3
Nombre del desenlace	Level of physical activity	Part II - 3
Definición	duration (minutes per day), frequency (days per week) and intensity (multiples of basal metabolic rate) ( the Seven Day Physical Activity Recall (7-day PAR))	Part II - 3
Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Participants were asked to complete a collection of validated questionnaires as well as perform physical tests as each assessment.	Part II - 3
Perdidas (%)	Leisure time activities only: W=20,3% (Baseline), 46,8% (12 m) y 49,4% (18 m) WB= 29% (Baseline), 46,4% (12 m) y 52,2% (18 m) C=23,3% (Baseline), 47,9% (12 m) y 56,2% (18 m)	Calculada con los datos total tabla 7
Imputación de datos perdidos	Missing data was assumed to be missing at random (MAR) in order to include incomplete data.	Part II - 4
El desenlace/ herramienta es validada	The 7-day PAR is a validated instrument in a calendar format. An adapted version of the 7-day PAR was included in the logbooks where PA was split into distinct walking and other physical activities	Part II - 3
<b>Resultados</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
<b>Dicotómicos</b>		
Comparación	Comparison three group dropout rate and Retation Rate	
Desenlace	Reduce the dropout rate and Retation Rate	PartI-3 Appendices 4

Resultados	Walking		Walking & Behavioural		Self-directed		
	Nº Eventos	Nº participantes	Nº Eventos	Nº participantes	Nº Eventos	Nº participantes	
12 months Dropout rate	34	79	28	69	36	73	Appendices 4
Retention rate	45		41		37		
Follow-uo 18 months Dropout rate	35		28		38		
Retention rate	44		41		35		

98	101								
43,0%	40,6%	49,3%	Reportados en el archivo adicional 4	calculos realizadon con los datos de la figura 1					
				32	35	25	27	31	39
44,3%	40,6%	52,1%		40,5%	44,3%	36,2%	39,1%	42,5%	53,4%

Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	No								
Algún otro resultado reportado	The dropout rates were lower for the WB group at 12-months (36.2%) and 18-months (39.1%) compared to the W group (40.5% and 44.3%) and the self-directed (C) group (40.5% and 51.3%). The W and self-directed (C) groups had the highest dropout rates (40.5%) at 12 months while the self-directed (C) group had the highest at 18 months (52.1%)		Part I - 10							
Unidad de análisis	Individuo									
Método estadístico usado	Descriptive statistics including mean, standard deviation and frequencies were used to summarize the study groups at baseline.		Part I - 8							
Requirió re-análisis	No									
Nota:	Se observa que los datos no son iguales el la figura 1 y el apendice. El calculo de la menor tasa no conincide con las calculadas con los datos existentes: The dropout rates were lower for the WB group at 12-months (28,6%) and 18-months (27,7%) compared to the W group (34,7%) and the self-directed (C) group (36,7% and 37,6%)									
<b>Continuos</b>										
Comparación	Self-efficacy, measured with Stanford questionnaire on chronic disease for three study arms		Part I - 8							
Desenlace	Behaviour change by improving self-efficacy		Part I-3							
Post-intervención o cambios en la línea de base	Medidas en intervalos durante el periodo de intervencion y post-intervencion.		Part I - 7							
Resultados	Walking			Walking & Behavioural			Self-directed			
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	
Coping with symptoms Baseline	1,069	0,794	79	1,126	0,775	69	1,013	0,946	73	
12 months	0,864	0,771	44	1,239	0,73	44	1,192	0,835	40	
18 months	1,064	0,952	44	1,388	0,856	41	1,342	1,127	36	
Confidence about doing things Baseline	7,406	1,719	79	7,827	1,488	69	7,858	1,512	73	
12 months	7,826	1,551	44	7,682	1,785	44	8,064	1,575	39	
18 months	7,69	1,92	43	7,546	1,848	41	8,015	1,476	36	
Nº perdidas y razón	44,3% (12 m y 18 m)			36,2% (12 m) y 40,6% (18 m)			45,2% (12 m) y 50,7% (18 m)			Calculado con losdatos disponibles
	Unable to contact after admission, No motivation, No MD clearance after 2nd VO2max test, Time commitment, No OA when based on X-Rays or MRI, Health problems, Transportation, Personal/family reasons, Knee surgery, Injury, Did not like structure of program, No specific reason, Moved away. Se observa que en el grupo C la falta de un paciente ya que se observa que eran 74, pero no se encuentra explicacion a esto. Estos datos no considen con los datos reportados en la figura 1 y apendice 3									Additional file 3
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			No			

Algún otro resultado reportado	After the 12 month intervention phase, no differences were found between the 3 comparative groups for any of the items on the Stanford scale . Moreover, variables related to coping with symptoms and confidence were higher among the WB group compared to the other two groups. At 18- months, statistically significant differences in scores between the WB and W groups revealed that the W group demonstrated an improved mean for the "confidence about doing things" variable (p=0.041). The self- directed group (C) demonstrated the highest mean "confidence about doing things" score $8.015 \pm 1.476$ (p=0.040) as it increased by 0.157 (p=0.048) when compared to baseline. However, at 18-months, there were statistically significant results which favoured the self-directed group (C). One reason explaining why participants in the self-directed group (C) had higher confidence and self-efficacy scores may be due to the fact that since these individuals were not supervised, they may have been more independent, self-controlled, self-confident, and self-motivated.									Part I - 10
Unidad de análisis	Individuo									
Método estadístico usado	A repeated measure mixed model was used to assess the change in adherence from baseline to end of treatment (12 months) among three study groups. Pairwise differences comparing each group to one another (W vs. C, W vs. WB, WB vs. C) were assessed.									Part I - 8
Requirió re-análisis	No									
Nota:	Datos reportados en el estudio: During the 12-month intervention period, the dropout rates were 43.1% for the W group, 40.6% for the WB group and 49.3% for the self-directed (C) group. From baseline to 18 months, the dropout rates were 44.3% for the W group; 40.6% for the WB group and 52.1% for the self-directed (C) group No se observan todos los datos de la escala solo los mas relevantes, pero no se observa el apendice o anexos para observar la informacion									Part I - 10
Comparación	Adherence based on attendance marked in trainees manuals and individual walkers logbooks									Part I - 8
Desenlace	Increase short and long term adherence to the SCAWP									Part I-3
Post-intervención o cambios en la línea de base	post-intervencion y final del seguimiento de los 6 meses									Part I - 7
Resultados (meses)	Walking			Walking & Behavioural			Self-directed			
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	
0-3	0,77	0,299	79	0,802	0,29	69	0,652	0,403	73	Part I - 8
3-6,	0,617	0,41		0,636	0,39		0,535	0,459		
6-9,	0,471	0,418		0,534	0,425		0,528	0,463		
9-12,	0,46	0,441		0,445	0,433		0,49	0,462		
Total	0,576	0,346		0,604	0,342		0,551	0,42		
	43,10%			40,60%			49,30%			Part I - 10
Nº perdidas y razón	Unable to contact after admission, No motivation, No MD clearance after 2nd VO2max test, Time commitment, No OA when based on X-Rays or MRI, Health problems, Transportation, Personal/family reasons, Knee surgery, Injury, Did not like structure of program, No specific reason, Moved away. Se observa que en el grupo C la falta de un paciente ya que se observa que eran 74, pero no se encuentra explicacion a esto.									Additional file 3
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No			No			No			
Algún otro resultado reportado	Statistically significant results for short-term adherence rates favoured participants in the WB group (80.2%) compared to the self-directed (C) group (65.2%) (p<0.012) after 3 months. For long term adherence (6 to 12 months), the WB group demonstrated superior adherence rates throughout each period compared to the other two groups, but results did not reach statistical significance. No statistical significance (p> 0.05) was observed for the total adherence rates between WB vs. W, Wvs. C, and WB vs. C.									Part I - 10
Unidad de análisis	Individuo									
Método estadístico usado	A repeated measure mixed model was used to assess the change in adherence from baseline to end of treatment (12 months) among three study groups. Pairwise differences comparing each group to one another (W vs. C, W vs. WB, WB vs. C) were assessed.									Part I - 8
Requirió re-análisis	No									
Comparación	Health-related quality of life - Arthritis									Part II - 3
Desenlace	Health-related quality of life									Part II - 3
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la linea de base, post intervencion (12 meses) y posterior al seguimiento (18 meses)									
Resultados Baseline	Walking			Walking & Behavioural			Self-directed			
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	
Mobility	1,281	1,511	79	1,058	1,621	69	1,169	1,479	74	Part II - 7-8 Tabla 2
Walking and Bending	4,044	2,047	79	3,513	2,538	69	3,792	2,494	74	
Self care	0,391	1,632	79	0,045	0,247	69	0,194	1,179	74	
Social Activity	4,53	1,723	79	4,449	1,774	69	4,639	2,05	74	
Arthritis pain	4,396	1,907	79	3,813	2,175	69	4,27	2,426	73	
Symptoms Component	4,372	1,907	79	3,813	2,175	69	4,27	2,426	73	
12 meses Mobility	0,614	1,017	44	0,773	0,866	44	0,72	1,09	41	

Walking and Bending	3,364	2,216	44	3,695	2,248	44	3,085	2,49	41	Part II - 7-8 Tabla 2
Self care	0,114	0,509	44	0,028	0,132	44	0,091	0,358	41	
Social Activity	4,727	1,573	44	4,453	1,886	43	3,732	2,188	41	
Arthritis pain	3,494	2,383	44	3,793	2,285	44	3,494	2,383	41	
Symptoms Component	3,523	2,36	44	3,793	2,285	44	3,494	2,383	41	
18 meses Mobility	0,815	1,189	44	0,869	1,215	42	0,486	0,898	36	
Walking and Bending	3,67	2,323	44	3,702	2,402	42	2,708	2,112	36	
Self care	0,087	0,572	43	0,104	0,435	42	0	0	36	
Social Activity	4,625	1,84	44	4,72	1,86	42	4,281	2,141	36	
Arthritis pain	4,4	2,409	44	3,642	2,157	42	3,4	2,228	35	
Symptoms Component	3,44	2,409	44	3,642	2,157	42	3,4	2,228	35	
Nº perdidas y razón	44,3% (12 m y 18 m)			36,2% (12 m) y 40,6% (18 m)			45,2% (12 m) y 50,7% (18 m)			Calculado con los datos disponibles
	Unable to contact after admission, No motivation, No MD clearance after 2nd VO2max test, Time commitment, No OA when based on X-Rays or MRI, Health problems, Transportation, Personal/family reasons, Knee surgery, Injury, Did not like structure of program, No specific reason, Moved away. Se observa que en el grupo C la falta de un paciente ya que se observa que eran 74, pero no se encuentra explicacion a esto. Estos datos no consideran los datos reportados en la figura 1 y apendice 3									
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No especifica			No especifica			No especifica			
Algún otro resultado reportado	At 12- months--> WB vs C, mean results (± SE) favoured the self-directed group (C) for the "hand and finger" (p=0.04), "social activity" (p=0.01), "arthritis pain" (p=0.02), "symptoms component" (p = 0.02)and "social interaction component" (p = 0.01) variables. W vs C, mean results (± SE) favoured the self-directed group (C) for the "social activity" (p= 0.01) variable. At 18- months--> , WB vs C, mean results (± SE) favoured the self-directed group for the "walking and bending" (p=0.044), "household tasks" (p = 0.02), "arthritis pain" (p = 0.03), "physical component" (p = 0.01), and "symptoms component" (p = 0.03) variables. WB vs W, results favoured the W group for the "arthritis pain" (p= 0. 01), "arthritis impact" (p= 0. 01), "physical component" (p = 0.04), and "symptoms component" (p = 0. 01) variables.									Part II - 4
Unidad de análisis	Individuo									
Método estadístico usado	A repeated measure mixed model was used to assess the change in health-related QOL measures (adjusted AIMS2 for age and co-morbidity and SF-36) as well as clinical outcomes from baseline to 12 months (end of intervention) and to 18 months (6 month follow-up post-intervention) among three study groups. The model included variables such as intervention group, study month, and an interaction term between the intervention group and study month.									Part II - 5
Requirió re-análisis	No									
Nota:	Se observan mas resultados en el articulo referentes a las variables de la escala Conclusion en esta medicion: All statistically significant results favoured the self-directed group (C) group compared to the two walking groups (W and WB groups) with QOL improvements at 12 and 18 months. Some explanations as to why participants in the self-directed (C) group demonstrated a higher QOL score may be due to the development of fewer health problems and fewer difficulties with transportation resulting in less attrition to the study. In addition, participants in the self-directed (C) group may not have experienced as many barriers as the other two groups in order to engage in walking activities for at least 3 times a week. This group had the comfort of being around their own environment, especially for those who were not retired and still working. These facilitators may have contributed to the improvement of the participants' QOL compared to the other groups which were required to travel regularly to the walking club.									Tabla 2 Part II - 9
Comparación	Health-related quality of life - QOL									Part II - 3
Desenlace	Health-related quality of life									
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base, post intervencion (12 meses) y posterior al seguimiento (18 meses)									
Resultados Baseline	Walking			Walking & Behavioural			Self-directed			Part II - 5-6 Tabla 1
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	
Physical Funtioning	63,003	18,332	79	66,449	19,157	69	67,275	20,446	74	
Pain Index	60,487	16,04	78	67,348	18,261	69	62,149	18,762	74	
Role Emotional	75,214	37	78	84,058	29,488	69	74,324	37,643	74	
Mental health Index	76,5	17,558	78	77,588	15,67	68	80,365	13,974	74	
standardized Physical Component	40,516	8,598	77	4,3645	8,656	68	41,996	9,1	74	
standardized Mental Component	52,914	10,845	77	53,812	8,639	68	53,556	8,995	74	
12 meses Physical Funtioning	70,088	18,819	44	68,127	19,694	43	68,171	26,381	41	
Pain Index	63,818	19,134	44	63,795	20,124	44	67,805	18,378	41	

Role Emotional	85,606	30,835	44	81,061	32,468	44	82,927	35,057	41	Part II - 5-6 Tabla 1
Mental health Index	78,364	16	44	80	14,823	44	81,366	14,411	41	
standardized Physical Component	42,508	9,229	44	42,192	10,066	43	43,464	9,409	41	
standardized Mental Component	53,819	9,852	44	54,476	7,329	43	55,162	8,54	41	
18 meses Physical Functioning	68,157	21,308	44	63,254	25,705	42	75,694	19,645	36	
Pain Index	65,045	18,881	44	61,167	18,322	42	67,444	18,315	36	
Role Emotional	75	40,106	44	80,159	31,286	42	82,407	33,32	36	
Mental health Index	77,114	17,926	44	77,405	15,759	42	79,33	14,89	36	
standardized Physical Component	42,82	9,24	44	40,909	11,038	42	45,149	8,93	36	
standardized Mental Component	51,99	11	44	53,922	9,023	42	53,101	9,914	36	
Nº perdidas y razón	44,3% (12 m y 18 m)			36,2% (12 m) y 40,6% (18 m)			45,2% (12 m) y 50,7% (18 m)			Calculado con los datos disponibles
	Unable to contact after admission, No motivation, No MD clearance after 2nd VO2max test, Time commitment, No OA when based on X-Rays or MRI, Health problems, Transportation, Personal/family reasons, Knee surgery, Injury, Did not like structure of program, No specific reason, Moved away.									Additional file 3
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No específica			No específica			No específica			
Algún otro resultado reportado	There were no statistically significant results between the three groups for QOL measured with the SF-36 with the exceptions of the variables "physical role functioning", "physical role", "pain index" and "standardized physical component". At 12- months, results favoured the W group for the "physical role" variable when compared to the WB group (p = 0.04). At 18-months, results favoured the W group for the "physical functioning" (p = 0.02) and "pain index" (p = 0.00) variables when compared to the WB group. The self-directed group was also favoured when compared either to the W or WB groups for the "physical functioning" (p = 0.01), "pain index" (p = 0.03) and "standardized physical component" (p = 0.00) variables									Part II - 4
Unidad de análisis	Individuo									
Método estadístico usado	A repeated measure mixed model was used to assess the change in health-related QOL measures (adjusted AIMS2 for age and co-morbidity and SF-36) as well as clinical outcomes from baseline to 12 months (end of intervention) and to 18 months (6 month follow-up post-intervention) among three study groups. The model included variables such as intervention group, study month, and an interaction term between the intervention group and study month.									Part II - 5
Requirió re-análisis	No									
Nota:	Se observan mas resultados en el articulo referentes a las variables de la escala									Tabla 1
Comparación	Functional status - WOMAC for three group									Part II - 3
Desenlace	Functional status									
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base, post intervencion (12 meses) y posterior al seguimiento (18 meses)									
Resultados Total WOMAC score	Walking			Walking & Behavioural			Self-directed			Tabla 3
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	
Baseline	29,7	14,09	79	28,27	16,42	68	28,95	15,28	70	
12 meses	21,05	13,62	43	23,6	13,61	41	22,32	17,77	40	
18 meses	20,3	13,97	43	25,58	16,6	42	20,9	16,74	35	
Nº perdidas y razón	45,6% (12 m y 18 m)			39,7% (12 m) y 38,2% (18 m)			42,9% (12 m) y 50% (18 m)			Calculado con los datos disponibles
	Unable to contact after admission, No motivation, No MD clearance after 2nd VO2max test, Time commitment, No OA when based on X-Rays or MRI, Health problems, Transportation, Personal/family reasons, Knee surgery, Injury, Did not like structure of program, No specific reason, Moved away.									Additional file 3
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No específica			No específica			No específica			
Algún otro resultado reportado	No statistical significance was demonstrated for total WOMAC scores at 12-months. The only statistically significant difference in total functional scores found between the 3 groups was at 18-months which favoured theWgroup when compared to theWB group (p=0,019)									Part II - 4
Unidad de análisis	Individuo									
Método estadístico usado	A repeated measure mixed model									Part II - 5
Requirió re-análisis	No									
Nota:	Se observan mas resultados en el articulo referentes a las variables de la escala									Tabla 3

Comparación	7 day physical activity recall for three group									Part II - 3	
Desenlace	Level of physical activity - Clinic										
Post-intervención o cambios en la línea de base	Cambios en la línea de base, post intervencion (12 meses) y posterior al seguimiento (18 meses)										
Resultados Baseline	Walking			Walking & Behavioural			Self-directed				
	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes	Media	DE	Nº participantes		
Leisure time activities walking only	12,09	13,09	63	13,92	16,5	49	12,45	14,96	56	Part II - 12 Tabla 7	
Leisure time activities walking + other	16,18	21,49	69	16,43	18,86	61	19,74	22,87	62		
Other domestic activities walking only	20,75	25,69	35	11,92	12,42	28	18,17	25,98	34		
Other domestic activities walking + other	31,31	36	60	19,77	25,61	47	26,85	30,88	55		
12 meses Leisure time activities walking only	12,22	7,86	42	13,89	12,4	37	12,68	11,2	38		
Leisure time activities walking + other	15,34	10,23	43	19,77	15,85	38	16,01	14,14	41		
Other domestic activities walking only	17,1	21,03	9	33	70,75	11	11	8,39	13		
Other domestic activities walking + other	22,63	20,97	26	41,48	61,94	24	27,99	37,28	30		
18 meses Leisure time activities walking only	12,2	9,9	40	16,4	18,72	33	16,88	17,5	32		
Leisure time activities walking + other	16,46	13,17	41	22,15	21,21	35	24,18	25,59	33		
Other domestic activities walking only	22,33	26,1	17	33,07	39,04	14	12,04	5,64	8		
Other domestic activities walking + other	23,34	22,4	29	27,97	33,15	24	26,13	15,64	19		
Nº perdidas y razón Leisure time activities only	20,3% (Baseline), 46,8% (12 m) y 49,4% (18m)			29% (Baseline), 46,4% (12 m) y 52,2% (18m)			29% (Baseline), 46,4% (12 m) y 52,2% (18 m)				Calculado con los datos disponibles
	Unable to contact after admission, No motivation, No MD clearance after 2nd VO2max test, Time commitment, No OA when based on X-Rays or MRI, Health problems, Transportation, Personal/family reasons, Knee surgery, Injury, Did not like structure of program, No specific reason, Moved away.										Additional file 3
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No especifica			No especifica			No especifica				
Algún otro resultado reportado	Statistical significance was not reached for "Leisure-Time Physical Activity" variables. Statistical significance was demonstrated for "Occupational/ Domestic Activity Walking and other activities" at 12- months (p=0,003) and 18 months (p=0,021) for the WB group									Part II - 9 Tabla 7	
Unidad de análisis	Individuo										
Método estadístico usado	A repeated measure mixed model									Part II - 5	
Requirió re-análisis	No										
Nota:	There were no statistically significant results for "Leisure-Time Physical Activity" compared to "Occupational/Domestic Activity". One reason for these results may be that long term goal setting, included in the Pace-ex program for those in the WB group, were not based solely on walking activities and included any daily activities Baseline results illustrated that participants in the self-directed (C) group received a higher level of education. Strong associations have been found between level of education, physical fitness level, and amount of leisure activity. Limitacion: there were missing data from the 7-day PAR questionnaire as not all participants completed their log- books and had difficulties remembering which activities were performed, resulting in a potential recall bias.									Part II - 12	
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>										<b>pg &amp; fig/tabla</b>	
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No considera poblaciones en desventaja, solamente incluye dentro de la informacion demografica de los pacientes el nivel educativo, no se realiza ningun analisis con estos datos. Solamente se menciona en el desenlace de actividad fisica un analisis con el nivel educativo pero se observan los datos de la asociacion que se menciona.									Part I - 4 Part II - 12	
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No										
Nota:											

<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
The conceptual framework entitled "the Knowledge-To-Action Cycle" which provides an approach which combines commonalities from various planned-action theories. This framework was used to guide the development of the three KT strategies used in this RCT		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	The additional behavioural approach of the multifaceted KT intervention (WB group) improved adherence to the SCAWP when compared to the other two groups over a short-term period. The WB group demonstrated to be the best KT strategy for reducing dropouts compared to the W group and self-directed (C) group. All three KT strategies were equivalent over the long-term period (up to 18 months) for improving behavioural change. However, the self-directed walking program (C group) was the least expensive to implement over a long-period (18 months). This RCT was a long-term adherence study as well as a KT study which addressed questions of clinical and scientific importance aimed at improving the understanding of effective KT strategies to promote the adoption and maintenance of a community-based walking program for OA. More studies are needed to improve the long-term walking adherence or knowledge uptake on SCAWP among participants with OA. Particular attention should focus on patients' characteristics and preferences The three walking groups demonstrated globally equivalent results for the implementation of KT strategies to improve QOL and clinical outcomes over a long-term period (12 and 18-months) Results of this study revealed that a community-based location or home-based walking program may be an effective strategy to manage OA of the knee.	Part I - 11
Fuentes de financiamiento	Canadian institutes of Health Research	Part I - 3
Nota:		
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	A patient decision aid to support shared decision-making on anti-thrombotic treatment of patients with atrial fibrillation: randomised controlled trial	216
Autores	Thomson RG, Eccles MP, Steen IN, Greenaway J, Stobbart L, Murtagh MJ, et al.	
Año	2007	
ID o DOI	10.1136/qshc.2006.018481	
Objetivo	To determine the efficacy of a computerised decision aid compared to the standard use of clinical guidelines derived from the same decision analysis in patients with atrial fibrillation making decisions on whether to take warfarin or aspirin therapy.	
Protocolo y registro	The trial is registered with an International Standard Randomised Controlled Trial Number of ISRCTN24808514.	222
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	patients who were already taking warfarin and whose care would be regularly reviewed (prevalent cases) and patients considering taking warfarin for the first time (incident cases). Prevalent cases of non-valvular atrial fibrillation were identified by screening for digoxin and warfarin from computerised prescribing data and by computerised diagnostic registers where available. Incident cases were identified opportunistically	217
Entorno (incluye localización y contexto social)	Participants were recruited from 40 general practices throughout Newcastle and North Tyneside, Gateshead, and South Tyneside Primary Care Trusts and Northumberland Care Trust	217
Total de la población al inicio del estudio	145	218 Figura 2
N° de clusters (si aplica - N° y tipo de personas por cluster)	No aplica	
Edad o grupos etarios	Mean(SD) Group guidelines= 73,7 years (6,2) Group Decision aid= 73,1 years (6,7)	218 Tabla 2
Sexo	n (%) Female Group guidelines= 25/56 (44,6%) Group Decision aid= 23/53 (43,4%)	218 Tabla 2
Raza/etnia	No específica	
Severidad de la enfermedad/co-morbilidades	Annual % risk of stroke. Mean(SD) Group guidelines= 2,13 (1,02) Group Decision aid= 2,19 (1,39)	218 Tabla 2
Medicaciones por subgrupo	No	
Obtención de consentimiento informado	Signed consent was obtained before randomisation and was confirmed at the research clinic	217
<b>Métodos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Diseño	Exploratory trial (Two-arm trial. Randomised controlled) Comentario= al mirar la metodología de la intervención es un estudio antes y después, debido a que se realizan las mediciones después de la intervención, se menciona un seguimiento pero este solo fue el envío de un cuestionario. La intervención solamente fue realizada en un momento del tiempo no hubo un seguimiento de aplicación de la intervención	216
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Individuo	

Fecha Inicio/Final	November 2001 and June 2004	217
Duración total del estudio	Three years (no se reporta en el estudio, se calcula con los años reportados)	
Criterios de inclusión	they were aged 60 years or over and had either chronic non-valvular atrial fibrillation (confirmed by electrocardiogram) or paroxysmal atrial fibrillation	217
Criterios de Exclusión	* Acute onset of atrial fibrillation requiring cardioversion * Previous stroke or transient ischaemic attack * Absolute contraindications to warfarin * Taking warfarin for another indication * Dementia or cognitive impairment sufficient to hinder shared decision-making * Non-English speaking * Where the risk of cerebral bleed on warfarin was likely to exceed or approximate to the reduction in risk of thromboembolic stroke	217
Método de reclutamiento	Eligible participants were sent a letter of invitation co-signed by their own general practitioner (GP), along with an information leaflet on atrial fibrillation, treatment with aspirin and warfarin, and a consent form. Participants were recruited from 40 general practices	217
Calculo de tamaño de muestra	Assuming that groups would be compared using t tests and analysis of variance (ANOVA) it was calculated that 53 participants in each group (total 106) would give 80% power to detect a difference between groups of a mean score of 0.33 units on the DCS (standard deviation 0.6) assuming a significance level of 5%	219
Aprobación de comité de ética	The study was approved by the relevant local research ethics committees (Gateshead, South Tyneside, Northumberland and Newcastle/North Tyneside).	222

Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)			pg & fig/tabla
Dominio	Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")	Soportes	
Generación de la secuencia aleatoria	Bajo	Cita="Participants were randomised to either... using electronically-generated random permuted blocks via a web-based randomisation service provided by the Centre for Health Services Research."	217
Ocultamiento de la secuencia	Poco claro	Comentario= no hay suficiente informacion para permitir la evaluacion.	
Cegamiento de los participantes y personal	Alto	Cita="All participants were seen in one of two research clinics each conducted by a single doctor, trained in delivering either the decision aid or guidelines but blinded to the alternative method." Comentario= el cegamiento se realizo incompleto ya que solo se hizo al personal y no a los participantes, y no hacen mencion dentro del articulo la causa de esto y las posibles limitaciones.	217
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Poco claro	Comentario= no hay suficiente informacion para permitir la evaluacion, el estudio no lo abordo	
Datos de resultados incompletos	Alto	Cita="Did not receive intervention" Comentario=En la figura 2 realizan la mencion de participantes que no recibieron la intervencion y sus causas, estos datos para el grupo de intervencion corresponden al 23 % y el grupo control 16%. No se realiza explicacion del manejo de los datos incompletos, solamente se puede observar que realizaron el analisis con los participantes que recibieron la intervencion.	218
Notificación selectiva de los resultados	Alto	Comentario= no especifican claramente la existencia de un protocolo y en el registro del estudio no se encuentra bien especificado. Ademas describen resultados como adherencia a la decision inicial pero no se reporta y tampoco describen si esta en otro estudio publicado.	219
Otros posibles riesgos			
Grupos (intervencion)			pg & fig/tabla
Nombre grupo	Computerised decision aid		217
Nº de personas	69		218 Figura 2
Descripción	Participants were taken through a presentation of the individualised benefits and potential harms of warfarin treatment and were invited to weigh up the advantages and disadvantages of treatment before coming to a shared decision with the clinic doctor. The individualised benefits/harms component included personalised risk assessment using the Framingham equation for stroke risk, and the benefits of warfarin based on data of effectiveness from trials and the risks of bleeding based on a systematic review of literature. The presentation used both graphical and numerical forms of presentation followed by a shared decision-making component		219
Duración de seguimiento	3 months para la aplicación de un cuestionario		219
Variables económicas (costo de la intervención...)	No		
Grupos			pg & fig/tabla
Nombre grupo	Evidence-based paper guidelines		217
Nº de personas	67		218 Figura 2
Descripción	The clinic treatment recommendation was provided by applying decision analysis derived guidelines according to the participants' risk factor profile and the recommendation made directly to the participant by the clinic doctor		219
Duración de seguimiento	3 months para la aplicación de un cuestionario		219

Variables económicas (costo de la intervención...)	No	
<b>Desenlaces</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre del desenlace	Decision conflict	219
Definición	Primario: Decisional conflict is a state of uncertainty about a course of action. Such uncertainty is more likely when a person is confronted with decisions involving risk or uncertainty of outcomes, when high- stakes choices with significant potential gains and losses are entertained, when there is a need to make value tradeoffs in selecting a course of action, or when anticipated regret over the positive aspects of rejected options is probable.	
Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Measured immediately before and after the clinic visit. Questionario	219
Perdidas (%)	Se observa en la figura 1 que de los participantes aleatorizados que no recibieron la intervencion, para el grupo de intervencion 22% y grupo control fue del 16%	218
Imputación de datos perdidos	Analizaron los datos de cuestionarios completos	218 Figura 2
El desenlace/ herramienta es validada	No hacen mencion en el texto del documento pero se observa en la bibliografía una referencia de validacion de la herramienta "O'Connor AM. Validation of a decisional conflict scale. Med Decis Making 1995;15:25-30"	222
Nombre del desenlace	Anxiety	219
Definición	State Trait Anxiety Inventory (no son claros)	219
Unidad de medición es relevante	Si	
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Measured immediately before and after the clinic visit. Questionario	219
Perdidas (%)	Se observa en la figura 2 que de los participantes aleatorizados que no recibieron la intervencion, para el grupo de intervencion 22% y grupo control fue del 16%	218
Imputación de datos perdidos	Analizaron los datos de cuestionarios completos	218 Figura 2
El desenlace/ herramienta es validada	No lo especifica	
Nombre del desenlace	Knowledge	219
Definición	Secundario no especifica la descripción	219
Unidad de medición es relevante		
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Measured immediately before and after the clinic visit and 3 months after. Questionario	219
Perdidas (%)	Se observa en la figura 2 que de los participantes aleatorizados que no recibieron la intervencion, para el grupo de intervencion 22% y grupo control fue del 16%	218
Imputación de datos perdidos	Analizaron los datos de cuestionarios completos	218 Figura 2
El desenlace/ herramienta es validada	No lo especifica	
<b>Resultados (copiar para cada desenlace, medida en el tiempo o subgrupo / tendrá modificaciones en estudios de antes y después)</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
<b>Continuos</b>		
Comparación	Decision conflict between groups	220
Desenlace	Decsion conflict	
Post-intervención o cambios en la línea de base	Pre y post intervencion y tres meses	219
Resultados	Diference Media	IC95%
Pre-clinic	0,02	-0,22 to 0,26
Post-clinic	-0,18	-0,34 to -0,01
3 Months	-0,15	-0,37 to 0,06
Nº perdidas y razón	Se observa en la figura 2 que de los participantes aleatorizados que no recibieron la intervencion, para el grupo de intervencion 22% y grupo control fue del 16%	

Nº participantes movidos a otro grupo y razón	Group intervention= Did not receive intervention (n = 16) (4 no longer in AF; 1 recent surgery; 2 too ill to attend; 4 withdrew consent; 2 stroke/TIA, not previously notified; 1 died prior to appointment; 1 deaf, unable to use tool; 1 MI since randomisation) Group control=Did not receive intervention (n = 11) (3 withdrew consent; 2 no longer in AF; 1 died; 2 excess alcohol intake, not previously notified; 1 too ill to attend; 1 stroke, not previously notified; 1 recent DVT requiring warfarinisation)	218
Algún otro resultado reportado	Decision conflict fell in both groups post-clinic compared to pre-clinic, the difference between groups post-clinic was significant at the 5% level (t=2.12, df=107, p=0.036) Although participants in the decision aid group were less likely to start warfarin than those in the guidelines arm (39/53, 73.6% compared to guidelines 50/56, 81.7%, RR 0.82, 95% CI 0.68 to 0.99) this difference is almost completely due to participants not already on warfarin; here the difference was 4/ 16, 25% compared to guidelines 15/16, 93.8%, RR 0.27, 95% CI 0.11 to 0.63. Difference between groups, participants in the decision aid group were less likely to make a definite decision to start or continue warfarin than participants in the guidelines arm (OR=0.33, 95% CI 0.12 to 0.95). Adjusting for pre-clinic treatment the difference between groups remained significant (OR=0.29 95% CI 0.09 to 0.90). Participants not already on warfarin who were in the decision aid group were much less likely to start warfarin than participants not already on warfarin in the guidelines arm (OR=0.01 95% CI 0.001 to 0.16)	220
Unidad de análisis	Individuo	
Método estadístico usado	the total decision conflict score— where the difference in mean score between groups at the end of the clinic was pre-specified as the primary comparison of interest. Differences in the final decision made at the consultation were investigated using logistic regression analysis	219
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
Comparación	Anxiety between groups	220
Desenlace	State Trait Anxiety Inventory	
Post-intervención o cambios en la línea de base	Pre y post intervencion	219
Resultados	There was a significant fall in anxiety immediately after the clinic (mean change pre-clinic to post-clinic of -4.57 (95% CI -6.30 to -2.84)) but no evidence that this reduction varied between the two groups (F1,95=0.001; p=0.98)	219
Nº perdidas y razón	Se observa en la figura 2 que de los participantes aleatorizados que no recibieron la intervencion, para el grupo de intervencion 22% y grupo control fue del 16%	
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	Group intervention= Did not receive intervention (n = 16) (4 no longer in AF; 1 recent surgery; 2 too ill to attend; 4 withdrew consent; 2 stroke/TIA, not previously notified; 1 died prior to appointment; 1 deaf, unable to use tool; 1 MI since randomisation) Group control=Did not receive intervention (n = 11) (3 withdrew consent; 2 no longer in AF; 1 died; 2 excess alcohol intake, not previously notified; 1 too ill to attend; 1 stroke, not previously notified; 1 recent DVT requiring warfarinisation)	218
Unidad de análisis	Individuo	
Método estadístico usado	Repeated measures analysis of variance	219
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
Comparación	Knowledge	220
Desenlace	Knowledge	
Post-intervención o cambios en la línea de base	Pre y post intervencion y tres meses	219
Resultados	Although the overall knowledge scores improved slightly post-clinic, by three months they were back to pre-clinic levels; there was no difference between decision aid and guidelines groups at any point. Within the repeated measures analysis of variance framework an additional interaction between pre-clinic treatment and type of knowledge was included and this was significant at the 0.1% level (F1,106=33.8; p,0.001) indicating that participants currently taking warfarin had a higher mean warfarin knowledge score than participants on aspirin (difference=1.79 with 95% CI 1.00 to 2.59).	219
Nº perdidas y razón	Se observa en la figura 2 que de los participantes aleatorizados que no recibieron la intervencion, para el grupo de intervencion 22% y grupo control fue del 16%	
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	Group intervention= Did not receive intervention (n = 16) (4 no longer in AF; 1 recent surgery; 2 too ill to attend; 4 withdrew consent; 2 stroke/TIA, not previously notified; 1 died prior to appointment; 1 deaf, unable to use tool; 1 MI since randomisation) Group control=Did not receive intervention (n = 11) (3 withdrew consent; 2 no longer in AF; 1 died; 2 excess alcohol intake, not previously notified; 1 too ill to attend; 1 stroke, not previously notified; 1 recent DVT requiring warfarinisation)	218
Unidad de análisis	Individuo	
Método estadístico usado	Repeated measures analysis of variance	219
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No	

La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No	
Nota:		
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
No		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	The key finding was a significantly lower decision conflict in the decision aid group than in the paper-based guidelines group immediately after the research clinic and this finding was present across all patients regardless of their initial treatment. Furthermore, participants in the computerised decision aid group were significantly much less likely to start warfarin than those in the guidelines arm. The results show that such an approach has a positive impact on decision conflict comparable to other studies of decision aids, but also reduces the uptake of a clinically effective treatment that may have important implications for health outcomes.	221
Fuentes de financiamiento	Wellcome Trust Health Services Research Project Grants. All authors are independent of the funding bodies.	223
Nota:		
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	People getting a grip on arthritis: A knowledge transfer strategy to empower patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis	255
Autores	Brosseau L, Lineker S, Bell M, Wells G, Casimiro L, Egan M, et al	
Año	2012	
ID o DOI	10.1177/0017896910387317	
Objetivo	The purpose of this study was twofold. First, to help people with arthritis become aware of and utilize Rheumatoid Arthritis (RA) and Osteoarthritis (OA) Clinical Practice Guidelines (CPGs) as they relate to self-management strategies. Second, to evaluate the impact of specific Knowledge Translation (KT) activities on CPG uptake. More specifically, investigators were interested in: (1) participant acquisition of knowledge, skills, and self-efficacy regarding the uptake of CPGs; (2) participant intention and actual use of CPGs; (3) whether participants trained to become educators shared new CPG knowledge with other people who have RA or OA; and (4) the effect of press media in promoting CPGs to the general public	
Protocolo y registro	No específica	
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	People who have Rheumatoid Arthritis (RA) and Osteoarthritis (OA) In total, 27 (55%) participants had OA, 14 (29%) participants had RA, and 7 (14%) participants had a dual diagnosis of OA and RA. One participant was not sure of his/her condition	259
Entorno (incluye localización y contexto social)	No son muy específicos, solo mencionan las organizaciones en donde obtuvieron los participantes: "Seven organizations (Patient Partners in Arthritis; Canadian Arthritis Patient Alliance [CAPA]; Arthrite Montreal Arthritis; Canadian Alliance of Community Health Centre Associations [CACHCA]; The Arthritis Society, Ontario, New Brunswick and Nova Scotia divisions)"	257
Total de la población al inicio del estudio	Total 49 23 influential participants (women: 96%) with RA or OA to WS1. Six participants from WS1 were trained by the researchers of this study to deliver the workshop content to 27 participants (women: 78%; the second cohort) with RA and OA in WS2	257
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	No aplica	
Edad o grupos etarios	Mean age in years was 59,77 with SD of 13,32	259
Sexo	Female: 39 (80%) Male: 10 (20%)	259
Raza/etnia	No lo específica	
Severidad de la enfermedad/co-morbilidades	No lo específica, solo mencionan duración del diagnóstico: Within past 2 years: 1 (2%) More than 2 years ago: 47 (96%) Not known: 1 (2%)	259
Mediciones por subgrupo	No	
Obtención de consentimiento informado	No lo específica	
<b>Métodos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Diseño	No es claro que tipo de diseño, pero al observar la metodología es un estudio de antes y después y una medición también de tres meses después de la intervención.	258
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Individuo	257
Fecha Inicio/Final	Last week of October 2006	257

Duración total del estudio	No es claro, pero se pensaría que es de tres meses		
Criterios de inclusión	Diagnosis of RA or OA		257
Criterios de Exclusión	No se menciona ya que escogieron a los participantes del estudio : Seven organizations (Patient Partners in Arthritis; Canadian Arthritis Patient Alliance [CAPA]; Arthrite Montreal Arthritis; Canadian Alliance of Community Health Centre Associations [CACHCA]; The Arthritis Society, Ontario, New Brunswick and Nova Scotia divisions)		257
Método de reclutamiento	No se mencionan. Comentario: solo referencian a las siete organizaciones en donde obtuvieron a los pacientes.		
Calculo de tamaño de muestra	No lo mencionan		
Aprobación de comité de ética	No lo mencionan		
<b>Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)</b>			<b>pg &amp; fig/tabla</b>
<b>Dominio</b>	<b>Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")</b>	<b>Soportes</b>	
Generación de la secuencia aleatoria	Alto	Comentario: No se realiza una selección aleatoria de los pacientes, la selección se realizó según criterios de las siete organizaciones de donde se reclutaron los participantes.	
Ocultamiento de la secuencia	Alto	Comentario: No se realizó ocultamiento de las intervenciones	
Cegamiento de los participantes y personal	Alto	Comentario: No hay cegamiento y es probable que el resultado y su medición estén influenciados por esto	
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Poco Claro	Comentario: No hay suficiente información para permitir esta evaluación	
Datos de resultados incompletos	Bajo	Comentario: No hay datos de resultados faltantes de los 49 participantes incluidos	
Notificación selectiva de los resultados	Poco Claro	Comentario: No hubo información suficiente para realizar la evaluación de este riesgo de sesgo.	
Otros posibles riesgos			
<b>Grupos (Workshop 1)</b>			<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	WS1		
Nº de personas	23		257
Descripción	The first workshop (WS1) facilitated by multidisciplinary healthcare practitioners who presented the CPGs to patient educators with arthritis identified by Canadian arthritis associations		257
Duración de seguimiento	Se realizó medición ante y después de la intervención y otra a los tres meses		258
Variables económicas (costo de la intervención...)	No fue evaluada		
<b>Grupos (Workshop 2)</b>			<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	WS2		
Nº de personas	27		257
Descripción	The second workshop (WS2) facilitated by selected patient educators who attended WS1 and delivered the material with more pedagogical training to people with arthritis from the community		257
Duración de seguimiento	Se realizó medición ante y después de la intervención y otra a los tres meses		258
Variables económicas (costo de la intervención...)	No fue evaluada		
<b>Grupos (Online)</b>			<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	Press media		257
Nº de personas	197		260
Descripción	Patients recruited through press media were asked to complete a web-based questionnaire before and after viewing the online module. The pre-website questionnaire pertained to patient characteristics and contained a section on demographics and diagnosis in an attempt to avoid diagnostic misclassification. The post-website questionnaire inquired about the intention to use CPGs. Researchers conducted three telephone interviews with journalists from press media (i.e. one magazine and two web-based media outlets; Plan A). The website (www.arthritis.ca/peoplegettingagrip) <sup>23</sup> was advertised in a national newspaper (Plan B)		258
Duración de seguimiento	Before and after viewing the online module		258
Variables económicas (costo de la intervención...)	No fue evaluada		

Desenlaces (copiar para cada desenlace)			pg & fig/tabla					
Nombre del desenlace	Primario 1		258					
Definición	Acquisition of new knowledge		258					
Unidad de medición es relevante	Es relevante ya que es la medida principal del estudio, pero hay que tener en cuenta que presenta una desventaja ya que no son claros con la validación de la herramienta de medición.							
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Using a web-based coded questionnaire pre- and post-workshop		258					
Perdidas (%)	En el grupo de WS2 se observa la falta de dato de un participante pero no se hace referencia del por qué no se incluyó							
Imputación de datos perdidos	No							
El desenlace/ herramienta es validada	No se describe si la herramienta fue validada ni el diseño del cuestionario utilizado							
Nombre del desenlace	Intention to use and actual use of self-management strategies for workshop participants		261					
Definición	The agreement between the intention to use CPGs post-workshop (measured immediately post-workshop) and actual use of CPGs (measured three months post-workshop) were also evaluated with an online questionnaire		258					
Unidad de medición es relevante	Es relevante ya que es la medida principal del estudio, pero hay que tener en cuenta que presenta una desventaja ya que no son claros con la validación de la herramienta de medición.							
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Using a web-based coded questionnaire pre- and post-workshop		258					
Perdidas (%)	No presentaron							
Imputación de datos perdidos	No							
El desenlace/ herramienta es validada	No se describe si la herramienta fue validada ni el diseño del cuestionario utilizado							
Nombre del desenlace	Participant KT influential activities		258					
Definición	No es claro							
Unidad de medición es relevante	La medición es relevante porque es sobre KT de las estrategias de las guías de práctica clínica pero no es claro dentro del estudio la definición de la medición y la herramienta. Se observa que está relacionado la transmisión de la información recibida en los workshop a las personas del alrededor.							
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	No es claro, pero se pensaría que es por: web-based coded questionnaire pre- and post-workshop		258					
Perdidas (%)	No presentaron							
Imputación de datos perdidos	No							
El desenlace/ herramienta es validada	No se describe si la herramienta fue validada ni el diseño del cuestionario utilizado							
Resultados (copiar para cada desenlace, medida en el tiempo o subgrupo / tendrá modificaciones en estudios de antes y después)			pg & fig/tabla					
<b>Otros</b>								
Comparación	The effect of topic depth (introductory, in-depth, and combined total) and time (baseline and post-workshop) on the questionnaire scores of WS1 and WS2 participants		258					
Desenlace	Acquisition of new knowledge							
Post-intervención o cambios en la línea de base	Post-intervención y cambios de la línea de base		260					
Resultados (Immediately post workshop)	WS1		WS2			260		
	Media score	DE	Nº participantes	Media score	DE		Nº participantes	
	In-depth topics	5,7	1,11	23	5,5		1,17	26
	Introductory topics	6,6	2,68		6,91		1,53	
Combined Topics	12,25	3,55	12,57		2			
Nº perdidas y razón	No se evidencia		Con relación a lo especificado en métodos eran 27, no reportan la razón de la falta de uno de ellos antes análisis					
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No se evidencia		No se evidencia					

Algún otro resultado reportado	At baseline - difference was found between participant level of knowledge on numerous self-management strategies discussed in varying depths, i.e. in the overview or in-depth topics, $t(43) = -0.13$ , $p = 0.90$ . The differences in scores between baseline and post-workshops: in-depth topics, $t(47) = 6.52$ , $p < 0.01$ , overview topics, $t(38) = 5.96$ , $p < 0.01$ , and overall questionnaire scores, $t(38) = 7.45$ , $p < 0.01$ Post-workshop participants from WS1 scored equally well on topics covered in the overview to topics covered in-depth, $t(19) = 1.99$ , $p = 0.67$ . Participants from WS2 scored significantly better on topics covered in-depth to topics taught in the overview, $t(22) = 4.35$ , $p < 0.01$ . In total, 197 individuals logged onto the website. Only twenty-eight (14%) participants completed the questionnaire immediately after accessing the online educational material. No improvement in knowledge acquisition was found for online participants: in-depth topics, $t(10) = 1.05$ , $p = 0.32$ , overview topics, $t(10) = 1.85$ , $p = 0.09$ , and overall questionnaire scores, $t(10) = 1.79$ , $p = 0.10$	260  261
Unidad de análisis	Individuos	
Método estadístico usado	Descriptive statistics were carried out to summarize results from baseline and post-workshop questionnaires. A two-way within-subjects ANOVA was conducted to examine the effect of topic depth (introductory, in-depth, and combined total) and time (baseline and post-workshop) on the questionnaire scores of WS1 and WS2 participants. Regarding	258
Requirió re-análisis	No	
Nota:	No son claros sobre la medida de varianza si es desviación estándar o error estándar ya que reportan dato en ( $\pm$ ), en este caso lo reportamos como DE	
<b>Otros</b>		
Comparación	Intention to use and actual use of self-management strategies	261
Desenlace	secundario	261
Post-intervención o cambios en la línea de base	Post-intervención	261
Resultados	Para este desenlace se realizó unificando los dos grupos encontrando: Almost all (98%) patients with OA intended to use at least one self-management strategy and more than half (68%) intended to use three or more strategies. Similarly, patients with RA intended to use at least one strategy and 76% intended to use three or more strategies. The most popular strategies, irrespective of diagnosis, were aerobic walking, weight management, and Tai Chi. At three months post-workshop, there was a significant correlation between intention to use and actual use of most self-management strategies ( $p < 0.05$ ). Participants had not, however, followed through on their intention to use Tai Chi or TENS and patients with OA had not participated in an aerobic walking program as planned	262
Nº perdidas y razón	No se observa	
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	
Algún otro resultado reportado	No	
Unidad de análisis	Individuo	
Método estadístico usado	Intention to use and actual use of CPGs was calculated using the Pearson Correlation Coefficient ( $p > 0.05$ )	258
Requirió re-análisis		
Nota:	No es claro el resultado de esta medida ya que en la tabla donde lo reportan no especifican si es el promedio del score o la correlación de la medida.	
<b>Otros</b>		
Comparación	Participant KT influential activities	258
Desenlace	secundario	262
Post-intervención o cambios en la línea de base	Post-intervención	262
Resultados	At three months post-workshop, statistically-significant results ( $p < 0.05$ ) showed that participants ( $n = 49$ ) had shared information from their workshop or website with others, including family members and friends, and had also added this information to their organization's website or newsletter. However, participants from WS1 ( $n = 23$ ) were not able to share information with others to the degree that they had intended whereas participants from WS2 ( $n = 26$ ) conveyed difficulty in following through on their intention to use the 'magnetic memo' (i.e. magnet of a self-management schedule).	262
Nº perdidas y razón	No se observa	
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	
Algún otro resultado reportado	No	
Unidad de análisis	Individuo	
Método estadístico usado	Intention to use and actual use of CPGs was calculated using the Pearson Correlation Coefficient ( $p > 0.05$ )	258
Requirió re-análisis	No	
Nota:	No es claro el resultado de esta medida que se utilizó solo realizan el reporte de los resultados en un parrafo	

<b>Aplicabilidad – Equidad</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No	
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No	
Nota:	No se observa la aplicabilidad de la parte de Equidad en este estudio	
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
No		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	An intensive evidence-based educational programme focused on training CPG educators appears to be an effective method of KT for patients with RA and OA. Similar KT activities would be employed again but with greater attention to use of media strategies.  The KT activities effectively presented the Ottawa Panel CPGs in a manner that could be implemented easily by patients. The majority of participants had applied their chosen self-management strategy when asked three months post-workshop, except for TENS and Tai Chi. We suggest that availability, accessibility, and costs associated to such programmes rather than motivation of patients may be the cause. It is also not known why participants with OA had neglected their intention to participate in a walking programme. While  Since the KT activities utilized in this study, with the exception of press media, were implemented simultaneously, it is not possible to determine the influence of each strategy (e.g. feedback, 'hands-on' activities)	264-5
Fuentes de financiamiento	This study was supported financially by The Canadian Institutes for Health Research (grant #KRS-79768) The Arthritis Society (Canada) for In-Kind; Pace Canada for educational material and instructor; Career Scientist Salary Support Programme for LB, University of Ottawa: University Research Chair Program for LB and the Ministry of Human Resources, Summer Students Programme (Canada)	266
Nota:		
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	The Impact of Social Media on Dissemination and Implementation of Clinical Practice Guidelines:A Longitudinal Observational Study	1
Autores	Narayanaswami P, Gronseth G, Dubinsky R, Penfold-Murray R, Cox J, Bever C, et al.	
Año	2015	
ID o DOI	10.2196/jmir.4414	
Objetivo	1) Develop an innovative dissemination strategy by adding novel, social media-based methods to traditional dissemination methods for the CPG “CAM in MS” (“Complementary and alternative medicine in multiple sclerosis”) 2) Evaluate whether the addition of social media-based methods improves CPG awareness and knowledge of CPG recommendations in the two target audiences of patients and physicians/clinicians (referred to herein as “physicians”) 3) Evaluate whether the addition of social media-based methods improves the implementation of CPG recommendations	
Protocolo y registro	No especifica	
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	The study participants were drawn from two populations: physicians who treated patients with multiple sclerosis (MS), and patients with MS / caregivers of patients with MS	4
Entorno (incluye localización y contexto social)	Patient participants were identified from the database of subscribers to Neurology Now, an official bimonthly publication of the AAN for patients. Of 23,568 subscribers who self-identified as interested in MS, 10,818 subscribers with email addresses were used as the final dataset	4
Total de la población al inicio del estudio	200 patients	4
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	No aplica	
Edad o grupos etarios	Mean(SD)=54,8 years (11,7)	6 Tabla 1
Sexo	80,2 % female	6 Tabla 1
Raza/etnia	White= 86,8%	6 Tabla 1
Severidad de la enfermedad/co-morbilidades	MS duration >10 years=56,3% Walking without assistance=56,1% No difficulty with hand use=43,9% Normal Vision=49,2%	6 Tabla 1
Mediciones por subgrupo	Secondary analysis stratified respondents within each survey into CPG-aware and CPG-unaware groups. We compared intent, knowledge, and behavior of respondents in CPG-aware and CPG-unaware groups (within survey differences)	
Obtención de consentimiento informado	Solamente detallan aprobación por comité de ética	2

Métodos		pg & fig/tabla
Diseño	No es muy claro el diseño del estudio, especifican que es un "longitudinal observational study, using quantitative survey methods", pero realizan intervención y varias medidas en el tiempo antes y después de las intervenciones, las cuales una de esas medidas es tomada para realizar comparación con las siguientes. Se podría especificar como un estudio de antes y después.	2
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Individuos	
Fecha Inicio/Final	Inicio: febrero 2014 y final: Julio 2014	3
Duración total del estudio	6 meses	
Criterios de inclusión	patients with MS / caregivers of patients with MS Patient participants were identified from the database of subscribers to Neurology Now, an official bimonthly publication of the AAN for patients	4
Criterios de Exclusión	For each subsequent survey, patients surveyed in the previous survey(s) were excluded	5
Método de reclutamiento	Of 23,568 subscribers who self-identified as interested in MS, 10,818 subscribers with email addresses were used as the final dataset. From this dataset, 200 patients were randomly selected for the pre-dissemination survey.	5
Calculo de tamaño de muestra	Assuming a 20% responder rate per survey and a 10% change in intent as clinically important, we surveyed 200 patients in each of four surveys to obtain 19 responses, for an 80% chance ( $\beta$ ) of detecting this difference at a significance level $\alpha=.05$	5
Aprobación de comité de ética	The study was determined to be exempt from the need for ethical review and approval by the Committee on Clinical Investigations, Beth Israel Deaconess Medical Center, Boston	2
Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)		pg & fig/tabla
Dominio	Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")	Soportes
Generación de la secuencia aleatoria	Alto	Comentario: Debido a la características de estudio, es un estudio de alto riesgo y no se realizan estas cuatro criterios de evaluaciones. Las encuestas realizadas pero los pacientes en cada tiempo son diferentes, tiene característica de estudio transversal pero realizan una intervención de diseminación. Dentro del estudio mencionan que los pacientes fueron asignados al azar de la base de datos que tenían, pero esto es muy diferente a una generación de la secuencia aleatoria
Ocultamiento de la secuencia	Alto	
Cegamiento de los participantes y personal	Alto	
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Alto	
Datos de resultados incompletos	Alto	Comentario: Se detalla una alta pérdida de datos incompletos debido a que los cuestionarios fueron incompletos en muchos casos. Y solo realizan el análisis con los datos obtenidos.
Notificación selectiva de los resultados	No claro	No hay suficiente información para realizar esta evaluación, debido a que no se conoce el protocolo, no especifican los cambios.
Otros posibles riesgos		
Grupos		pg & fig/tabla
Nombre grupo	Tradicional (Intervención)	2
Nº de personas	200	2
Descripción	Dissemination using print-, email-, and Internet-based methods. This included publication of the CPG in Neurology, the official journal of the AAN; issuance of a news release (electronic release and public relations pitch to approximately 700 science and medical reporters); development of clinician and patient summaries, a clinical case example, and presentation slide set of CPG content; news articles in AANnews, Neurology Today, and Neurology Now (official publications of the AAN); and electronic notices to 26,965 AAN members, consisting of all-member emails, an AAN e-News announcement, and an announcement in the AAN quarterly Leadership Update and highlights of the CPG on AAN.com	2
Duración de seguimiento	No se observa seguimiento de los pacientes, debido a que fueron medidos en cada serie, con los pacientes diferentes. "patients surveyed in the previous survey(s) were excluded, and 200 patients were randomly selected from the remaining population"	5
Variables económicas (costo de la intervención...)	No	
Nombre grupo	Novel (Co-intervención)	2
Nº de personas o clúster	200	2
Descripción	Dissemination through social media platforms. These included an audio podcast on Neurology; videos for patients and physicians posted on YouTube, with links to the CPG on AAN.com; and Facebook, Twitter, LinkedIn, and YouTube digital advertising (where feasible, targeted audiences endorsing an interest in CAM use in MS and related terms were selected; Multimedia Appendix 1). For digital advertisements, the research team treated two of the more popular channels as primary (Facebook and Twitter) and two as secondary (LinkedIn and YouTube) for the purpose of allocating funding over the 90-day dissemination period.	3
Duración de seguimiento	No se observa seguimiento de los pacientes, debido a que fueron medidos en series de tiempos en cada serie los pacientes fueron diferentes. "patients surveyed in the previous survey(s) were excluded, and 200 patients were randomly selected from the remaining population"	5
Variables económicas (costo de la intervención...)	No	

Nota de diseño:	pre-dissemination survey 1 month before dissemination of the CPG (Feb 2014). The CPG was then published in Neurology in March 2014 and simultaneously disseminated using traditional methods. Three months after traditional dissemination (June 2014), the guideline was disseminated using novel methods. We conducted the second and third surveys, post-dissemination survey-1 and post-dissemination survey-2, 1 month after traditional (April 2014) and novel (July 2014) dissemination, respectively. Finally, 6 months after traditional dissemination (Sept 2014), we conducted post-dissemination survey-3.	3
<b>Desenlaces</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre del desenlace	Knowledge CAM in MS	
Definición	Knowledge of CAM was assessed by six survey questions regarding the effectiveness of magnetic therapy, oral cannabis extract, smoked cannabis, ginkgo biloba, hyperbaric oxygen, and bee venom therapy, all of which were discussed in the CPG. A 5-point ordinal scale was used for responses. For analysis of change in knowledge, we used the response to the question: "Taking ginkgo biloba orally is effective for improving memory in people with MS"	5
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Entrevista	
Perdidas (%)	The total response rate across all four surveys for patients was 43.5% (348/800), over twice our predicted rate, and was stable across all four surveys (patients 42-45%)	6
Imputación de datos perdidos	Realizaron el analisis con los datos que obtuvieron	
El desenlace/ herramienta es validada	No especifica validad de la herramienta	
Nombre del desenlace	Intent	5
Definición	Change in intent was defined as patients' intent to discuss CAM use with their physicians and physicians' intent to discuss CAM use with their patients	5
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Entrevista	
Perdidas (%)	The total response rate across all four surveys for patients was 43.5% (348/800), over twice our predicted rate, and was stable across all four surveys (patients 42-45%)	
Imputación de datos perdidos	Realizaron el analisis con los datos que obtuvieron	6
El desenlace/ herramienta es validada	No especifica validad de la herramienta	
Nombre del desenlace	Behavior	5
Definición	Change in behavior was defined as patients' discussing CAM with their physicians and physicians' recommending that their patients start or stop any CAM therapy	5
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Entrevista	
Perdidas (%)	The total response rate across all four surveys for patients was 43.5% (348/800), over twice our predicted rate, and was stable across all four surveys (patients 42-45%)	6
Imputación de datos perdidos	Realizaron el analisis con los datos que obtuvieron	
El desenlace/ herramienta es validada	No especifica validad de la herramienta	
<b>Resultados</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Comparación	Change the proportion of reporting an intent to discuss CAM after Novel dissemination as compared with that after traditional dissemination	7
Desenlace	Intent	
Resultados	Post-dissemination (after traditional) vs Post-dissemination (after Novel)= -8%(95%IC -22 to 8)	7
Nº perdidas y razón	57,5% incomplete responses	6
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	
Algún otro resultado reportado	CPG-aware patients in post-dissemination surveys were also not significantly more likely to report an intent to discuss CAM with their physicians (intent change, patients, AD aware vs unaware, all surveys: 9%, 95% CI -14 to 28). However, due to the small number of aware patients, the precision of the estimated difference is low	7
Unidad de análisis	Individuos	
Método estadístico usado	As the measure of effect, we used the absolute difference (AD) between surveys in the proportion of respondents. Secondary analysis stratified respondents within each survey into CPG-aware and CPG-unaware groups.	5
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
Comparación	Correct knowledge of the recommendations discussed in the CPG change in patients after traditional or novel dissemination as compared with pre-dissemination	7

Desenlace	Knowledge of GPG Recommendations	
Resultados	AD pre-dissemination vs post-dissemination- (after traditional): -2%, 95% CI -13 to 8 Post-dissemination- (after traditional) vs post-dissemination-(after Novel): -4%, 95% CI -14 to 6	7
Nº perdidas y razón	57,5% incomplete responses	6
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	
Algún otro resultado reportado	In the stratified analysis, Patients who were aware of the CPG did not have significantly better knowledge than those who were not aware (knowledge change, patients, AD aware vs unaware, all post-dissemination surveys: 5%, 95% CI -6 to 27). However, because of the small number of aware patients, the precision of this estimate is low	7
Unidad de análisis	Individuos	
Método estadístico usado	As the measure of effect, we used the absolute difference (AD) between surveys in the proportion of respondents Secondary analysis stratified respondents within each survey into CPG-aware and CPG-unaware groups.	5
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
Comparación	The proportion of patients who reported having recently discussed CAM with their physicians following traditional or novel dissemination	7
Desenlace	Behavior change	
Resultados	Post-dissemination- (after traditional) vs post-dissemination-(after Novel): 1%, 95% CI -14 to 15.	7
Nº perdidas y razón	57,5% incomplete responses	6
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	
Algún otro resultado reportado	CPG-aware patients were more likely to have discussed CAM with their physicians (AD patients, aware vs unaware, all surveys: 23%, 95% CI 1-44)	7
Unidad de análisis	Individuos	
Método estadístico usado	As the measure of effect, we used the absolute difference (AD) between surveys in the proportion of respondents Secondary analysis stratified respondents within each survey into CPG-aware and CPG-unaware groups.	5
Requirió re-análisis	No	
Nota:		
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No	
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No	
Nota:		
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
No		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	Our results are important in planning future dissemination efforts. Although we did not detect a difference in the effectiveness of the social media-based interventions as compared with the traditional methods, social media were useful in reaching large numbers of the public. We are planning subgroup analyses that may inform future targeted dissemination efforts to those populations that use social media most effectively. Contamination between traditional and novel methods cannot be excluded, as we did not have any control over how the CPG, when	9
Fuentes de financiamiento	AHRQ Grant Number 1R18HS022004-01.	9
Nota:	A pesar de revisar la bibliografía referente a la guía de practica clinica que hacen referencia, en el articulo de la guía no mencioana que es una guía clinica solo que es una guía basada en la evidencia, pero de todas formas fue incluido por las características de la intervención ( <a href="http://europepmc.org/abstract/MED/24663230">http://europepmc.org/abstract/MED/24663230</a> )	
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	HYPERTENSION IMPROVEMENT PROJECT (HIP): RANDOMIZED TRIAL OF QUALITY IMPROVEMENT FOR PHYSICIANS AND LIFESTYLE MODIFICATION FOR PATIENTS	2
Autores	Svetkey LP, Pollak KI, Yancy WS, Dolor RJ, Batch BC, Samsa G, et al	
Año	2009	
ID o DOI	10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.134874	
Objetivo	Increase physician adherence to national guidelines and patient adherence to lifestyle recommendations for lowering BP	

Protocolo y registro	ClinicalTrials.gov identifier NCT00201136, protocol doi:10.1186/1745-6215-10-13			1 (protocol)		
<b>Población y entorno del estudio</b>				<b>pg &amp; fig/tabla</b>		
Descripción de la población	Patient Diagnosis of hypertension			5 (protocol)		
Entorno (incluye localización y contexto social)	No es específico no en el artículo ni en el protocolo este aspecto en la parte de los pacientes, solamente mencionan las prácticas primarias en donde invitaron a participar a los médicos Cita="community-based primary care practices in central North Carolina"			2		
Total de la población al inicio del estudio	Primary care practice= Intervention 4 and control 4. Physician= Intervention (MD-I) 16 and control (MD-C) 16 Patient= With physician intervention (Intervention (MD-I/Pt-I) 140 and control (MD-I/Pt-C) 141) and without physician control (Intervention (MD-C/Pt-I) 145 and control (MD-C/Pt-C) 148)			12 Figure 1		
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	No, a pesar que se aleatoriza los servicios de cuidado primario, los pacientes con aleatorizados individualmente					
Edad o grupos etarios Media (DS)	MD-I/Pt-I= 60,7 (11) MD-I/Pt-C= 61,6 (10,2) MD-C/Pt-I= 59 (12,3) MD-C/Pt-C= 60,7 (12,2)			16 Table 2		
Sexo (mujeres%)	MD-I/Pt-I= 55 MD-I/Pt-C= 58 MD-C/Pt-I= 66 MD-C/Pt-C= 65			16 Table 2		
Raza/etnia (%)	African American MD-I/Pt-I= 33 MD-I/Pt-C= 31 MD-C/Pt-I= 44 MD-C/Pt-C= 42		Hispanic MD-I/Pt-I= 1 MD-I/Pt-C= 1 MD-C/Pt-I= 0 MD-C/Pt-C= 1	16 Table 2		
Severidad de la enfermedad/co-morbilidades	Hypertension MD-I/Pt-I= 95 MD-I/Pt-C= 97 MD-C/Pt-I= 98 MD-C/Pt-C= 99	Diabetes MD-I/Pt-I= 29 MD-I/Pt-C= 31 MD-C/Pt-I= 26 MD-C/Pt-C= 33	Dyslipidemia MD-I/Pt-I= 44 MD-I/Pt-C= 54 MD-C/Pt-I= 44 MD-C/Pt-C= 49	CVD event MD-I/Pt-I= 21 MD-I/Pt-C= 14 MD-C/Pt-I= 14 MD-C/Pt-C= 16	BMI, mean(SD) MD-I/Pt-I= 32,6 (5,2) MD-I/Pt-C= 32,7 (5,4) MD-C/Pt-I= 31,8 (5,5) MD-C/Pt-C= 32,9 (5,9)	16 Table 2
Mediciones por subgrupo	No					
Obtención de consentimiento informado	Si tanto para los médicos como para los pacientes			2		
<b>Métodos</b>				<b>pg &amp; fig/tabla</b>		
Diseño	nested 2x2 randomized controlled trial - factorial design			2		
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Individuo					
Fecha Inicio/Final	Fecha Inicio febrero de 2004 y final agosto 2008			Registro en clinicaltrials		
Duración total del estudio	18 meses			5		
Criterios de inclusión	they were at least 25 years old and were hypertensive based on billing codes			2		
Criterios de Exclusión	they had self-reported chronic kidney disease, a CVD event within the past 6 months, or were pregnant, breastfeeding or planning a pregnancy.			2		
Método de reclutamiento	After enrolling clinics and physicians, participants were then recruited from the patients of the enrolled physicians. Ten to 15 patients cared for by each participating MD were enrolled and randomized to the behavioral intervention or usual care. Each participating physician reviewed the list and removed names of patients considered unsuitable candidates for study participation. Recruitment letters were mailed on practice letterhead with the physician's name on the signature line. Patients were asked to call the research coordinator within 10 working days to decline participation in the study. After the 10 days, a member from the study staff called unresponsive patients to assess their willingness and eligibility to participate			2 (page 4 at protocol)		
Calculo de tamaño de muestra	The original study design defined the primary outcome as the proportion at goal BP, and with a planned sample size of 500 patients, was powered to detect an effect size of 0.3. During the study it became clear that the proportion of patients who were at goal BP at baseline (assessed blinded to treatment group) was higher than anticipated based on national statistics, potentially inducing a ceiling effect that could leave the study underpowered. Consequently, with the permission of the trial's Data and Safety Monitoring Board (DSMB), the primary outcome was changed to the continuous variable, change in SBP, with change in proportion at goal relegated to a secondary outcome. In addition, recruitment for the remaining study participants targeted those with BP above goal at baseline. The achieved sample size of 574 patients in 8 practices provided 80% power to detect a difference of 4 mmHg			5		
Aprobación de comité de ética	Duke Institutional Review Board			2		

Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)			pg & fig/tabla
Dominio	Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")	Soportes	
Generación de la secuencia aleatoria	Bajo	Cita="Randomization to Pt-C or Pt-I occurred in varying block sizes using a computer-generated algorithm"	2
Ocultamiento de la secuencia	Poco claro	Comentario= No se describe el metodo de ocultamiento por lo cual no hay suficiente informacion para realizar esta evaluacion.	
Cegamiento de los participantes y personal	Alto	Comentario= Cegamiento incompleto debido a que no se realiza a los pacientes ni a los medicos, solo realizan el cegameinto al personal que recolecta los datos, a pesar que en el estudio mencionan que no era factible el cegamiento de los pacientes y los medicos, no realizan mencion de las limitaciones que esto puede traer a los resultados. Cita="Randomization was performed by the study statistician; all data collection staff remained blinded to participant's treatment assignment. It was not feasible to blind patients or providers to their own randomization assignment. Patients were asked not to discuss their randomization assignment with their provider, but strict blinding of the physicians was not feasible."	3
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Poco claro	Comentario= No hay suficiente informacion para realizar esta evaluacion.	
Datos de resultados incompletos	Alto	Cita="All participants were analyzed according to their original intervention assignment, but participants who did not complete the study measurements were not included in analyses" Comentario= Debido a que realizan el analisis de los pacientes en los grupos asignados aleatoriamente, se observa que los datos faltantes no esta equilibrados en los grupos de comparacion asi como no realizan una explicacion del retiro y abandono, solo realizan el conteo de los pacientes fallecidos.	5 Figura 1 (pg 12)
Notificación selectiva de los resultados	Alto	Cita="The study design will allow an assessment of the effectiveness and cost of the physician and patient interventions separately" Comentario= Al revisar el protocolo del estudio y compararlos con la publicacion de los resultados; se observa que el estudio habia sido diseñado para realizar un analisis de costos, pero esto no se observa en los resultados y ni la explicacion del por que no se realizo, igualmente los resultados del analisis de sensibilidad mencionado no son claros. Se observa en el registro clinico que solamente existen un articulo con la publicacion de los resultados y es el que actualmente se esta revisando"	13 protocol
Otros posibles riesgos			
Grupos			pg & fig/tabla
Nombre grupo	MD-I/Pt-I		
Nº de personas	Physician=16 Patient= 145		12 Figura 1
Descripción	<p>The Physician Intervention (MD-I) lasted 18 months and consisted of three elements:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Two training modules were provided on-line. The first module addressed the Seventh Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC-7) guidelines and the second addressed lifestyle modification for BP control. Each module required approximately 45 minutes, included a quiz that gave immediate feedback, and provided Continuing Medical Education credit through Duke University. Participating physicians completed the modules within two weeks of randomization and before the patient intervention began.</li> <li>Each physician in MD-I received an evaluation and treatment algorithm that summarized, on a color-coded, pocket-size laminated card, the major JNC-7 guidelines, including lifestyle guidelines and a decision tree.</li> <li>The quality improvement (QI) procedure assessed clinical performance measures (CPMs) and provided quarterly feedback to physicians on adherence to JNC-7 guidelines. At each MD-I site, participating physicians completed a CPM data form every time a HIP patient (in either Pt-I or Pt-C) had a clinic visit. The form recorded patient demographics, comorbidity, prior and current BP measurements, and actions taken during the visit. In addition, one day each month, MDs completed a CPM form on all adult patients treated during that day, whether or not the patient was a HIP participant, recording the same data as for study participants, but without patient identifiersB57B52</li> </ol> <p>The <b>Patient Intervention (Pt-I)</b> consisted of 20 weekly group sessions (n = 10–15 patients/ group) over approximately 6 months. All intervention sessions occurred at or near the patients' primary care clinic</p>		3
Duración de seguimiento	6 and 18 months		4
Variables económicas (costo de la intervención...)	No		
Nombre grupo	MD-I/Pt-C		
Nº de personas	Physician=16 Patient= 148		12 Figura 1

Descripción	<p><b>The Physician Intervention (MD-I)</b> lasted 18 months and consisted of three elements:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Two training modules were provided on-line. The first module addressed the Seventh Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC-7) guidelines and the second addressed lifestyle modification for BP control. Each module required approximately 45 minutes, included a quiz that gave immediate feedback, and provided Continuing Medical Education credit through Duke University. Participating physicians completed the modules within two weeks of randomization and before the patient intervention began.</li> <li>Each physician in MD-I received an evaluation and treatment algorithm that summarized, on a color-coded, pocket-size laminated card, the major JNC-7 guidelines, including lifestyle guidelines and a decision tree.</li> <li>The quality improvement (QI) procedure assessed clinical performance measures (CPMs) and provided quarterly feedback to physicians on adherence to JNC-7 guidelines. At each MD-I site, participating physicians completed a CPM data form every time a HIP patient (in either Pt-I or Pt-C) had a clinic visit. The form recorded patient demographics, comorbidity, prior and current BP measurements, and actions taken during the visit. In addition, one day each month, MDs completed a CPM form on all adult patients treated during that day, whether or not the patient was a HIP participant, recording the same data as for study participants, but without patient identifiers</li> </ol> <p><b>The Patient Control condition (Pt-C)</b> constituted usual care, comprising an individual visit with an interventionist to receive advice and written materials on lifestyle modification for BP control consistent with JNC-7 guidelines</p>	3 y 4										
Duración de seguimiento	6 and 18 months	4										
Variables económicas (costo de la intervención...)	No											
Nombre grupo	MD-C/Pt-I											
Nº de personas	Physician=16 Patient= 140	12 Figura 1										
Descripción	<p><b>The MD Control condition (MD-C)</b> constituted "usual care". There was no attempt to change or monitor procedures already in place for quality improvement and physician education with regard to BP control. No performance data were collected from these physicians, and no performance feedback was given.</p> <p><b>The Patient Intervention (Pt-I)</b> consisted of 20 weekly group sessions (n = 10–15 patients/ group) over approximately 6 months. All intervention sessions occurred at or near the patients' primary care clinic</p>	3 y 4										
Duración de seguimiento	6 and 18 months	4										
Variables económicas (costo de la intervención...)	No											
Nombre grupo	MD-C/Pt-C											
Nº de personas	Physician=16 Patient= 141	12 Figura 1										
Descripción	<p><b>The MD Control condition (MD-C)</b> constituted "usual care". There was no attempt to change or monitor procedures already in place for quality improvement and physician education with regard to BP control. No performance data were collected from these physicians, and no performance feedback was given.</p> <p><b>The Patient Control condition (Pt-C)</b> constituted usual care, comprising an individual visit with an interventionist to receive advice and written materials on lifestyle modification for BP control consistent with JNC-7 guidelines</p>	3 y 4										
Duración de seguimiento	6 and 18 months	4										
Variables económicas (costo de la intervención...)	No											
<b>Desenlaces</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>										
Nombre del desenlace	measured systolic (S)BP (primario)											
Definición	hypertension was defined as measured systolic (S)BP 140mmHg or higher	4										
Unidad de medición es relevante	Si, clinica											
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	At each time-point (baseline, 6- and 18 months), participants attended two study visits approximately 1 week apart. BP for that time- point was defined as the mean over the two study visits (i.e., 4 BP readings)	4										
Perdidas (%)	<table border="0"> <tr> <td style="text-align: center;">6 meses</td> <td style="text-align: center;">18 meses</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">MD-I/Pt-I= 9%</td> <td style="text-align: center;">MD-I/Pt-I= 12%</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">MD-I/Pt-C= 7%</td> <td style="text-align: center;">MD-I/Pt-C= 9%</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">MD-C/Pt-I= 11%</td> <td style="text-align: center;">MD-C/Pt-I= 11%</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">MD-C/Pt-C= 6%</td> <td style="text-align: center;">MD-C/Pt-C= 13%</td> </tr> </table>	6 meses	18 meses	MD-I/Pt-I= 9%	MD-I/Pt-I= 12%	MD-I/Pt-C= 7%	MD-I/Pt-C= 9%	MD-C/Pt-I= 11%	MD-C/Pt-I= 11%	MD-C/Pt-C= 6%	MD-C/Pt-C= 13%	12 Figura 1
6 meses	18 meses											
MD-I/Pt-I= 9%	MD-I/Pt-I= 12%											
MD-I/Pt-C= 7%	MD-I/Pt-C= 9%											
MD-C/Pt-I= 11%	MD-C/Pt-I= 11%											
MD-C/Pt-C= 6%	MD-C/Pt-C= 13%											
Imputación de datos perdidos	participants who did not complete the study measurements were not included in analyses	5										
El desenlace/ herramienta es validada	Personnel were trained and certified using methods used in previous BP trials. Duplicate measurements were obtained with a calibrated automated appropriate-sized cuff after the participant had been seated quietly for at least 5 minutes.	4										
Nombre del desenlace	BP change											
Definición	The proportion of participants with adequate BP control at 6 and 18 months	8 (protocol)										
Unidad de medición es relevante	Clinica											

Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	At each time-point (baseline, 6- and 18 months), participants attended two study visits approximately 1 week apart. BP for that time- point was defined as the mean over the two study visits (i.e., 4 BP readings)				4
Perdidas (%)	6 meses MD-I/Pt-I= 9% MD-I/Pt-C= 7% MD-C/Pt-I= 11% MD-C/Pt-C= 6%		18 meses MD-I/Pt-I= 12% MD-I/Pt-C= 9% MD-C/Pt-I= 11% MD-C/Pt-C= 13%		12 Figura 1
Imputación de datos perdidos	participants who did not complete the study measurements were not included in analyses				5
El desenlace/ herramienta es validada	Personnel were trained and certified using methods used in previous BP trials. Duplicate measurements were obtained with a calibrated automated appropriate-sized cuff after the participant had been seated quietly for at least 5 minutes.				4
Nombre del desenlace	the effect of treatment on behavior change				5
Definición	weight loss, dietary pattern, physical activity, fasting blood glucose and lipids at 6 and 18 months				5
Unidad de medición es relevante	Clincia				
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	face-to-face clinic visits by trained, certified study personnel. Physical activity was assessed by a calibrated, triaxial accelerometer (RT3, Stayhealthy, Inc, Monrovia, California) worn for at least 10 hours per day for at least four days over the course of a week, including one weekend day. Data are expressed as total weekly minutes of moderate to vigorous physical activity (MVPA)				4
Perdidas (%)	6 meses MD-I/Pt-I= 9% MD-I/Pt-C= 7% MD-C/Pt-I= 11% MD-C/Pt-C= 6%		18 meses MD-I/Pt-I= 12% MD-I/Pt-C= 9% MD-C/Pt-I= 11% MD-C/Pt-C= 13%		12 Figura 1
Imputación de datos perdidos	participants who did not complete the study measurements were not included in analyses				5
El desenlace/ herramienta es validada	Se observa algunas medidas como el peso, talla y medidas de laboratorio tiene una metodologia de medicion adecuada, pero las relacionadas con ingesta dietaria, actividad fisica y la meditacion no mencionan validacion de estas herramientas				4
<b>Resultados</b>					<b>pg &amp; fig/tabla</b>
<b>Continuos</b>					
Comparación	change SBP among four group				4
Desenlace	measured systolic (S)BP (primario)				4
Post-intervención o cambios en la línea de base	cambios en la linea de base a los 6 meses y a los 18 meses				6
Resultados SBP(mmHg) - 6 meses	MD-I/Pt-I	MD-I/Pt-C	MD-C/Pt-I	MD-C/Pt-C	6
	Media=-9,7 DE=12,7 N <sup>o</sup> = 132	Media=-5,3 DE=12,1 N <sup>o</sup> =137	Media=-7,1 DE=12,1 N <sup>o</sup> =124	Media=-6,7 DE=12,8 N <sup>o</sup> =132	
N <sup>o</sup> pérdidas y razón - 6 meses	9% Died 2 and dropped out 11	7% Died 0 and dropped out 11	11% Died 0 and dropped out 16	6% Died 2 and dropped out 7	12 Figura 1
N <sup>o</sup> participantes movidos a otro grupo y razón	No	No	No	No	
Algún otro resultado reportado	MD-I/Pt-I (p = .0072) compared to all other groups. At 6 months there was no significant effect of MD- I (0.3mmHg (95% CI -1.5 to 2.2), p = 0.76). In contrast, the main effect of Pt-I was a net reduction of 2.6mmHg (CI -4.4 to -0.7, p=.01). Further, there was a significant interaction between MD-I and Pt-I (p = 0.03), suggesting that the effect of Pt-I was enhanced by coincident exposure to MD-I. Similar results were seen for diastolic BP. At 18 months, the main effect for the MD-I was 0.3, (p=.81), the main effect for the Pt-I was -0.2 (p=.89) Participants who were above goal BP at baseline had a 4.0 mmHg greater reduction in SBP than patients in whom BP was already at goal at baseline (p<0.0001, CI 2.6 to 5.4)				6
Unidad de análisis	Individuo				
Método estadístico usado	Analysis of change in BP was performed using analysis of covariance (ANCOVA). The 2x2 factorial design allowed for tests of the main effect of MD-I, the main effect of Pt-I, and the interaction between the two interventions. For SBP and DBP, the “adjusted” (or “least squares”) mean reflects the mean change in BP within each group after accounting for any differences in case mix between the groups. In addition, we considered the design to be equivalent to a 4-arm parallel trial, and evaluated differences across pairs of intervention arms ((MD-C/Pt-C; MD-I/Pt-C; MD-C/Pt-I; MD-I/Pt-I).				5
Requirió re-análisis	Se observa que mencionan un analisis de sensibilidad “assuming no change in BP in non-completers yielded similar results”, pero no son claros los resultados de este analisis.				9
Nota:	Se presentan solamente los datos de los seis meses debido a que los demas datos los muestran en un grafico del cual no se observa adecuadamente la desviacion Estandar.				
Comparación	the percent of patients with BP at JNC-7-defined goal				4
Desenlace	The proportion of patients with BP at goal				4
Post-intervención o cambios en la línea de base	6 meses y a los 18 meses				6

Resultados %(n°)	MD-I/Pt-I	MD-I/Pt-C	MD-C/Pt-I	MD-C/Pt-C	13 Figura 3
Baseline	60 (145)	53 (148)	63 (140)	62 (141)	
6 meses	84 (132)	68 (137)	84 (124)	75 (132)	
18 meses	73 (128)	76 (134)	74 (124)	77 (122)	
Nº perdidas y razón - 6 meses	9% Died 2 and dropped out 11	7% Died 0 and dropped out 11	11% Died 0 and dropped out 16	6% Died 2 and dropped out 7	12 Figura 1
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	No	No	No	
Algún otro resultado reportado	The proportion of patients with BP at goal increased in the first 6 months post-randomization, with significant differences across treatment groups (p=.03) seemingly due to higher rates in those exposed to the patient intervention (MD-C/Pt-I and MD-I/Pt-I), but differences between treatment groups did not persist at 18 months				7
Unidad de análisis	Individuo				
Método estadístico usado	The effect of treatment group on the proportion "at goal" or "not at goal" was evaluated by chi-squared analysis				5
Requirió re-análisis	No				
Nota:	Los porcentajes fueron obtenidos de la figura la cual el valor no es muy exacto.				
Comparación	the effect of treatment on behavior change				4
Desenlace	the effect of treatment on behavior change				4
Post-intervención o cambios en la línea de base	cambios en la línea de base a los 6 meses y a los 18 meses				6
Resultados - media(DE)	MD-I/Pt-I	MD-I/Pt-C	MD-C/Pt-I	MD-C/Pt-C	
Physical activity Baseline	28,8(106,7)	36,4(127,1)	37,9(89,1)	43,9(122,5)	17 Tabla 3
Change (6-month)	28,4(134,9)	18,5(297,8)	6,2(103,2)	-15,7(122)	
Change (18-month)	-0,7(112,3)	5,0(95,1)	-21,5(138,8)	-13(145,7)	
Weighth, lb Baseline	202,5(37,5)	199(38,4)	192,3(38,0)	202,1(39,6)	17 Tabla 3
Change (6-month)	-7,0(10,7)	0,1(11,2)	-5,2(10,7)	-0,3(6,3)	
Change (18-month)	-3,8(9,8)	-0,4(13,4)	-2,6(12,2)	-2,1(12)	
F/V,serving/d Baseline	1,42(1,13)	1,23(0,88)	1,33(0,99)	1,28(0,90)	12 Figura 1
Change (6-month)	0,92(1,34)	0,09(0,72)	0,59(1,27)	0,04(0,81)	
Change (18-month)	0,55(1,13)	-0,03(0,87)	0,41(1,13)	0,01(0,90)	
Total fat,%Kcal Baseline	37,3(6,8)	39,8(8,3)	38,4(8,1)	38,1(8,0)	12 Figura 1
Change (6-month)	-4,3(7,1)	-1,2(6,7)	-2,3(8,5)	0,6(7,0)	
Change (18-month)	-2,8(7,8)	-1,1(6,6)	-1,7(7,7)	0,8(8,0)	
Nº perdidas y razón - 6 meses	9% Died 2 and dropped out 11	7% Died 0 and dropped out 11	11% Died 0 and dropped out 16	6% Died 2 and dropped out 7	12 Figura 1
Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	No	No	No	
Algún otro resultado reportado	The only significant interaction was for the effect on intake of fruits and vegetables (F/V) (p-value for interaction = 0.05). At 6 months, MD-I resulted in a significant increase in F/V intake and decreased total fat intake. Pt-I increased intake of F/V and of dairy products, and decreased intake of both total and saturated fat. Pt-I, but not MD-I, led to a significant reduction in weight (- 6.1 and +0.6 lb, respectively; p<0.0001 for Pt-I main effect). At 18 months, the effect of MD-I on F/V intake was no longer significant, but the effect on total fat intake persisted. The effects of Pt-I on F/V, total fat and saturated fat intake persisted, but effects on dairy intake and weight did not. There were no significant changes in the number of antihypertensive medications, but we did not measure changes in dose				6
Unidad de análisis	Individuo				
Método estadístico usado	Analysis of change was performed using analysis of covariance (ANCOVA). The 2x2 factorial design allowed for tests of the main effect of MD-I, the main effect of Pt-I, and the interaction between the two interventions. For SBP and DBP, the "adjusted" (or "least squares") mean reflects the mean change in BP within each group after accounting for any differences in case mix between the groups. In addition, we considered the design to be equivalent to a 4-arm parallel trial, and evaluated differences across pairs of intervention arms ((MD- C/Pt-C; MD-I/Pt-C; MD-C/Pt-I; MD-I/Pt-I).				5
Requirió re-análisis					9
Nota:					
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>					<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No				
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No				

Nota:		
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
No		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	The HIP trial demonstrated that in the setting of primary care clinics, an intensive behavioral lifestyle intervention significantly reduced BP at 6 months, with evidence that this effect occurred because of adoption of healthy dietary pattern and weight loss. The HIP behavioral intervention improved dietary pattern and lowered BP over 6 months, but the intervention was intensive, the effect size relatively small, and the effect did not persist. Implementation of similar lifestyle intervention program would require further development to make it affordable, scalable within health systems, and able to produce sustained improvements in behavior and BP.	07-sep
Fuentes de financiamiento	Sources of funding: R01-HL75373.	9
Nota:	Dentro del texto del estudio y las guías (PDF) solamente se evidencia que son guías basadas en la evidencia, pero al revisar la página web de la organización creadora de estas guías "National heart, lung, and blood institute" ( <a href="https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/current/hypertension-jnc-7/express-report">https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/current/hypertension-jnc-7/express-report</a> ) las clasifica como guías de práctica clínica	
<b>Descripción general</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Título del estudio	A pragmatic cluster randomised trial evaluating three implementation interventions	1
Autores	Rycroft-Malone J, Seers K, Crichton N, Chandler J, Hawkes CA, Allen C, et al	
Año	2012	
ID o DOI	10.1186/1748-5908-7-80	
Objetivo	The objective of this trial was to evaluate the effectiveness of three strategies for the implementation of recommendations about perioperative fasting	
Protocolo y registro	ISRCTN18046709 - Peri-operative Implementation Study Evaluation (POISE). No especifican la existencia de un protocolo	
<b>Población y entorno del estudio</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Descripción de la población	individual patients undergoing elective and routine general, orthopaedic, or gynaecological surgery	4
Entorno (incluye localización y contexto social)	All acute care NHS Trusts across the UK conducting elective surgery were invited to participate, but needed to be able to fulfil the following criteria: 1. there were a sufficient volume of suitable participants, i.e., at least 40 adult patients per timepoint undergoing a routine surgical operation as inpatient or day patient; 2. they provided gynaecological, orthopaedic, or general surgical services; 3. they would allow staff to participate in the project; 4. they would provide local investigators	4
Total de la población al inicio del estudio	19 hospital trust (1575 inpatients assessed pre-intervention, 1930 patients assessed post-intervention)	3 Figure 1
Nº de clusters (si aplica - Nº y tipo de personas por cluster)	Standard Dissemination package n=7 Standard dissemination + web based tool championed by opinion leader n=6 Standard dissemination + PDSA n=6 Across all hospitals, information was gathered from 1,575 patients in total in the pre-intervention period	3 Figure 1 8
Edad o grupos etarios	No específica	
Sexo	No específica	
Raza/etnia	No específica	
Severidad de la enfermedad/ co-morbilidades	No específica	
Mediciones por subgrupo	No específica	
Obtención de consentimiento informado	Patients who could provide informed consent.	5
<b>Métodos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Diseño	pragmatic cluster randomised controlled trial (RCT) using time series (four times pre-intervention and four times post-intervention, with up to two months interval between data collection points)	3
Unidad de análisis (individuo, cluster/grupos)	Fasting time was measured in each patient Comparing fasting times before and after the intervention was done at the Trust (randomised unit) level.	6
Fecha Inicio/Final	November 2006 and February 2009	8
Duración total del estudio	Data were collected eight months pre- and post-intervention. The intervention period was six months. (2 years)	4
Criterios de inclusión	1. Patients aged 18 and over. 2. Patients who could provide informed consent.	5
Criterios de Exclusión	1. Patients who were critically ill. 2. Emergency or trauma patients because we were evaluating routine fasting regimes. 3. Patients who were unable to give informed consent Duration	5
Método de reclutamiento	All 188 acute trusts in the four countries were invited to participate. Trust chief executives, medical and nursing directors (Binleys database) were sent a letter of invitation. A total of 19 Trusts were recruited and remained in the trial	8
Calculo de tamaño de muestra	The study had 80% power to detect an effect size of 2 (a difference of 4 hours and SD 2 hours) with a two-sided 5% significance level, which required six Trusts in each of the three intervention groups. These calculations were carried out using the sample size calculator for one way ANOVA in MINITAB13	6

Aprobación de comité de ética	This study was approved by a multi-site ethics committee (06/MRE01/20). It took approximately 12 months before all of the trusts gave local research governance approval	7
<b>Evaluación de riesgo de sesgo (tendrá modificaciones en estudios de antes y después)</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
<b>Dominio</b>	<b>Tipo de riesgo (Bajo - Alto - "Poco Claro")</b>	<b>Soportes</b>
Generación de la secuencia aleatoria	Bajo	Cita="The randomisation schedule was computer-generated centrally and prepared by a statistician who was independent of the project team."
Ocultamiento de la secuencia	Bajo	Cita="computer-generated centrally ... Allocation was thus concealed and could not be foreseen in advance of, or during enrolment. Trusts were allocated to one of three implementation interventions, which resulted in six in two arms and seven in the other. Trusts were informed of their allocation by a project researcher as near as possible to the intervention period."
Cegamiento de los participantes y personal	Alto	Cita="Blinding of local investigators, research fellows or trust staff to interventions was not possible because the intervention required their active participation" Comentario= no realizan la santidad de que este aspecto no afecta los resultados. Y probablemente los resultados pueden estar influenciados por el no cegamiento
Cegamiento de los evaluadores de los resultados	Poco claro	Comentario= El estudio no especifica este aspecto
Datos de resultados incompletos	Bajo	Comentario= No se observan datos faltante (cluster)
Notificación selectiva de los resultados	Poco Claro	Comentario: Debido a la no existencia de un protocolo no hay suficiente información para realizar la evaluación de este ítem.
ITS: La intervención fue independiente de otros cambios.	Poco claro	Comentario: A pesar que la intervención pareciera ser independiente en los cambios de tiempo debido a que se realizó en un tiempo diferente, esta no se describe con claridad, además no se detalla si existe o no variables de confusión o eventos históricos que puedan influir los resultados.
ITS: ¿Se preespecificó la forma del efecto de intervención?	Si	Cita= "Whilst fasting time was measured in each patient, comparing fasting times before and after the intervention was done at the Trust (randomised unit) level. Because patients will generally only be in hospital for surgery at one timepoint we could not measure the effect of the intervention on fasting time within individual patients. "
ITS: ¿Es poco probable que la intervención afecte a la recopilación de datos?	Poco claro	Comentario: No realiza una clara descripción si la intervención podría afectar o no la recolección de los datos.
ITS: Los datos completos de cada medida de tiempo y análisis estadístico adecuado.	No	Cita"Not all trusts were able to collect data for all eight timepoints. Pre-intervention (because of lengthy governance procedures), three trusts had information from timepoint four only, four trusts had information from timepoints three and four, 12 trusts had information from more than two pre-intervention timepoints. Post-intervention, one trust had information from only one timepoint, one " Comentario: No se realiza un adecuado análisis de los datos de series de tiempo, realizan un promedio de las medidas pre y post intervención, describiendo que fue debido a que el coeficiente de tendencia no fue significativamente diferente de cero, por tal razón realizaron el análisis simple de pre - post, pero no es claro este cálculo, se realiza mediante ANOVA. Pero no muestran los datos separadamente de las medidas en el tiempo y no realizan algún ajuste por cluster.
Nota: limitaciones: The interrupted time series did not have all data at all timepoints for all trusts, mainly due to the delays in getting research governance approval from participating Trusts. However, because there were no significant time trends pre-or post-intervention, and thus all four pre- and all four post-timepoints were combined, the impact of this missing data was minimised		
<b>Grupos</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Nombre grupo	Standard dissemination (SD)	5
Nº clúster	7	5
Descripción	SD of a guideline package, which included: 1.A copy of the RCN/RCA guideline, which included an overview of the guideline development process and those involved, recommendations, algorithm poster, and audit criteria. 2.A patient version of the guideline. 3.A PowerPoint presentation outlining some principles of guideline implementation	5
Duración de seguimiento	6 months	
Variables económicas (costo de la intervención...)	Si	10
Nombre grupo	Standard dissemination of guideline package plus web-based educational package championed by an opinion leader(s) (SD + web-resource/opinion leader)	5

Nº clúster	6				5	
Descripción	A web-based resource was developed from the content of the guideline package, accessible to trusts allocated to this intervention. The web-based resource was interactive, incorporating educational tools such as self-check tests, working through clinical scenarios, and a patient digital story. The resource was championed by opinion leaders working in participating surgical areas. Opinion leaders were identified by key contacts at the NHS Trusts through a nomination process based on criteria developed from previous research: 1. Does this person have credibility across different professional groups? i.e., will different professional groups all take on knowledge from this person and respect their ability? 2. Do they have an authority and presence recognised by their colleagues? 3. Do they have good communication skills?				5	
Duración de seguimiento	6 months					
Variables económicas (costo de la intervención...)	Si				10	
Nombre grupo	Standard dissemination of guideline package plus plan- do-study-act (SD + PDSA)				6	
Nº de personas o clúster	6				5	
Descripción	The PDSA quality improvement approach includes making small changes and test cycles to see whether an improvement occurs in the system or process. Critical to this intervention is the potential to collaborate, which in this study was possible at a local level between teams and individuals. This intervention also included a 'diagnosis' phase based on the Seven S Model. A dedicated facilitator with relevant clinical and/or managerial experience was identified by each trust's key contact. Facilitators had a one-day training session. The PDSA package used in this study is available on request. All trusts received their individual baseline mean food and fluid fasting times at the beginning of the intervention phase.				5	
Duración de seguimiento	6 months					
Variables económicas (costo de la intervención...)	Si - Cost analysis of developing and implementing the three interventions from a national perspective (cost of rolling out a particular intervention across the NHS), and from the perspective of a single trust (cost of all activity and resource used by trust employees in implementation)				6	
<b>Desenlaces</b>					<b>pg &amp; fig/tabla</b>	
Nombre del desenlace	Intervention group across pre-and post-intervention timepoints				Table 4	
Definición	The primary outcome was the duration of fluid fast prior to induction of anaesthesia. Data were collected four times pre-intervention and four times post-intervention, with up to two months interval between data collection points				6	
Unidad de medición es relevante	Trust					
Como se aplicó la medición (entrevista, email, teléfono...)	Data on fasting were collected by the local investigators by asking patients pre-operatively when they last ate, when they last drank, and post-operatively when they had a first drink. This information was checked against reported information in their notes. These data were recorded on digitally read data sheets developed for this study coded for the Trusts and for individual patients. Local investigators received training about how to collect these data.				6	
Perdidas (%)	Across all hospitals, information was gathered from 1,575 patients in total in the pre-intervention period (fluid fast time was missing for 135 patients and food fast time missing for 140 patients). Across all Trusts information was gathered from 1930 patients in total in the post-intervention period (fluid fast was missing for 169 patients and food fast for 153 patients post-intervention) However, because there were no significant time trends pre-or post-intervention, and thus all four preand all four post-timepoints were combined, the impact of this missing data was minimised					
Imputación de datos perdidos	No se detalla					
El desenlace/ herramienta es validada	No especifica					
<b>Resultados</b>					<b>pg &amp; fig/tabla</b>	
Comparación	Comparing the three intervention groups pre-and post- intervention				9	
Desenlace	Intervention group across pre-and post-intervention timepoints					
intervalo de tiempo de medica para cada tiempo	Data were collected four times pre-intervention and four times post-intervention, with up to two months interval between data collection points.					
Post-intervención o cambios en la línea de base	Pre-Post-intervencion					
Resultados Mean (IC 95%)		Food - preintervention	Fluid- preintervention	Food - post-intervention	Fluid - post-intervention	9
	Standard dissemination	14,2 (13,2-15,2)	10,1 (7,74-12,5)	14,4 (13,4-15,4)	8,97 (6,77-11,2)	
	SD+web resource/opinion leader	13,8 (13-14,6)	8,83 (7,27-10,4)	14,5 (13,4-15,7)	8,25 (6,92-9,58)	
	SD+PDSA	14 (13-14,6)	9,86 (8,02-11,7)	14 (12,9-15)	8,9 (7,28-10,5)	
Nº perdidas y razón	Across all hospitals, information was gathered from 1,575 patients in total in the pre-intervention period (fluid fast time was missing for 135 patients and food fast time missing for 140 patients). Across all Trusts information was gathered from 1930 patients in total in the post-intervention period (fluid fast was missing for 169 patients and food fast for 153 patients post-intervention) However, because there were no significant time trends pre-or post-intervention, and thus all four preand all four post-timepoints were combined, the impact of this missing data was minimised					

Nº participantes movidos a otro grupo y razón	No	
Algún otro resultado reportado	ANOVA showed no significant difference in mean over time for either food or fluid fast time at any Trust pre- intervention and post- intervention. Additionally within each intervention group there was no evidence of a trend across time pre-or post-intervention. Se observan las diferencias de medias en el estudio	9
Unidad de análisis	Data were collected four times pre-intervention and four times post-intervention, with up to two months interval between data collection points. Analysis was conducted at the cluster level; for each Trust, mean fasting times were calculated at each assessment timepoint. At each timepoint, the differences in mean fasting times between the three intervention groups were compared using analysis of variance (ANOVA).	7
Método estadístico usado	A repeated measure ANOVA across the timepoint means for all trusts, within each interven- tion group, was conducted. The trend coefficient was not significantly different to zero: there was no evidence of trend over time pre-or post-intervention therefore data were combined across timepoints (1 to 4 and 5 to 8) and simple pre- and post-interventions comparisons were conducted using t-tests. TheThe significance level used for all tests was 5%. The effect size was calculated for each of the web-based and PDSA interventions compared to SD for change in fluid fasting time between pre- and post-intervention. Confidence intervals for the effect size are based on a non-central t distribution.	7
Requirió re-análisis		
Nota:	A cost analysis --> Given that standard intervention was used in all three arms, the arm that received just standard intervention will by definition, have the lowest cost. One might assume this would be the most cost-effective intervention if the three approaches were shown to have equal effectiveness. Whilst the study did not detect a significant difference, it was not designed to demonstrate equivalence, and therefore it is not possible to say that SD is the most cost-effective approach. In fact, the variation in outcome within each intervention arm is likely to reflect the significant variation in activity, and therefore the resource use and cost, between the in- dividual Trusts within each intervention arm	11
<b>Aplicabilidad – Equidad</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Considera poblaciones en desventaja y posibles diferencias en el efecto de la intervención	No	
La intervención está enfocada en grupos en desventaja	No	
Nota:		
<b>Uso de algún marco para la implementación de las intervenciones</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
The theoretical framework developed for this study is based on the Promoting Action on Research Im- plementation in Health Services (PARIHS) framework . Successful implementation (SI) is represented as a function ( f ) of the nature and type of evidence (E) (in- cluding research, clinical experience, patient experience, and local information), the qualities of the context (C) of implementation (including culture, leadership and evalu- ation), and the way the process is facilitated (F) (internal and/or external person who enables implementation processes); SI = f(E,C,F).		
<b>Otra información</b>		<b>pg &amp; fig/tabla</b>
Principales conclusiones de los autores del estudio	This study is one of the first national RCTs with an embedded process evaluation conducted within acute care in the field of implementation research. Evaluating implementation in the context of fasting practice provided a useful vehicle with which to expose some of the general issues and challenges faced when implementing evidence into practice. The issues uncovered in this study have important international implications because they have helped to further articulate the complex processes embedded in implementation as well as its evaluation	15
Fuentes de financiamiento	The authors gratefully acknowledge funding of this research from The Health Foundation's Engaging with Quality Initiative	16
Nota:		

**Anexo D. EVALUACION DE LA CALIDAD DE LA EVIDENCIA DE LOS ESTUDIOS**

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 6-2-17

**Pregunta:** Adaptación Cultural de las Guías de Hipertensión comparado con Cuidado usual para pacientes hipertensos con pobre control de Ghanna y Suriname

**Bibliografía:** Beune EJAJ et al. 2014

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Adaptación Cultural de las Guías de Hipertensión	Cuidado usual	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Diferencia en la reducción de la presión sistólica menos de 10 mmHg (seguimiento: 6 meses; evaluado con: Monitor automático de presión sanguínea Omron 705-IT)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	no es serio c	serio d	serio e	ninguno	34/71 (47.9%)	29/68 (42.6%)	<b>OR 1.24</b> (0.63 a 2.41)	<b>53 más por 1.000</b> (de 107 menos a 215 más)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE j
Diferencia en el cambio en el tiempo de la presión sistólica (seguimiento: 6 meses; evaluado con: Monitor automático de presión sanguínea Omron 705-IT)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	no es serio c	serio d	serio f	ninguno	71	68	-	<b>MD 2.15 menor</b> (7.07 menor a 2.77 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE k
Diferencia en el cambio de adherencia en estilos de vida (seguimiento: 6 meses; evaluado con: Four-item Morisky scale; Escala de: 1 a 4)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	no es serio c	serio d	no es serio g	ninguno	52	45	-	<b>MD 0.19 más</b> (0.04 menos a 0.42 más)	⊕⊕⊕○ MODERADO	IMPORTANTE
Diferencia en el cambio de adherencia en la medicación (seguimiento: 6 meses; evaluado con: Eight-item Morisky medication adherence scale; Escala de: 1 a 8)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	no es serio c	serio d	no es serio g	ninguno	50	60	-	<b>MD 0.25 más alto</b> (0.41 menor a 0.91 más alto.)	⊕⊕⊕○ MODERADO	IMPORTANTE

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Adaptación Cultural de las Guías de Hipertensión	Cuidado usual	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
No adherencia a la medicación (seguimiento: 12 meses; evaluado con: crosscheck MMAS-8 data on self-reported medication adherence)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	no es serio c	serio d	serio h	ninguno	15/57 (26.3%)	33/62 (53.2%)	<b>OR 0.31</b> (0.14 a 0.68)	<b>271 menos por 1.000</b> (de 96 menos a 395 menos)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE I
Reducción IMC (seguimiento: 6 meses; evaluado con: nearest 0.1 cm and 0.1 kg)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	no es serio c	muy serio i	no es serio	ninguno	71	68	-	<b>MD 0.49 menor</b> (1.08 menor a 0.1 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	NO ES IMPORTANTE

**CI:** Intervalo de confianza; **OR:** Razón de momios; **MD:** Diferencia media

- a. Cluster
- b. Riesgo poco clara para la generación Aleatoria debido a que no describen el método y para el ocultamiento ya que no se describe. Los demás tuvieron riesgo bajo
- c. Se trata de un solo estudio y dentro de él no se observa inconsistencia del resultado
- d. A pesar que es un solo estudio, el enfoque es a la adaptación cultural de las recomendaciones de las guías a una población específica. Es una medida indirecta de las recomendaciones de las guías
- e. De observa que el OR calculado mediante una regresión logística el IC incluye el 1
- f. El IC es amplio para este resultado y cruza por el valor 0.
- g. El IC no es muy amplio y no abarca el 0
- h. Se observa un menor tamaño de muestra en este desenlace y no explica las razones
- i. Fue un resultado explicativo que no está incluido desde el principio
- j. El OR fue calculado por el programa RevMan 5.3, el cual es el mismo que obtuvieron mediante la regresión logística. El OR ajustado por el efecto del cluster se observa que fue de 0,42 (0,11 a 1,54)
- k. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3, con los datos a los 6 meses de cada grupo. Este difiere con el valor calculado dentro del artículo mediante la regresión lineal -3,69 (-8,34 a 0,96)
- l. El OR ajustado al cluster en el artículo fue 0,10 (0,01 a 0,75) p=0.024

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 6-2-17

**Pregunta:** Programa de gestión integral de atención comparado con guía base de cuidado usual para Pacientes de enfermedad pulmonar obstructiva crónica

**Bibliografía:** Fan VS 2012

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa de gestión integral de atención	guía base de cuidado usual	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Tiempo en la primera hospitalización por EPOC (seguimiento: 12 meses; evaluado con: 1 o más síntomas respiratorios)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	36/209 (17.2%)	34/217 (15.7%)	HR 1.13 (0.70 a 1.80)	18 más por 1.000 (de 44 menos a 107 más)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE
Mortalidad (seguimiento: 18 meses; evaluado con: Muerte relacionada EPOC)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	serio c,e	no es serio	no es serio	ninguno	28/209 (13.4%)	10/217 (4.6%)	HR 3.60 (1.46 a 6.17)	110 más por 1.000 (de 20 más a 206 más)	⊕⊕⊕○ MODERADO	CRÍTICO j
Exacerbación por persona-año (seguimiento: 12 meses; evaluado con: Números de episodios de exacerbación)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	serio c	no es serio	serio f	ninguno	209	217	-	Rate Ratio 1.03 más alto. (0.97 más alto. a 1.1 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE
Exacerbación tratada con prednisona (seguimiento: 12 meses; evaluado con: Numero de exacerbación que requirió prednisona)												

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa de gestión integral de atención	guía base de cuidado usual	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	serio c	serio g	no es serio	ninguno	209	217	-	Rate Ratio <b>1.25 más alto.</b> (1.05 más alto. a 1.48 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	NO ES IMPORTANTE
Cambios en el conocimiento relacionado con EPOC (seguimiento: 12 meses; evaluado con: Cuestionario de 15 ítems relacionado al uso de medicamentos, manejo de la disnea y la exacerbación)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	serio c	serio h	no es serio	ninguno	101	108	-	MD <b>0.11 más alto.</b> (0.44 menor a 0.66 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE k
Estado general de Salud (seguimiento: 12 meses; evaluado con: Form-12 corta)												
1	ensayos aleatorios a	no es serio b	serio c	serio i	no es serio	ninguno	101	108	-	MD <b>0.31 más alto.</b> (2.77 menor a 3.39 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE k

**CI:** Intervalo de confianza; **HR:** Razón de riesgos instantáneos; **MD:** Diferencia medias

a. Multicéntricos

b. El estudio presenta riesgo poco claro en la ocultación de la asignación y de datos incompletos (no sustentaron las pérdidas)

c. Los pacientes los reclutaron en 20 hospitales de los cuales no describen las diferencias de la población.

d. El HR reportado con su respectivo IC abarca el 1

e. Debido a esto, es posible la alta mortalidad por la cual debieron detener el estudio

f. El IC abarca el 1 del desenlace en EPOC

g. No especifica si es una recomendación de la guía de practica clínica

h. Debido a que incluyeron a la mitad de los pacientes, no realiza la explicación

i. Este resultado no se describe que sea directamente de las recomendaciones de las guías

j. El estudio fue detenido por la alta cantidad inexplicable de mortalidad en el grupo de intervención. El HR reportado son los correspondientes a los de EPOC hasta los 12 meses

k. La diferencia de media fue realizada mediante RevMan 5.3 con los datos del estudio

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 6-2-17

**Pregunta:** Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + intervención en el comportamiento + folleto comparado con Folleto educacional de la guía para Pacientes adultos con osteoartritis moderada

**Bibliografía:** Brosseau 2012

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + intervención en el comportamiento + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Adherencia al programa de caminata (seguimiento: 12 meses; evaluado con: nº de sesiones de caminatas asistidas/con el numero prescriptas. Grupo control fue medido con un diario)												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	no es serio	ninguno	69	73	-	MD <b>0.04 menor</b> (0.19 menor a 0.1 más alto.)	⊕⊕⊕○ MODERADO	IMPORTANTE g
Reducción de la tasa de deserción (seguimiento: 18 meses)												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	serio b	ninguno	28/69 (40.6%)	38/73 (52.1%)	RR <b>0.78</b> (0.54 a 1.12)	<b>115 menos por 1.000</b> (de 62 más a 239 menos)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE h
Cambio comportamiento para mejorar autoeficacia (seguimiento: 18 meses; evaluado con: Cuestionario de Stanford para enfermedades crónicas)												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	serio c	ninguno	41	36	-	MD <b>0.05 más alto.</b> (0.41 menor a 0.5 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE i

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + intervención en el comportamiento + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Morbilidad (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	serio c	ninguno	42	36	-	MD <b>0.38 más alto.</b> (0.09 menor a 0.85 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE j
Síntomas (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	muy serio c,d	ninguno	42	35	-	MD <b>0.24 más alto.</b> (0.74 menor a 1.23 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE k
Caminar y doblarse (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	muy serio c, d	ninguno	42	36	-	MD <b>0.99 más alto.</b> (0.01 menor a 2 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE l
Dolor artritis (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + intervención en el comportamiento + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	serio e	muy serio c, d	ninguno	42	35	-	MD <b>0.24 más alto.</b> (0.74 menor a 1.23 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE k
Auto-cuidado (seguimiento: 12 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	serio c	ninguno	44	41	-	MD <b>0.06 menor</b> (0.18 menor a 0.05 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE m
Funcionamiento físico (seguimiento: 18 meses; evaluado con: SF-36 formato corto)												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	muy serio c, d, f	ninguno	42	36	-	MD <b>12.44 menor</b> (22.5 menor a 2.36 menor)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE n
Índice de salud Mental (seguimiento: 18 meses; evaluado con: SF- 36 Formato Corto)												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	muy serio c, d, f	ninguno	42	36	-	MD <b>1.92 menor</b> (8.73 menor a 4.88 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE o

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + intervención en el comportamiento + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Estado Funcional (seguimiento: 18 meses; evaluado con: WOMAC)												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	no es serio	muy serio c, d, f	ninguno	42	35	-	MD 4.68 más alto. (2.79 menor a 12.15 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE p

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media; **RR:** Razón de riesgo

- Presenta un riesgo alto debido a datos incompletos que no coincide con los cálculos realizados
- El IC para el Risk Ratio calculado con los datos, cruza por el 1
- Incluye a la mitad de los pacientes en el seguimiento a las 12 y 18 meses
- El IC para el cálculo de diferencia de medias cruza el 0
- Los resultados son los mismos que el desenlace de Síntomas, no realizan la explicación de estos resultados
- IC muy amplio
- La diferencia de medias se calculó con los datos del estudio. El dato en la tabla fue el seguimiento a los 12 meses, el de los tres meses fue 0.15 (IC 0.03-0.27)
- El RR fue calculado con los datos del estudio en RevMan 5.3. El dato reportado fue el seguimiento a los 18 meses, el de los 12 meses fue 0.82 (IC 0.57-1.19)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 0.05 (IC -0.29, 0.38)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 0.05 (IC -0.37, 0.47)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 0.30 (IC -0.69, 1.29)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 0.61 (IC -0.40, 1.61)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. Solo se observa la de los 12 meses debido a los 18 el dato fue cero
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de -0.04 (IC -10.02, 9.93)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de -1.37 (IC -7.58, 4.85)
- La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 1.28 (IC -5.61, 8.17)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + folleto comparado con Folleto educacional de la guía para Pacientes adultos con osteoartritis moderada

**Bibliografía:** Brosseau 2012

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Adherencia al programa de caminata (seguimiento: 12 meses; evaluado con: nº de sesiones de caminatas asistidas/con el numero prescriptas. Grupo control fue medido con un diario)												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	no es serio	ninguno	79	73	-	MD <b>0.03 menor</b> (0.17 menor a 0.11 más alto.)	⊕⊕○○ BAJA	IMPORTANTE g
Reducción de la tasa de deserción (seguimiento: 18 meses)												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	serio c	ninguno	35/79 (44.3%)	38/73 (52.1%)	RR <b>0.85</b> (0.61 a 1.19)	<b>78 menos por 1.000</b> (de 99 más a 203 menos)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE h
Cambio comportamiento para mejorar autoeficacia (seguimiento: 18 meses; evaluado con: Cuestionario de Stanford para enfermedades crónicas)												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	serio d	ninguno	44	36	-	MD <b>0.28 menor</b> (0.74 menor a 0.19 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE i
Morbilidad (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	serio d	ninguno	44	36	-	MD <b>0.33 más alto.</b> (0.13 menor a 0.79 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE j
Síntomas (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	muy serio d, e	ninguno	44	35	-	MD <b>0.04 más alto.</b> (1 menor a 1.08 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE k
Caminar y doblarse (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	muy serio d, e	ninguno	44	36	-	MD <b>0.96 más alto.</b> (0.01 menor a 1.94 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE l
Dolor artritis (seguimiento: 18 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	no es serio	serio	muy serio d, e	ninguno	44	35	-	MD <b>1 más alto.</b> (0.03 menor a 2.03 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE k

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Programa aeróbico de caminar basado en la comunidad + folleto	Folleto educacional de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Auto-cuidado (seguimiento: 12 meses; evaluado con: The Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS2))												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	serio d	ninguno	44	41	-	MD <b>0.02 más alto.</b> (0.16 menor a 0.21 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE m
Funcionamiento físico (seguimiento: 18 meses; evaluado con: SF-36 formato corto)												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	muy serio d, e, f	ninguno	44	36	-	MD <b>7.54 menor</b> (16.53 menor a 1.45 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE n
Índice de salud Mental (seguimiento: 18 meses; evaluado con: SF- 36 Formato Corto)												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	muy serio d, e, f	ninguno	44	36	-	MD <b>2.22 menor</b> (9.4 menor a 4.97 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE o
Estado Funcional (seguimiento: 18 meses; evaluado con: WOMAC)												
1	ensayos aleatorios	serio a	serio b	no es serio	muy serio d, e, f	ninguno	43	35	-	MD <b>0.6 menor</b> (7.53 menor a 6.33 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE p

CI: Intervalo de confianza; MD: Diferencia media; RR: Razón de riesgo

- a. Presenta un riesgo alto debido a datos incompletos que no coincide con los cálculos realizados
- b. Heterogeneidad en los grupos por severidad de la enfermedad: El grupo del programa aeróbico de caminar basado en la comunidad tenía un menor porcentaje de afectación de ambas rodillas en comparación con el grupo de auto-control
- c. El IC para el Risk Ratio calculado con los datos, cruza por el 1
- d. Incluye a la mitad de los pacientes en el seguimiento a las 12 y 18 meses
- e. El IC para el cálculo de diferencia de medias cruza el 0
- f. IC muy amplio
- g. La diferencia de medias se calculó con los datos del estudio. El dato en la tabla fue el seguimiento a los 12 meses, el de los tres meses fue 0.12 (IC 0.00-0.23)
- h. El RR fue calculado con los datos del estudio en RevMan 5.3. El dato reportado fue el seguimiento a los 18 meses, el de los 12 meses fue 0.87 (IC 0.62-1.23)
- i. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de -0.33 (IC -0.67, 0.02)
- j. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de -0.11 (IC -0.56, 0.34)
- k. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 0.00 (IC -1.01, 1.01)
- l. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 0.28 (IC -0.73, 1.28)
- m. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. Solo se observa la de los 12 meses debido a los 18 el dato fue cero
- n. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de 1.92 (IC -7.89, 11.72)
- o. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de -3 (IC -9.47, 3.46)
- p. La diferencia de medias fue calculada en RevMan 5.3 con los datos del estudio. La MD a los 12 meses fue de -1.27 (IC -8.10, 5.56)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Ayudas de decisión computarizadas comparado con Guía basada en la evidencia en papel para pacientes con fibrilación auricular toma de decisión de tomar warfarina o aspirina

**Bibliografía:** Thomson RG 2007

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Ayudas de decisión computarizadas	Guía basada en la evidencia en papel	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Conflicto decisión (seguimiento: 3 meses; evaluado con: Cuestionario)												
1	estudios observacionales a	muy serio b	no es serio	no es serio	no es serio	ninguno	69	67	-	MD <b>0.15 menor</b> (0.37 menor a 0.06 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE d
Inicio de tratamiento con warfarina (seguimiento: 3 meses; evaluado con: Proporción)												
1	estudios observacionales a	muy serio b	no es serio	no es serio	no es serio	ninguno	39/53 (73.6%)	50/56 (89.3%)	RR <b>0.82</b> (0.68 a 0.99)	<b>161 menos por 1.000</b> (de 9 menos a 286 menos)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE
Conocimiento (seguimiento: 3 meses; evaluado con: Cuestionario)												
1	estudios observacionales a	muy serio b	no es serio	no es serio	serio c	ninguno	Although the overall knowledge scores improved slightly post-clinic, by three months they were back to pre-clinic levels; there was no difference between decision aid and guidelines groups at any point			⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE	
Ansiedad (evaluado con: Cuestionario)												

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Ayudas de decisión computarizadas	Guía basada en la evidencia en papel	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
1	estudios observacionales a	muy serio b	no es serio	no es serio	no es serio	ninguno	53	56	-	MD <b>4.57 Menos.</b> (6.3 menos a 2.84 menos.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE e

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media; **RR:** Razón de riesgo

a. Antes y después

b. Debido principalmente al tipo de estudio, cegamiento incompleto ya que solo se hizo al personal y no a los participantes, desequilibrio de datos incompletos en los grupos, y alto sesgo de notificación selectiva de los resultados

c. No se observan los datos para llegar a la descripción que realizan narrativamente

d. La diferencia de medias fue reportado por el estudio. La MD post-intervención fue de -0.18 (IC 95% -.034 a -0.01)

e. No se evidencia que esta reducción varié entre los dos grupos (F1,95=0.001; p=0.98)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Talleres multidisciplinario de las GPC para pacientes educadores comparado con Talleres de los pacientes educadores a pacientes de la comunidad para pacientes con artritis reumatoide u osteoartritis

**Bibliografía:** Brosseau L 2012a

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Talleres multidisciplinario de las GPC para pacientes educadores	Talleres de los pacientes educadores a pacientes de la comunidad	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Adquisición de nuevo conocimiento (evaluado con: Cuestionario)												
1	estudios observacionales a	muy serio b	serio c	no es serio	muy serio d	ninguno	23	26	-	MD <b>0.32 menor</b> (1.96 menor a 1.32 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE g h
Intención y uso de las estrategias de autogestión (evaluado con: Acuerdo en el uso después de la intervención)												
1	estudios observacionales a	muy serio b	serio c	serio e	muy serio f	ninguno	Para este desenlace se realizó unificando los dos grupos encontrando: Almost all (98%) patients with OA intended to use at least one self-management strategy and more than half (68%) intended to use three or more strategies. Similarly, patients with RA intended to use at least one strategy and 76% intended to use three or more strategies			⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE	

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media

a. Antes y Después

b. Debido principalmente al tipo de estudio, presenta alto sesgo en la generación aleatoria, ocultamiento y cegamiento, se observan datos faltantes

c. Debido a que incluyen dos grandes grupos de poblaciones pacientes con artritis reumatoide u osteoartritis. Además, no se observa la severidad o comorbilidades, con llevando a posible heterogeneidad de la población

d. Muy pocos pacientes

e. Debido a que se realiza solo con el acuerdo al uso de la estrategia después de la intervención.

f. Muy pocos pacientes y no hay datos suficientes del desenlace, además de unir los dos grupos para dar la conclusión

g. Dentro del estudio se evidencia otro grupo de medios de prensa, pero no se observa comparación con los demás grupos

h. Las diferencias de antes y después presento t (38) = 7.45, p < 0.01

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Diseminación tradicional comparado con Diseminación a través de medios sociales de las GPC de medicina complementaria y alternativa para pacientes con esclerosis múltiple

**Bibliografía:** Narayanaswami P 2015

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Diseminación tradicional	Diseminación a través de medios sociales de las GPC de medicina complementaria y alternativa	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Conocimiento de las recomendaciones (evaluado con: Cuestionario de 6 preguntas)												
1	estudios observacionales a	muy serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno			<b>Cambio en la proporción (%) -4</b> (-14 a 6)	-	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE e
Cambios de la proporción del reporte de intención de discusión de las guías												
1	estudios observacionales a	muy serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno			<b>% de cambio -8</b> (-22 a 8)	-	⊕○○○ MUY BAJA	NO ES IMPORTANTE e

**IC:** Intervalo de confianza

a. Series de Tiempos

b. Principalmente por el tipo de estudio, y presenta alto riesgo en cada uno de los ítems evaluados.

c. No se observa una descripción clara de los pacientes, ni las características demográficas, severidad de la enfermedad ni comorbilidades

d. IC muy amplio y cruza por el 1 y alta pérdidas de datos

e. No se observa el dato exacto de las proporciones de pacientes en cada grupo, solamente el dato del cambio de porcentaje

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** DS + recurso web comparado con Diseminación estándar de la guía para pacientes sometidos a cirugía de ortopedia o ginecología

**Bibliografía:** Rycroft-Malone J 2012

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	DS + recurso web	Diseminación estándar de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Tiempo promedio en horas de ayuno de líquidos (seguimiento: 6 meses; evaluado con: calculado en cuatro tiempos de pre-post intervención)												
1	estudios observacionales a	serio b	muy serio c	no es serio	serio d	ninguno	6	7	-	MD <b>0.72 menor</b> (2.67 menor a 1.23 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE e
Tiempo promedio en horas de ayuno de alimentos (seguimiento: 6 meses; evaluado con: Calculado con los 4 tiempos de pre-post intervención)												
1	estudios observacionales a	serio b	muy serio c	no es serio	serio d	ninguno	6	7	-	MD <b>0.1 más alto.</b> (1.11 menor a 1.31 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE f

**IC:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media

a. Estudio cluster de series de tiempos

b. No se realiza cegamiento a los participantes ni investigadores, es poco clara la notificación selectiva de los resultados

c. No se realiza una adecuada descripción de la población, y al ser una población tan heterogénea debido a que eran de distintos servicios y de 19 centros

d. IC calculado cruza por el 0

e. Las diferencias de medias entre los grupos cluster fue calculado en RevMan 5.3, el reportado en la tabla es a la comparación de los dos grupos post-intervención. La MD pre-intervención fue: -1.27 (IC 95% -3.45 a 0.91)

f. Las diferencias de medias entre los grupos cluster fue calculado en RevMan 5.3, el reportado en la tabla es a la comparación de los dos grupos post-intervención. La MD pre-intervención fue: -0.40 (IC 95% -1.38 a 0.58)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** DS + plan- do-study-act comparado con Diseminación estándar de la guía para pacientes sometidos a cirugía de ortopedia o ginecología

**Bibliografía:** Rycroft-Malone J 2012

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	DS + plan-do-study-act	Diseminación estándar de la guía	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Tiempo promedio en horas de ayuno de líquidos (seguimiento: 6 meses; evaluado con: calculado en cuatro tiempos de pre-post intervención)												
1	estudios observacionales a	serio b	muy serio c	no es serio	muy serio d	ninguno	6	7	-	MD <b>0.07 menor</b> (2.16 menor a 2.02 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE e
Tiempo promedio en horas de ayuno de alimentos (seguimiento: 6 meses; evaluado con: Calculado con los 4 tiempos de pre-post intervención)												
1	estudios observacionales a	serio b	muy serio c	no es serio	muy serio d	ninguno	6	7	-	MD <b>0.4 menor</b> (1.49 menor a 0.69 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE f

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media

a. Estudio cluster de series de tiempos

b. No se realiza cegamiento a los participantes ni investigadores, es poco clara la notificación selectiva de los resultados

c. No se realiza una adecuada descripción de la población, y al ser una población tan heterogénea debido a que eran de distintos servicios y de 19 centros

d. IC calculado cruza por el 0 y amplios

e. Las diferencias de medias entre los grupos cluster fue calculado en RevMan 5.3, el reportado en la tabla es a la comparación de los dos grupos post-intervención. La MD pre-intervención fue: -0.24 (IC 95% -2.55 a 2.07)

f. Las diferencias de medias entre los grupos cluster fue calculado en RevMan 5.3, el reportado en la tabla es a la comparación de los dos grupos post-intervención. La MD pre-intervención fue: -0.20 (IC 95% -0.98 a 0.58)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Médicos y pacientes intervenidos con estrategias de educación (MD-I/Pt-I) comparado con cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C) para pacientes hipertensos

**Bibliografía:** Svetkey LP 2009

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Médicos y pacientes intervenidos con estrategias de educación (MD-I/Pt-I)	cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C)	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Cambios de la medición de presión sistólica (seguimiento: 6 meses; evaluado con: cambios en mmHg)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	132	132	-	MD 3 menor. (6.08 menor a 0.08 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE f
Proporción presión arterial (seguimiento: 18 meses; evaluado con: % de pacientes con el cumplimiento de la recomendación de las GPC)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	73/128 (53%)	77/122 (63.1%)	RR 0.90 (0.74 a 1.11)	63 menos por 1.000 (de 69 más a 164 menos)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE g
Cambios en la actividad física con la media de cambio entre la línea de base y el seguimiento (seguimiento: 18 meses; evaluado con: triaxial accelerometer, minutos/semana)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	muy serio d, e	ninguno	128	122	-	MD 12.3 más alto. (20 menor a 44 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE h

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Médicos y pacientes intervenidos con estrategias de educación (MD-I/Pt-I)	cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C)	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Cambio del peso en libras con la media de cambio entre la línea de base y el seguimiento (seguimiento: 18 meses)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	128	122	-	MD 1.7 menor (4.42 menor a 1.02 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE i

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media; **RR:** Razón de riesgo

a. Diseño factorial 2\*2

b. el sesgo de ocultamiento es poco claro, no se realiza cegamiento de los pacientes ni de los médicos, de observan datos faltantes desequilibrados

c. No se observa la descripción del entorno y localización de los pacientes. Además de que en la parte de IMC se observa que el grupo control presenta un IMC promedio adecuado a diferencia de los demás grupos que presentan sobre peso y obesidad grado 1

d. El IC calculado cruza 0

e. IC es muy amplio

f. the main effect of Pt-I was a net reduction of 2.6mmHg (CI -4.4 to -0.7, p=.01)

g. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 1.12 (IC 95% 0.92 a 1.36)

h. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 44 (IC 95% 13 a 75)

i. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue -6.7 (IC 95% -8.82 a -4.58)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Médicos con cuidado usual y pacientes intervenidos con estrategias de educación (MD-C/Pt-I) comparado con cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C) para pacientes hipertensos

**Bibliografía:** Svetkey LP 2009

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Médicos con cuidado usual y pacientes intervenidos con estrategias de educación (MD-C/Pt-I)	cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C)	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Cambios de la medición de presión sistólica (seguimiento: 6 meses; evaluado con: cambios en mmHg)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	muy serio d, e, f	ninguno	124	132	-	MD <b>0.4 menor.</b> (3.45 menor a 2.65 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE
Proporción presión arterial (seguimiento: 18 meses; evaluado con: % de pacientes con el cumplimiento de la recomendación de las GPC)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	muy serio d, f	ninguno	74/124 (59.7%)	77/122 (63.1%)	RR <b>0.95</b> (0.78 a 1.15)	<b>32 menos por 1.000</b> (de 95 más a 139 menos)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE g
Cambios en la actividad física con la media de cambio entre la línea de base y el seguimiento (seguimiento: 18 meses; evaluado con: triaxial accelerometer, minutos/semana)												

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Médicos con cuidado usual y pacientes intervenidos con estrategias de educación (MD-C/Pt-I)	cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C)	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	muy serio d,e,f	ninguno	124	122	-	MD <b>8.5 menor</b> (44.07 menor a 27.07 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE h
Cambio del peso en libras con la media de cambio entre la línea de base y el seguimiento (seguimiento: 18 meses)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	124	122	-	MD <b>0.5 menor</b> (3.52 menor a 2.52 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE i

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media; **RR:** Razón de riesgo

a. Diseño factorial 2\*2

b. el sesgo de ocultamiento es poco claro, no se realiza cegamiento de los pacientes ni de los médicos, de observan datos faltantes desequilibrados

c. No se observa la descripción del entorno y localización de los pacientes. Además de que en la parte de IMC se observa que el grupo control presenta un IMC promedio adecuado a diferencia de los demás grupos que presentan sobre peso y obesidad grado 1

d. El IC calculado cruza 0

e. IC es muy amplio

f. Las pérdidas desequilibradas entre los grupos

g. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 1.19 (IC 95% 0.98 a 1.44)

h. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 21.9 (IC 95% -5.72 a 49.5)

i. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue -4.9 (IC 95% -6 a -3.8)

**Autor(es):** Nathaly Garzón

**Fecha:** 13-2-17

**Pregunta:** Médicos con estrategias de educación y pacientes con material impreso (MD-I/Pt-C) comparado con cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C) para pacientes hipertensos

**Bibliografía:** Svetkey LP 2009

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Médicos con estrategias de educación y pacientes con material impreso (MD-I/Pt-C)	cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C)	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Cambios de la medición de presión sistólica (seguimiento: 6 meses; evaluado con: cambios en mmHg)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	137	132	-	MD 1.4 más alto (1.58 menor a 4.38 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE
Proporción presión arterial (seguimiento: 18 meses; evaluado con: % de pacientes con el cumplimiento de la recomendación de las GPC)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	76/134 (56.7%)	77/122 (63.1%)	RR 0.90 (0.74 a 1.10)	63 menos por 1.000 (de 63 más a 164 menos)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE g
Cambios en la actividad física con la media de cambio entre la línea de base y el seguimiento (seguimiento: 18 meses; evaluado con: triaxial accelerometer, minutos/semana)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	muy serio d, e, f	ninguno	134	122	-	MD 18 más alto. (12.46 menor a 48.46 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE h

Evaluación de la calidad							Nº de pacientes		Efecto		Calidad	Importancia
Nº de estudios	Diseño de estudio	Riesgo de sesgo	Inconsistencia	Evidencia indirecta	Imprecisión	Otras consideraciones	Médicos con estrategias de educación y pacientes con material impreso (MD-I/Pt-C)	cuidado usual del médico y material impreso para pacientes (MD-C/Pt-C)	Relativo (95% CI)	Absoluto (95% CI)		
Cambio del peso en libras con la media de cambio entre la línea de base y el seguimiento (seguimiento: 18 meses)												
1	ensayos aleatorios a	serio b	serio c	no es serio	serio d	ninguno	134	122	-	MD 1.7 más alto. (1.41 menor a 4.81 más alto.)	⊕○○○ MUY BAJA	IMPORTANTE i

**CI:** Intervalo de confianza; **MD:** Diferencia media; **RR:** Razón de riesgo

a. Diseño factorial 2\*2

b. el sesgo de ocultamiento es poco claro, no se realiza cegamiento de los pacientes ni de los médicos, de observan datos faltantes desequilibrados

c. No se observa la descripción del entorno y localización de los pacientes. Además de que en la parte de IMC se observa que el grupo control presenta un IMC promedio adecuado a diferencia de los demás grupos que presentan sobre peso y obesidad grado 1

d. El IC calculado cruza 0

e. IC es muy amplio

f. Las pérdidas desequilibradas entre los grupos

g. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 0.87 (IC 95% 0.70 a 1.09)

h. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 34.2 (IC 95% -19.84 a 88)

i. El RR fue calculado en RevMan 5.3. El dato de la tabla es el seguimiento a los 18 meses. El RR de los 6 meses fue 1 (IC 95% -1.16 a 3.16)

ARTÍCULO ORIGINAL

## Variabilidad genética de *Aedes aegypti* en el departamento de Sucre, Colombia, mediante el análisis de la secuencia de nucleótidos del gen mitocondrial *ND4*

María Claudia Atencia, María de Jesús Pérez, Sandy Milena Caldera, María Cristina Jaramillo, Eduar Elías Bejarano

Grupo de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

**Introducción.** *Aedes aegypti* es la especie de mosquito de mayor relevancia en América por transmitir los virus del dengue, del Zika, del chikungunya y de la fiebre amarilla. Tanto factores ecológicos como el control químico, pueden influir en la composición genética de las poblaciones de *Ae. aegypti*, por lo cual es necesaria su caracterización.

**Objetivo.** Determinar la variabilidad genética de las poblaciones de *Ae. aegypti* en cuatro municipios del departamento de Sucre, Colombia.

**Materiales y métodos.** Larvas de *Ae. aegypti*, recolectadas en los municipios de Sincelejo, Sampués, Corozal y Guaranda del departamento de Sucre, fueron criadas en laboratorio hasta el estado adulto. Como marcador genético, se utilizó un segmento del gen mitocondrial *ND4*, que codifica para la subunidad 4 de la enzima NADH-deshidrogenasa. El análisis genético incluyó la estimación de parámetros de diversidad de nucleótidos, haplotipos, de estructura genética y de flujo de genes.

**Resultados.** Se obtuvieron 108 secuencias parciales de 357 nucleótidos y cuatro haplotipos de nucleótidos del gen *ND4* de *Ae. aegypti*. Se encontró una diferenciación genética significativamente alta entre las poblaciones de Sampués y Guaranda mediante el índice de fijación ( $F_{ST}=0,59467$ ), las de Sincelejo y Sampués ( $F_{ST}=0,25637$ ), y las de Corozal y Guaranda ( $F_{ST}=0,22237$ ). Se evidenció un gran flujo de genes ( $Nm=\infty$ ) entre las poblaciones de Sincelejo y Corozal.

**Conclusión.** Existen diferencias genéticas entre las poblaciones del mosquito *Ae. aegypti* de los municipios del departamento de Sucre. Se registra la presencia de un nuevo haplotipo del gen mitocondrial *ND4* de *Ae. aegypti* en Colombia, el cual fue detectado en el municipio de Sincelejo.

**Palabras clave:** Culicidae; *Aedes*/genética; ADN mitocondrial; dengue; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3728>

### Genetic variability of *Aedes aegypti* in the department of Sucre, Colombia, by analysis of the nucleotide sequence of the mitochondrial *ND4* gene

**Introduction.** *Aedes aegypti* is the most important mosquito species in America for the transmission of viruses of dengue, Zika, Chikungunya and yellow fever. Ecological factors as well as chemical controls can affect the genetic composition of *Ae. aegypti* populations, which is why its genetic characterization is necessary.

**Objective.** To determine the genetic variability of *Ae. aegypti* populations in four municipalities of Sucre department, Colombia.

**Materials and methods.** Larvae of *Ae. aegypti*, collected in the municipalities of Sincelejo, Sampués, Corozal and Guaranda, Sucre department, were reared under laboratory conditions to adult stage. A segment of the mitochondrial *ND4* gene which codes for the subunit 4 of the enzyme NADH-dehydrogenase was used as genetic marker. The genetic analysis included the estimation of parameters of nucleotide and haplotype diversity, genetic structure and gene flow.

**Results.** One hundred and eight partial sequences of 357 nucleotides and four nucleotide haplotypes of the *ND4* gene of *Ae. aegypti* were obtained. A significantly high genetic differentiation was found between the Sampués and Guaranda populations ( $F_{ST}=0.59467$ ), Sincelejo and Sampués ( $F_{ST}=0.25637$ ), and Corozal and Guaranda ( $F_{ST}=0.22237$ ). A high gene flow ( $Nm=\infty$ ) was observed among the populations of Sincelejo and Corozal.

#### Contribución de los autores:

María Claudia Atencia: montaje de las pruebas, análisis e interpretación de los datos y redacción del manuscrito

María de Jesús Pérez: montaje de las pruebas y análisis e interpretación de los datos

María Cristina Jaramillo y Sandy Milena Caldera: concepto y diseño del estudio, coordinación de la investigación y del trabajo de campo

Eduar Elías Bejarano: concepto y diseño del estudio, coordinación de la investigación y redacción del manuscrito

**Conclusion.** There are genetic differences between the *Ae. aegypti* populations from the municipalities of Sucre department. The presence of a new haplotype of the mitochondrial *ND4* gene of *Ae. aegypti* in Colombia was recorded, detected in the municipality of Sincelejo.

**Key words:** Culicidae; *Aedes*/genetics; DNA mitochondrial; dengue; Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3728>

*Aedes aegypti* es el principal vector de arbovirus causantes de las enfermedades más comunes en las áreas tropicales y subtropicales del mundo (1). Las poblaciones de este vector varían en su capacidad para infectar, propagar y transmitir *Flavivirus* como el del dengue (DENV1-4), el Zika (ZIKV), el chikungunya (CHYKV) y la fiebre amarilla (YFV) (2-4). La transmisión biológica de arbovirus por mosquitos está asociada tanto a factores ecológicos como a factores intrínsecos relacionados con el acervo genético del vector (variantes genéticas), la propensión a la infección y la permisividad para el desarrollo del patógeno (5-8).

Para el análisis de la variabilidad genética de *Ae. aegypti*, se han utilizado múltiples marcadores y técnicas moleculares, como el análisis de polimorfismos de la longitud de los fragmentos amplificadas (*Amplified Fragment-Length Polymorphisms*, AFLP) (9), los polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP) (10), la amplificación aleatoria de ADN polimórfico (*Random Amplification of Polymorphic DNA*, RAPD) (11-13), el polimorfismo de nucleótido único (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP) (14), las isoenzimas (15), el polimorfismo de conformación de cadena simple (*Single-Stranded Conformation Polymorphism*, SSCP) y los espaciadores transcritos internos (*Internal Transcribed Spacer*, ITS) (16), los microsatélites (17,18) y el marcador nuclear EPIC (*Exon-Primed Intron-Crossing*) (19).

Los genes mitocondriales han demostrado ser una herramienta útil para la diferenciación genética y el estudio del flujo génico en varios organismos (20). Entre los principales marcadores mitocondriales usados para el estudio de poblaciones de *Ae. aegypti*, están el gen mitocondrial *ND4* (NADH dehydrogenase subunit 4) (11,20-25), el gen mitocondrial *ND5* (NADH dehydrogenase subunit 5) (26,27) y el gen *COX1* (*cytochrome C oxidase subunit I*) (28-30).

El gen *ND4*, que codifica para la subunidad 4 de la enzima NADH deshidrogenasa, ha sido ampliamente usado como marcador para estudios de genética de poblaciones y permite inferir la historia evolutiva de las poblaciones del vector (11,20,22,24,25); además, la disponibilidad en los bancos de datos (GenBank, BOLD y EMBL) de secuencias nucleotídicas homólogas de poblaciones del mosquito de distintos países, facilita este tipo de estudios.

En el departamento de Sucre existe información limitada sobre la composición genética de *Ae. aegypti*, el flujo de genes y las relaciones evolutivas entre las poblaciones del vector; esta información es necesaria para comprender la dinámica poblacional, la distribución del vector en la región y la epidemiología de la enfermedad. A la fecha, solo se ha caracterizado la variabilidad genética del mosquito en dos municipios de Sucre (25).

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la variabilidad y la estructura genética de las poblaciones de *Ae. aegypti* en cuatro municipios del departamento de Sucre, mediante el análisis de la secuencia de nucleótidos del gen mitocondrial *ND4*.

## Materiales y métodos

### Área de estudio y recolección de larvas de *Aedes aegypti*

El estudio se llevó a cabo en cuatro municipios del departamento de Sucre, en la región Caribe de Colombia, que fueron Sincelejo (julio a agosto de 2011 y abril a mayo de 2013), Sampués (abril de 2013), Corozal (mayo de 2013) y Guaranda (abril de 2012) (figura 1). Las localidades seleccionadas en cada municipio y sus respectivas coordenadas geográficas, se describen en el cuadro 1. La escogencia de estas localidades se basó en los registros epidemiológicos sobre la presencia del vector, de la Secretaría de Salud de Sucre (datos sin publicar).

En cada localidad se hizo una búsqueda activa de larvas de *Ae. aegypti*, en la que se inspeccionaron los depósitos de almacenamiento de agua encontrados en el interior y alrededor de las viviendas seleccionadas; la distancia entre cada vivienda fue

Correspondencia:

María Claudia Atencia, Universidad de Sucre, Carrera 14 N° 16B-32, Sincelejo, Colombia

Teléfono: (575) 282 0830 fax: (575) 282 1240

mariclau\_1112@hotmail.com

Recibido: 14/12/16; aceptado: 24/10/17

de 50 metros, aproximadamente. Se recolectaron larvas de tercer y cuarto estadio de *Ae. aegypti*, las cuales se transportaron al Laboratorio de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Sucre, donde se criaron bajo condiciones estándares hasta alcanzar el estado adulto. La identificación taxonómica se llevó a cabo con las claves de Rueda (31).

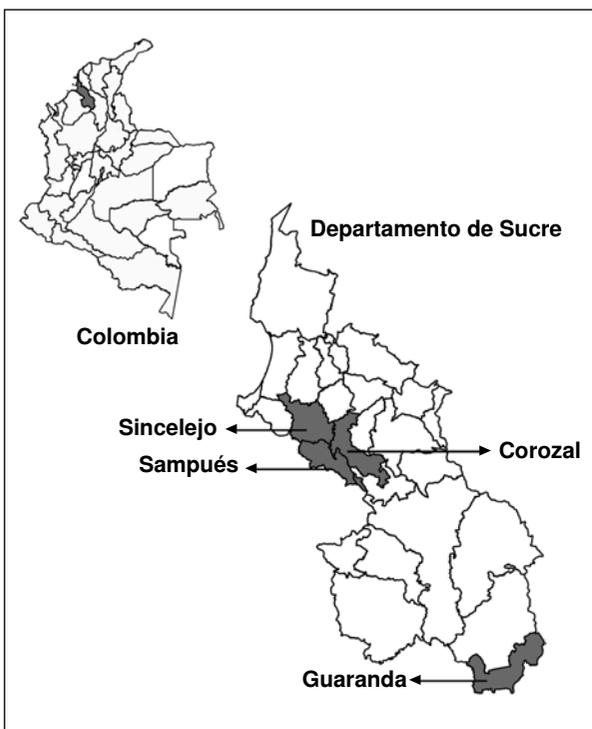
**Extracción de ADN, amplificación y secuenciación del gen ND4**

Se hizo la extracción del ADN total a partir de hembras adultas de *Ae. aegypti*, según el protocolo descrito por Caldera, *et al.* (25), pero modificando el tiempo de incubación con proteinasa K, el cual fue ajustado a cinco horas a una temperatura de 65 °C (32). El ADN obtenido se cuantificó en el espectrofotómetro Nanodrop 2000™ de Thermo Scientific.

Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se utilizaron los cebadores ND4F 5'-ATTGCCTAAGGCTCATGTAG-3' y ND4R 5'-TCGGCTTCCTAGTCGTTTCAT-3' descritos por Bracco, *et al.* (22), los cuales flanquean una región de 361 pb, aproximadamente, del gen mitocondrial ND4 de *Ae. aegypti*. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 µl, compuesto por MgCl<sub>2</sub> 5 mM, DNTP 0,2 mM, cebadores 0,4 µM, solución tampón de PCR 1X, dos unidades de *Taq* polimerasa y 1 µl de la solución con el ADN, que contenía aproximadamente 100 ng/µl. En cada serie de PCR, se incluyó un control negativo constituido por agua estéril en lugar de ADN.

El perfil térmico consistió en una etapa inicial de desnaturalización a 94 °C durante cinco minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 60 segundos, alineamiento a 56 °C durante 30 segundos y extensión a 72 °C por 60 segundos, y una etapa final de extensión a 72 °C durante siete minutos.

Los productos de PCR fueron separados por electroforesis en gel de agarosa al 1 % (peso/volumen), desarrollada en solución tampón TBE 0,5X a 90 V



**Figura 1.** Mapa del departamento Sucre en el que se indica la ubicación de los cuatro municipios en los cuales se desarrolló el estudio.

**Cuadro 1.** Número absoluto de adultos de *Aedes aegypti* (N) analizados en cada localidad y municipio

Municipio	Localidad	n	N	Coordenadas geográficas
Sincelejo	Las Mercedes	5	43	9° 17' 21.66"N - 75° 23' 34.79"O
	Florencia	6		9° 18' 27.48"N - 75° 23' 1.65"O
	Las Delicias	4		9° 17' 5.00" N - 75° 24' 3.63"O
	Puerta Roja	4		9° 18' 46.32"N - 75° 23' 15.67"O
	El Cortijo	6		9° 16' 53.06"N - 75° 24' 28.36"O
	Botero	12		9° 18' 55.65"N - 75° 24' 8.30"O
	Divino Salvador	4		9° 19' 10.75"N - 75°24' 47.89"O
	Sevilla	1		9° 18' 30.44"N - 75° 24' 18.53"O
	20 de Julio	1		9° 18' 17.75"N - 75° 24' 7.71"O
	Sampedes	Doce de Octubre		8
Balcones de Río		13	9° 11' 12.98"N - 75° 22' 45.50"O	
Corozal	Dager Chadid	10	22	9° 18' 30.62"N - 75° 17' 31.50"O
	Cartagena de Indias	12		9° 18' 29.62"N - 75° 17' 42.18"O
Guaranda	San Joaquín	18	22	8° 28' 6.17"N - 75° 32' 17.25"O
	Calle Sexta	4		8° 28' 1.98"N - 75° 32' 13.91"O
	Total	108		108

por 50 minutos. El ADN se tiñó con GelStar™ y se visualizó con luz ultravioleta. Los productos amplificados fueron secuenciados mediante electroforesis capilar en un secuenciador automático, con los mismos cebadores empleados para la PCR.

### Análisis genético

Las secuencias derivadas de los electroforegramas fueron editadas y alineadas con el programa MEGA, versión 5.0 (33). Cada secuencia de consenso fue analizada con el BLASTn (34) para corroborar que correspondía al gen *ND4* de *Ae. aegypti*.

Con el programa DnaSP, versión 5.1.1.8 (35), se determinaron el número de haplotipos, la frecuencia de haplotipos, el número de sitios polimórficos (S), el número promedio de diferencias de nucleótidos (k), la diversidad de haplotipos (DH) y la diversidad de nucleótidos ( $\pi$ ). Asimismo, se calcularon los valores de las pruebas de neutralidad D de Tajima (36), y la D y la F de Fu y Li (37). La genealogía entre los haplotipos fue construida utilizando el programa Network, versión 4.6.1.1 (38) con el algoritmo *median joining* (39). Además, con el programa Arlequin, versión 3.5.1.2 (40), se estimó la estructura genética mediante el índice de fijación ( $F_{ST}$ ), y se calculó el flujo genético ( $Nm$ ), y se hizo un análisis de varianza molecular (AMOVA).

La significación del efecto de las distancias geográficas en la diferenciación genética fue evaluada mediante el test de Mantel (41), el cual utiliza el coeficiente de regresión lineal entre el valor de  $F_{ST}$  ( $1-F_{ST}$ ) (42) y el logaritmo de las distancias geográficas entre cada par poblacional. Las distancias geográficas entre los sitios de captura se obtuvieron a partir del calculador de distancias por coordenadas (disponible en la web). Los resultados del test de Mantel fueron tomados después de 1.000 permutaciones, usando el programa Mantel, versión 1.19 (43).

Las secuencias obtenidas durante esta investigación fueron registradas en el GenBank.

## Resultados

### Secuencias de nucleótidos

Se obtuvieron 108 secuencias de 357 nucleótidos del gen *ND4* de *Ae. aegypti*. El número de mosquitos de cada localidad de los cuales se derivan las secuencias de nucleótidos, se presenta en el cuadro 1. Las secuencias parciales del gen *ND4* de *Ae. aegypti* no mostraron inserciones, deleciones o codones de parada.

El análisis reveló la presencia de cuatro haplotipos mitocondriales denominados H1, H2, H3 y H4, los cuales fueron registrados en el GenBank, bajo los números de acceso KX580042, KX580043, KX580044 y KX580045, respectivamente. En conjunto, los cuatro haplotipos mostraron 343 sitios conservados y 14 sitios polimórficos, entre los cuales 13 sitios fueron parsimoniosamente informativos y uno correspondió a una mutación única.

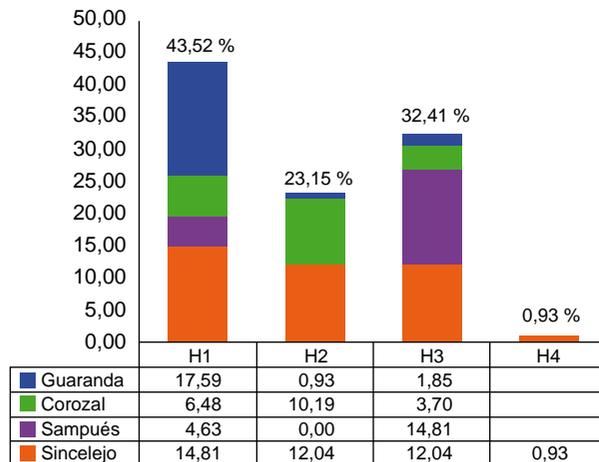
En los sitios polimórficos se encontraron 10 transiciones de tipo T↔C, en las posiciones 15, 18, 21, 72, 123, 141, 189, 234, 276 y 312, tres transiciones de tipo A↔G en las posiciones 111, 216 y 267, y una transversión de tipo T↔A en la posición 270 (cuadro 2).

### Distribución de haplotipos

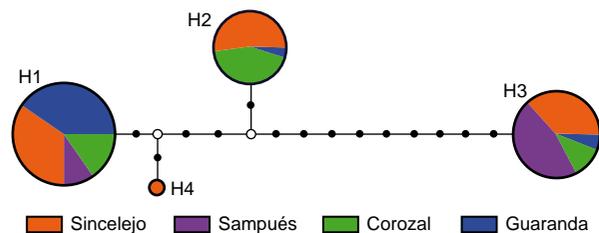
El haplotipo más frecuente fue H1, seguido de H3 y H2. Los haplotipos H1 y H3 se encontraron en todos los municipios estudiados, el H2 se detectó en Sincelejo, Corozal y Guaranda, y el H4 se halló únicamente en el municipio de Sincelejo. La distribución de los haplotipos por municipio y la frecuencia de haplotipos, se muestran en la figura 2. La red de haplotipos inferida mostró a H1 como el haplotipo más antiguo, mientras que los demás haplotipos aparecieron como derivados suyos (figura 3). El haplotipo H3 se segregó de H1 por 12 pasos de mutaciones, en tanto que H2 y H4 se separaron de H1 por cuatro y dos pasos de mutaciones, respectivamente.

**Cuadro 2.** Sitios variables en cuatro haplotipos de nucleótidos, identificados en un segmento de 357 nucleótidos del gen mitocondrial *ND4* de *Aedes aegypti*

	Posiciones													
H	15	18	21	72	111	132	141	189	216	234	267	270	276	312
H1	T	T	T	T	A	C	T	T	A	T	A	T	T	C
H2	.	C	.	.	.	.	.	.	G	.	.	A	.	T
H3	C	.	C	C	.	T	C	C	G	C	G	A	C	T
H4	.	.	.	.	G	.	.	.	G	.	.	.	.	.



**Figura 2.** Frecuencias de haplotipos de nucleótidos del gen *ND4* en cuatro poblaciones naturales de *Aedes aegypti* del departamento de Sucre, Colombia



**Figura 3.** Red de haplotipos de nucleótidos del gen *ND4* en cuatro poblaciones naturales de *Aedes aegypti* del departamento de Sucre, Colombia. El área de cada círculo es proporcional a la frecuencia absoluta del haplotipo. Los círculos negros representan los pasos de mutaciones y, los círculos blancos, los haplotipos desaparecidos o no muestreados. La fracción de cada círculo indica la frecuencia de los haplotipos presentes en las poblaciones estudiadas.

**Variabilidad genética, pruebas de neutralidad y AMOVA**

En el cuadro 3 se presentan los valores estimados de los índices de diversidad genética y de las pruebas de neutralidad, para cada una y el total de todas las poblaciones de *Ae. aegypti*. Se destaca que los valores más altos de diversidad de nucleótidos y de haplotipos se encontraron en la población de Sincelejo y de Corozal.

Por otro lado, la prueba de neutralidad D de Tajima arrojó valores positivos y significativos para el grupo de las cuatro poblaciones y para la población de Sincelejo. La prueba D de Fu y Li mostró valores positivos y significativos en cada población, en tanto que los valores obtenidos con la prueba F de Fu y Li fueron positivos y significativos para las poblaciones de Sincelejo, Sampués y Corozal, y para todas las poblaciones.

Respecto al AMOVA (cuadro 4), los resultados mostraron que el 74,02 % de la variación es atribuible a diferencias genéticas intrapoblacionales, mientras que las diferencias entre poblaciones contribuyeron con el 25,98 %. El índice de fijación estimado ( $F_{ST}=0,259$ ) indica la presencia de diferencias genéticas entre las poblaciones.

**Estructura genética y flujo de genes**

La estructura genética estimada mediante el índice de fijación ( $F_{ST}$ ), y el flujo de genes calculado entre las cuatro poblaciones estudiadas, se muestran en el cuadro 5. Los valores del índice de fijación ( $F_{ST}$ ) evidenciaron una gran diferenciación entre Sampués y Guaranda, Sincelejo y Sampués, Corozal y Sampués, y Corozal y Guaranda. Todos los valores del índice  $F_{ST}$  fueron significativos, excepto el del obtenido al comparar las poblaciones de Sincelejo y Corozal.

El número efectivo de migrantes por generación entre poblaciones, indica que existe un número de migrantes que garantizan el intercambio genético entre las poblaciones de Sincelejo y Corozal, y las de Sincelejo y Guaranda.

No se encontró correlación entre la distancia geográfica y la distancia genética en el test de Mantel ( $r=0,508$ ;  $p=0,8477$ ).

**Discusión**

En el presente estudio se detectaron cuatro haplotipos en las poblaciones de *Ae. aegypti* de los municipios de Sincelejo, Sampués, Corozal y Guaranda. Estas poblaciones compartieron tres haplotipos (H1, H2 y H3), con la excepción de la población de Sampués que solo compartió dos (H1 y H3).

El haplotipo H1, que fue el más frecuente, corresponde probablemente al más antiguo en el departamento de Sucre, como se puede inferir de su ubicación en la red de haplotipos (figura 2). Este haplotipo había sido identificado por Caldera, *et al.* (25), en los municipios de Sincelejo y Guaranda, y también está registrado en Bello, Antioquia (44), así como en Brasil (23,24), Perú (20) y México (19). Según Jaimes, *et al.* (44), el haplotipo H1 pertenece a un grupo ancestral en Colombia, el cual está relacionado con poblaciones de *Ae. aegypti* de Camerún, Guinea y Costa de Marfil.

El haplotipo H3, que fue el segundo más frecuente y estuvo presente en las cuatro poblaciones, también había sido reportado en Sucre (25), así como en Antioquia (44), Brasil (23,24), México

**Cuadro 3.** Parámetros de diversidad genética y pruebas de neutralidad en cuatro poblaciones naturales de *Aedes aegypti* del departamento de Sucre, Colombia

Municipio	NH	S	k	DH	$\pi$	D de Tajima	D de Fu y Li	F de Fu y Li
Sincelejo	4	14	5.75431	0.686	0.01612	2.97494**	1.55027*	2.44915**
Sampués	2	12	4.45993	0.372	0.01249	1.82878	1.47579*	1.87402*
Corozal	3	13	4.58351	0.630	0.01284	1.63646	1.50879*	1.82951*
Guaranda	3	13	2.33404	0.249	0.00654	-0.67148	1.50879*	0.03163
Total	4	14	5.82326	0.655	0.01631	3.67357***	1.52183	2.8713**

NH: número de haplotipos en cada población; S: sitios polimórficos; k: número promedio de diferencias de nucleótidos; DH: diversidad de haplotipos;  $\pi$ : diversidad de nucleótidos

En las pruebas de neutralidad se encontraron diferencias estadísticas ( $p < 0,05^*$ ), ( $p < 0,01^{**}$ ), ( $p < 0,001^{***}$ ) y ( $p < 0,02^{**}$ ).

**Cuadro 4.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) de las frecuencias de haplotipos del gen *ND4* en cuatro poblaciones naturales de *Aedes aegypti* del departamento de Sucre

Tipos de variación	GL	SC	Componentes de la varianza	Porcentaje de variación
Interpoblacional	3	70.643	0,81780 Va	25,98
Intrapoblacional	104	242.357	2,33036 Vb	74,02
Total	107	313.000	3,14815	
Índice de fijación	$F_{ST}=0,25977$			

GL: grados de libertad

SC: suma observada de cuadrados

**Cuadro 5.** Estructura genética ( $F_{ST}$ ) y flujo de genes ( $Nm$ ) entre cuatro poblaciones naturales de *Aedes aegypti* del departamento de Sucre

Municipio	Sincelejo	Sampués	Corozal	Guaranda
Sincelejo	-	0,25637*	-0,00036	0,17440*
Sampués	1,45034 (19,4)	-	0,39946*	0,59467*
Corozal	Infinito (16,1)	0,75168 (30,6)	-	0,22237*
Guaranda	2,36697 (301)	0,34080 (289)	1,74854 (314)	-

Entre paréntesis se presenta la distancia geográfica en km.

(11) y Bolivia (18). Este haplotipo se encontraría estrechamente relacionado con poblaciones del mosquito de Tanzania (41).

El haplotipo H2, que no se encontró en la población de Sampués, está registrado en los municipios colombianos de Sincelejo (25), Bello, Riohacha y Villavicencio (44), y en países vecinos como Brasil (24) y Perú (20), pero se presume que se originó en África occidental (24).

Entre los cuatro haplotipos detectados en el departamento de Sucre, se destaca la presencia del haplotipo H4, que únicamente se encontró en la población de Sincelejo. Este haplotipo solo había sido registrado en Brasil (23,24), donde presenta una amplia distribución, por lo cual se presume que pudo haber surgido en ese país (24). El presente hallazgo constituye el primer registro de este haplotipo en Colombia y pone en evidencia su posible dispersión en América.

Comparado con el estudio realizado por Caldera, et al. (25), en la población de Sincelejo (localidades de El Cortijo y Botero) y Guaranda (localidades de San Camilo y Calle Tercera), en el presente trabajo se encontró un menor número de haplotipos, aunque cabe resaltar que las localidades de la población de Guaranda estudiadas no son las mismas, pero el efecto temporal de las recolecciones y los fenómenos de extinción local y recolonización de haplotipos más comunes en las poblaciones, pueden ser la causa de la ausencia o pérdida de los haplotipos H5 al H10 y de la aparición de nuevas variantes.

Con respecto a la población de Sincelejo, donde se analizaron más localidades y más especímenes que en el estudio previo, es importante resaltar que en esta ciudad, catalogada como 'hiperendémica para dengue' (45), los insecticidas son la estrategia más usada para controlar la enfermedad. Por este motivo, las poblaciones de insectos en este

municipio están expuestas constantemente a una presión de selección por insecticidas, lo que podría llevar a que los haplotipos menos frecuentes tiendan a desaparecer, mientras que los haplotipos más frecuentes en la población disminuirían en número, pero se mantendrían en ella (10,12).

En estas circunstancias, se originarían procesos de extinción local y de colonización de las variantes que lograron permanecer en la población a pesar del control químico implementado para disminuir las poblaciones del vector. Es posible formular la hipótesis que el control con insecticidas pudo haber eliminado los haplotipos H4 y H5 encontrados por Caldera, *et al.* (25) en el año 2010 en la localidad de El Cortijo. Sin embargo, el no haber detectado estos haplotipos también podría atribuirse a las limitaciones del presente trabajo, que fueron la restricción en la cantidad de muestreos y el escaso número de ejemplares analizados.

Los valores de diversidad de haplotipos y de nucleótidos encontrados en este estudio ( $DH=0,655$ ;  $\pi=0,01631$ ), fueron menores que los registrados en otros trabajos para la misma especie (22,44,46). Por población, los valores más altos de  $DH$  y  $\pi$  se observaron en Sincelejo ( $DH=0,686$ ;  $\pi=0,01612$ ) y Corozal ( $DH=0,630$ ;  $\pi=0,01284$ ).

Aunque en la población de Sincelejo esto se explicaría por la presencia de cuatro haplotipos, lo que en parte podría atribuirse al mayor número de individuos analizados en este municipio, es destacable la gran diversidad de la población de Corozal a pesar de que el número de individuos estudiados fue semejante al de Sampués y Guaranda. No obstante, los valores de  $DH$  encontrados en el presente estudio son similares a los registrados por Lima y Scarpassa (24) en poblaciones de la Amazonia brasileña ( $DH=0,666$ ), y por Caldera, *et al.* (25) en el departamento de Sucre, Colombia ( $DH=0,6794$ ).

Los resultados de las pruebas  $D$  de Tajima, y  $D$  y  $F$  de Fu y Li, permiten rechazar la hipótesis de neutralidad para estas poblaciones. Los valores de estos estimadores fueron positivos y significativos, lo cual indica que estas poblaciones están bajo selección positiva (47), en la que se favorecen los organismos que no presentan variación con respecto a las características promedio de la población, es decir, en relación con aquellos que están bien adaptados (48).

El AMOVA mostró que el componente que más pesó en la variabilidad encontrada, fue la variación intrapoblacional (74,02 %). Esta variación podría

atribuirse principalmente a la gran diversidad de haplotipos encontrada en las poblaciones de Sincelejo y Corozal. La gran variación intrapoblacional observada indicaría que las poblaciones de Sincelejo, Sampués, Corozal y Guaranda están diferenciadas, es decir que parte de la variabilidad existente está restringida dentro de las respectivas poblaciones. Por otro lado, la menor variación inter-poblacional (25,98 %) podría atribuirse a la gran frecuencia del haplotipo H1, presente en las cuatro poblaciones bajo estudio, y a la poca frecuencia del haplotipo H4, encontrado en la población de Sincelejo. El valor significativo del índice de fijación ( $F_{ST}=0,25977$ ;  $p<0,000$ ) indica que existe diferenciación genética entre las poblaciones.

El análisis de la estructura genética de las poblaciones naturales de *Ae. aegypti* en Sincelejo, Sampués, Corozal y Guaranda, muestra la existencia de una diferenciación genética muy grande entre Sampués y Guaranda, gran diferenciación entre las poblaciones de Sincelejo y Sampués, las de Sincelejo y Guaranda, las de Corozal y Sampués, y las de Corozal y Guaranda, y una escasa o nula diferenciación entre las de Sincelejo y Corozal, según los criterios propuestos por Wright (49). La escasa diferenciación observada entre Sincelejo y Corozal demuestra que las frecuencias alélicas son iguales en estas poblaciones (50).

Esto puede ser efecto de la cercanía geográfica de estas dos poblaciones, por lo que es muy probable que compartan un acervo genético similar; además, la dispersión de tres kilómetros, aproximadamente, del mosquito, también puede influir en la similitud genética de estas poblaciones (51). Es posible que la diferenciación que se presenta entre las poblaciones de Sampués y Guaranda, de Sincelejo y Sampués, de Sincelejo y Guaranda, de Corozal y Sampués, y de Corozal y Guaranda, se deba a la ausencia del haplotipo H2 en Sampués y a la presencia de H4 en Sincelejo; pero también, a la frecuencia de los haplotipos en cada una de las poblaciones.

La estimación del flujo de genes reveló un restringido intercambio de genes entre las poblaciones. Sin embargo, el valor de  $Nm$  obtenido (2,36697) para el par de Sincelejo y Guaranda, evidencia un flujo genético entre estas poblaciones que geográficamente están separadas por una distancia de 301 km. Considerando lo anterior, es posible que el aparente flujo de genes entre estas dos poblaciones obedezca a la presencia de los tres haplotipos más frecuentes, en especial de H1 que

puede ser la cepa más antigua del departamento, y que de este se derivaron los otros haplotipos, como se muestra en la red. Caldera, *et al.* (25), concluyeron que el H1 pudo ser uno de los primeros haplotipos introducidos y que, posteriormente, se diseminó en el departamento.

Otro aspecto importante es que la comunicación entre estas dos poblaciones es bastante restringida debido a su ubicación geográfica en zonas ecológicamente diferentes, por lo que el flujo de genes entre ellas sería inexistente: Sincelejo se ubica en la subregión Sabanas y, Guaranda, en la subregión Mojana. Asimismo, la presión selectiva ejercida por los insecticidas es diferente, pues en Sincelejo, considerado un municipio hiperendémico (45), se hacen constantemente aspersiones con insecticidas para disminuir las poblaciones del vector, mientras que en Guaranda, solo se asperja cuando se presenta un aumento significativo de casos (25).

En el par de poblaciones de Sincelejo y Corozal, el valor de  $Nm$  fue 'infinito', lo que demuestra que el flujo de genes es grande y que estas poblaciones se comportan como una gran población. Probablemente, esto se debe a dos factores, que son la corta distancia entre estas ciudades y la baja o nula diferenciación genética presente en ellas.

En conclusión, existen diferencias genéticas entre las poblaciones del mosquito *Ae. aegypti* de municipios del departamento de Sucre, sustentadas por los valores del  $F_{ST}$  y el  $Nm$  encontrados entre los pares de poblaciones.

Se destaca la presencia del haplotipo H4 en la población de Sincelejo, el cual solo estaba registrado en Brasil, lo que implica múltiples reintroducciones de otras áreas geográficas adyacentes al departamento de Sucre y la costa Caribe.

Se recomienda evaluar si existen diferencias entre estas poblaciones en cuanto a su capacidad para infectarse y transmitir arbovirus, y la sensibilidad o resistencia a los insecticidas, teniendo en cuenta que Atencia, *et al.* (32) reportaron la presencia de la mutación F1534C en el gen *kdr* de *Ae. aegypti* en el municipio de Sincelejo, la cual confiere resistencia al piretroide permetrina y al organoclorado DDT.

### Conflicto de intereses

No existe conflicto de interés por declarar.

### Financiación

Este trabajo recibió apoyo financiero del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación – Colciencias (proyecto 112951929257).

## Referencias

1. **Organización Mundial de la Salud.** Dengue: guías para diagnóstico, tratamiento, prevención y control. OMS; 2009. Fecha de consulta: 12 de septiembre de 2015. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44504/1/9789995479213\\_spa.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44504/1/9789995479213_spa.pdf?ua=1)
2. **Aitken TH, Downs WG, Shope RE.** *Aedes aegypti* strain fitness for yellow fever virus transmission. *Am J Trop Med Hyg.* 1977;26:985-9. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1977.26.985>
3. **Bennett KE, Olson KE, Muñoz M, Fernández-Salas I, Farfán-Ale JA, Higgs S, et al.** Variation in vector competence for dengue 2 virus among 24 collections of *Aedes aegypti* from Mexico and the United States. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67:85-92. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.67.85>
4. **World Health Organization.** Guidelines for prevention and control of chikungunya fever. World Health Organization. Fecha de consulta: 13 de mayo de 2016. Disponible en: [http://www.wpro.who.int/mvp/topics/ntd/Chikungunya\\_WHO\\_SEARO.pdf](http://www.wpro.who.int/mvp/topics/ntd/Chikungunya_WHO_SEARO.pdf).
5. **Bosio CF, Beaty BJ, Black WC.** Quantitative genetics of vector competence for dengue-2 virus in *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg.* 1998;59:965-70. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.59.965>
6. **Anderson JR, Rico-Hesse R.** *Aedes aegypti* vectorial capacity is determined by the infecting genotype of dengue virus. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;75:886-92. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.75.886>
7. **Quintero D, Osorio J, Martínez M.** Competencia vectorial: consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del Dengue. *Iatreia.* 2010;23:146-56.
8. **Lozano S, Fernández I, Muñoz M, García J, Olson K, Beaty B, et al.** The neovolcanic axis is a barrier to gene flow among *Aedes aegypti* populations in Mexico that differ in vector competence for dengue 2 virus. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3:e468. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000468>
9. **Ravela S, Montenyb N, Velasco D, Verdugob J, Cunya G.** A preliminary study of the population genetics of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Mexico using microsatellite and AFLP markers. *Acta Trop.* 2001;78:241-50. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(01\)00083-3](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(01)00083-3)
10. **Yan G, Chadee D, Severson D.** Evidence for genetic hitchhiking effect associated with insecticide resistance in *Aedes aegypti*. *Genetics.* 1998;148:793-800.
11. **Gorochotegui-Escalante N, Gómez-Machorro C, Lozano-Fuentes S, Fernández-Salas L, Muñoz M, Farfán-Ale JA, et al.** Breeding structure of *Aedes aegypti* populations in Mexico varies by region. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;66:213-22. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2002.66.213>
12. **Ocampo C, Wesson D.** Population dynamics of *Aedes aegypti* from a dengue hyperendemic urban setting in Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;71:506-13. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2004.71.506>
13. **Julio NB, Chiappero MB, Rossi HJ, Rondan-Dueñas JC, Gardenal CN.** Genetic structure of *Aedes aegypti* in the city of Córdoba (Argentina), a recently reinfested area. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104:626-31. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762009000400016>

14. **Sylla M, Bosio C, Urdaneta-Márquez L, Ndiaye M, Black WC.** Gene flow, subspecies composition, and dengue virus-2 susceptibility among *Aedes aegypti* collections in Senegal. *PLoS Negl Trop Dis.* 2009;3:e408. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000408>
15. **Da Costa-Ribeiro M, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux A.** Low gene flow of *Aedes aegypti* between dengue-endemic and dengue-free areas in Southeastern and Southern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77:303-9. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.77.303>
16. **Leiva N, Cáceres O.** Variabilidad genética de *Aedes aegypti* en algunas áreas del Perú usando Single Stranded Conformational Polymorphism (SSCP). *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2004;21:158-66.
17. **Da Costa-Ribeiro M, Lourenço-de-Oliveira R, Failloux A.** Higher genetic variation estimated by microsatellites compared to isoenzyme markers in *Aedes aegypti* from Rio de Janeiro. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2006;101:917-21. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762006000800015>.
18. **Paupy C, Le Goff G, Brengues C, Guerra M, Revollo J, Barja Z, et al.** Genetic structure and phylogeography of *Aedes aegypti*, the dengue and yellow-fever mosquito vector in Bolivia. *Infect Genet Evol.* 2012;12(6):1260–9. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.012>
19. **Olanratmanee P, Kittayapong P, Chansang C, Hoffmann AA, Weeks AR, Endersby NM.** Population genetic structure of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) at a micro-spatial scale in Thailand: Implications for a dengue suppression strategy. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e1913. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001913>
20. **Costa-da-Silva A, Capurro M, Bracco JE.** Genetic lineages in the yellow fever mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Diptera: Culicidae) from Peru. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100:639-44. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762005000600007>
21. **Bosio CF, Harrington LC, Jones JW, Sithiprasasna R, Norris DE, Scott TW.** Genetic structure of *Aedes aegypti* populations in Thailand using Mitochondrial DNA. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;72:434-42. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2005.72.434>
22. **Bracco J, Capurro M, Lourenço-de-Oliveira R, Mureb-Sallum M.** Genetic variability of *Aedes aegypti* in the Américas using a mitochondrial gene: Evidence of multiple introductions. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102:573-80. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762007005000062>
23. **Paduan K, Ribolla P.** Mitochondrial DNA polymorphism and heteroplasmy in populations of *Aedes aegypti* in Brazil. *J Med Entomol.* 2008;45:59-67. <https://doi.org/10.1093/jmedent/45.1.59>
24. **Lima R, Scarpassa V.** Evidence of two lineages of the dengue vector *Aedes aegypti* in the Brazilian Amazon, based on mitochondrial DNA ND4 gene sequences. *Genet Mol Biol.* 2009;32:414-22. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572009005000036>
25. **Caldera S, Jaramillo MC, Cochero S, Pérez-Doria A, Bejarano EE.** Diferencias genéticas entre poblaciones de *Aedes aegypti* de municipios del Norte de Colombia, con baja y alta incidencia de dengue. *Biomédica.* 2013;33:89-98. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1573>
26. **Albrieu G, Gardenal N.** Phylogeography of *Aedes aegypti* in Argentina: long-distance colonization and rapid restoration of fragmented relicts after a continental control campaign. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:254-61. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0696>
27. **Damal K, Murrell E, Juliano S, Conn J, Loew S.** Phylogeography of *Aedes aegypti* (yellow fever mosquito) in South Florida: mtDNA evidence for human-aided dispersal. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;89:482-88. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0102>
28. **Scarpassa V, Bacry T, Cardoso R.** Population genetics and phylogeography of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78:895–903. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2008.78.895>
29. **Cadavid J, Rúa G, Campo O, Bedoya G, Rojas W.** Cambios genéticos temporales y microgeográficos de *Aedes aegypti* en Medellín, Colombia. *Biomédica.* 2015;35:53-6. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2343>
30. **Hoyos-López R, Pardo SR, Castaño JC, Gallego-Gómez JC.** Código de barras para la tipificación de culicidos inmaduros de Armenia y Circasia (Quindío, Colombia). *Rev Colomb Entomol.* 2015;41:218-27. ISSN 0120-0488.
31. **Rueda L.** Pictorial keys for the identification of mosquitoes (Diptera: Culicidae) associated with Dengue virus transmission. *Zootaxa.* 2004;589:1-60. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.589.1.1>
32. **Atencia M, Pérez M, Jaramillo M, Caldera S, Bejarano E.** Primer reporte de la mutación F1534C asociada con resistencia cruzada a DDT y piretroides en *Aedes aegypti* en Colombia. *Biomédica.* 2016;36:432-7. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v36i3.2834>
33. **Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S.** MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol.* 2011;28:2731-739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
34. **Altschul S, Gish W, Miller W, Myers E, Lipman D.** Blast BLAST. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 1990; 215:403-10. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
35. **Librado P, Rozas J.** DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics.* 2009;25:1451-2. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187>
36. **Tajima F.** Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations. *Genetics.* 1983;105:437-60.
37. **Fu Y, Li W.** Statistical tests of neutrality mutations. *Genetics.* 1993;133:693-709.
38. **Fluxus Technology Ltd.** NETWORK 4.6.1.1. Steiner (MP) algorithm developed by Tobias Polzin and Siavash Vahdati Daneshmand. Fecha de consulta: 20 de noviembre de 2013. Disponible en: <http://www.fluxusengineering.com>
39. **Bandelt H, Forster P, Rohl A.** Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol.* 1999;16:37-48. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
40. **Excoffier L, Lischer H.** Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour.* 2010;10:564-67.

41. **Mantel N.** The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 1967;27:209-20.
42. **Rousset F.** Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics.* 1997;145:1219-28.
43. **Cavalcanti M.** MANTEL v1.19. Centro de Ciências Biológicas, Universidade Santa Úrsula. 2008. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2017. Disponible en: <http://life.bio.sunysb.edu/morph/morphmet/mantel32.exe>
44. **Jaimes J, Arboleda S, Triana O, Gómez A.** Spatio-temporal distribution of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) mitochondrial lineages in cities with distinct dengue incidence rates suggests complex population dynamics of the dengue vector in Colombia. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9:e0003553. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003553>
45. **Ministerio de Salud y Protección Social, República de Colombia.** Situación actual de Dengue a semana 12 de 2013 periodo de análisis: 2008-2013. Fecha de consulta: 15 de septiembre de 2017. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/INFORME%20SITUACION%20DE%20DENGUE.pdf>
46. **Twerdochlib A, Dalla A, Leite S, Chitolina R, Westphal B, Navarro M.** Genetic variability of a population of *Aedes aegypti* from Paraná, Brazil, using the mitochondrial *ND4* gene. *Rev Bras Entomol.* 2012;56:249-56. <http://dx.doi.org/10.1590/S0085-56262012005000030>
47. **Brito R, Manfrin M, Sene F.** Mitochondrial DNA phylogeography of Brazilian populations of *Drosophila buzzatii*. *Genet Mol Biol.* 2002;25:161-71. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572002000200009>
48. **Iturbe U.** Adaptaciones y adaptación biológica. *Sesbe.* 2010;5:5-12.
49. **Wright S.** Evolution and the genetics of population, variability within and among natural populations. Chicago: The University of Chicago Press; 1978. p. 4.
50. **Wright S.** The genetical structure of populations. Chicago: University of Chicago Press. *Annals of Eugenics.* 1951; 15:323-54.
51. **Nelson MJ.** *Aedes aegypti*: Biología y ecología. Washington: Organización Panamericana de la Salud; 1986. p. 1-50.

## COMUNICACIÓN BREVE

# Primer registro del flebotomíneo *Warileya* (*Hertigia*) *hertigi* en Antioquia, Colombia

Eduar Elías Bejarano<sup>1</sup>, Rafael José Vivero<sup>2</sup>, Sandra Uribe<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

<sup>2</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Grupo de Investigación en Sistemática Molecular, Universidad Nacional de Colombia, Medellín, Colombia

**Introducción.** El género *Warileya* es uno de los taxones menos conocidos de los flebotomíneos, el cual está integrado por solo nueve especies: *Warileya* (*Warileya*) *phlebotomanica*, *W. (Hertigia) hertigi*, *W. (W.) rotundipennis*, *W. (W.) nigrosacculus*, *W. (W.) yungasi*, *W. (W.) fourgassiensis*, *W. (W.) lumbrerasi*, *W. (W.) euniceae* y *W. (W.) leponti*.

**Objetivo.** Registrar el hallazgo de una especie del género *Warileya* en Antioquia, Colombia.

**Materiales y métodos.** Los flebotomíneos se recolectaron en una caverna de la Reserva Natural Cañón del Río Claro del municipio de San Francisco, departamento de Antioquia, Colombia. El muestreo entomológico se hizo con una trampa de luz de tipo CDC, durante tres noches consecutivas, en mayo de 2008. La determinación taxonómica se basó en la revisión del material tipo de la especie y de las claves estándar para flebotomíneos americanos.

**Resultados.** Se identificaron taxonómicamente cinco machos y dos hembras de flebotomíneos como *W. (H.) hertigi*. En ambos sexos fue notoria la ausencia de cicatrices de setas en el anepisternón, el proepimerón y el clípeo, la presencia de dos hileras transversales de cicatrices de setas en los tergitos, y la longitud corta de la vena gamma.

**Conclusión.** El hallazgo de *W. (H.) hertigi* incrementa a 64 el número de especies de flebotomíneos encontradas en el departamento de Antioquia. En total, 164 especies de flebotomíneos han sido registradas en Colombia.

**Palabras clave:** Psychodidae, leishmaniasis, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3625>

## First record of the sand fly *Warileya* (*Hertigia*) *hertigi* from Antioquia, Colombia

**Introduction:** The genus *Warileya* is one of the least-known taxa of sandflies, comprising only nine species, i.e., *W. (Warileya) phlebotomanica*, *W. (Hertigia) hertigi*, *W. (W.) rotundipennis*, *W. (W.) nigrosacculus*, *W. (W.) yungasi*, *W. (W.) fourgassiensis*, *W. (W.) lumbrerasi*, *W. (W.) euniceae* and *W. (W.) leponti*.

**Objective:** To document the presence of a species of the genus *Warileya* in Antioquia, Colombia.

**Materials and methods:** Sandflies were collected in a cavern of the Cañón del Río Claro Natural Reserve, of the municipality of San Francisco, Antioquia department, Colombia. Phlebotomine sampling was carried out using a CDC light trap during three consecutive nights in May of 2008. Taxonomical determination was based on a revision of the type material of the species and through the use of standard keys for American sandflies.

**Results:** Five male and two female sandflies were taxonomically identified as *W. (H.) hertigi*. In both sexes, the absence of setal scars in the anepisternum, proepimeron and clypeus; the presence of two transverse rows of setal scars in the tergites; and the short length of the vena gamma were notable.

**Conclusion:** The finding of *W. (H.) hertigi* increases the number of sandfly species found in Antioquia department to 64. In total, 164 sandfly species have been recorded in Colombia.

**Key words:** Psychodidae, leishmaniasis, Colombia.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3625>

### Contribución de los autores:

Eduar Elías Bejarano: determinación taxonómica de la especie

Rafael José Vivero: recolección de flebotomíneos, montaje entomológico y determinación taxonómica

Sandra Uribe: diseño del estudio

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

Los flebotómicos son ampliamente reconocidos como vectores de microorganismos patógenos, entre los cuales sobresalen los protozoos del género *Leishmania* Ross, 1903, que se alojan en la piel, las mucosas o las vísceras de los mamíferos (1). La mayoría de los flebotómicos descritos en el Nuevo Mundo pertenecen al género *Lutzomyia* França, 1924, que reúne más de 500 especies a la fecha, seguido por *Brumptomyia* França y Parrot, 1921, con 26 especies, y *Warileya*, Hertig, 1948, con solo nueve especies (2).

A diferencia de las especies de *Lutzomyia* y *Brumptomyia*, que presentan una amplia distribución en el neotrópico, las especies del género *Warileya* se concentran en siete países: Costa Rica, Panamá, Colombia, Perú, Ecuador, Bolivia y Guayana Francesa (3). Aunque las especies de *Warileya* no se habían asociado con la transmisión de agentes patógenos al humano, recientemente *W. (Warileya) rotundipennis* Fairchild y Hertig, 1951, se encontró infectada con parásitos del subgénero *Leishmania (Viannia)* en un foco de leishmaniasis cutánea de Colombia (4).

Durante un estudio entomológico desarrollado en el departamento de Antioquia, se recolectaron flebotómicos que correspondían a una especie de *Warileya* no registrada en esta región, los cuales se reportaron inicialmente como *Warileya* spp. (5) hasta tanto se pudiera acceder al tipo de la nomenclatura para corroborar su identidad. La comparación de estos ejemplares con el tipo indica que pertenecen a la especie *W. (Hertigia) hertigi* (Fairchild, 1949), la cual es registrada por primera vez en Antioquia, Colombia, en la presente comunicación breve.

## Materiales y métodos

Los flebotómicos se recolectaron en la Reserva Natural Cañón del Río Claro (5°53'15.30"N, 74°51'18.65"O; WGS 84), vereda Altavista, del municipio de San Francisco, departamento de Antioquia, Colombia. Esta reserva se encuentra ubicada a 324 msnm, en la estribación suroriental de la Cordillera Central de Los Andes. Ecológicamente, la zona corresponde a bosque húmedo

tropical, con registros de temperatura media anual de 26 °C, aproximadamente, y humedad relativa de 80 a 85 %.

Para la recolección de los flebotómicos, se usó una trampa de luz de tipo CDC, que se instaló a 1,5 m del suelo, dentro de una caverna, a un lado del sendero ecológico paralelo al río Claro. La trampa se accionó entre las 18:00 y las 06:00, durante tres noches consecutivas, en mayo de 2008.

Los ejemplares fueron aclarados en lactofenol (ácido láctico y fenol, en proporción 1:1) durante 24 horas y montados en láminas portaobjeto usando bálsamo de Canadá.

Las estimaciones morfométricas de cada ejemplar se hicieron con un micrómetro de ocular en un microscopio Carl Zeiss Primo Star™. El material entomológico está depositado en la "Colección de Vectores y Hospedadores Intermediarios de Enfermedades Tropicales (VHET)" del Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia en Medellín, Colombia.

La identificación taxonómica de los flebotómicos se basó en las claves de Young y Duncan (6), y de Galati (3), y en los artículos con las descripciones originales de las nueve especies de *Warileya* hasta ahora conocidas (7-16). Además, se examinó el material tipo de *W. (H.) hertigi* que reposaba en el Museo de Entomología de la "Florida State Collection of Arthropods (FSCA)" en Gainesville, Estados Unidos, integrado por un holotipo macho rotulado como "*W. hertigi, holotype, male, # 1228, Rio Chico Hydro Sta., Upper Rio Chagres, Panama, 20 March 48, in rock crevice near stream*", un alotipo hembra rotulado como "*W. hertigi, allotype, female, # 3444, La Roca, Costa Rica, 29 April 51, buttresses, Rosabal col*", así como machos y hembras de ambos países.

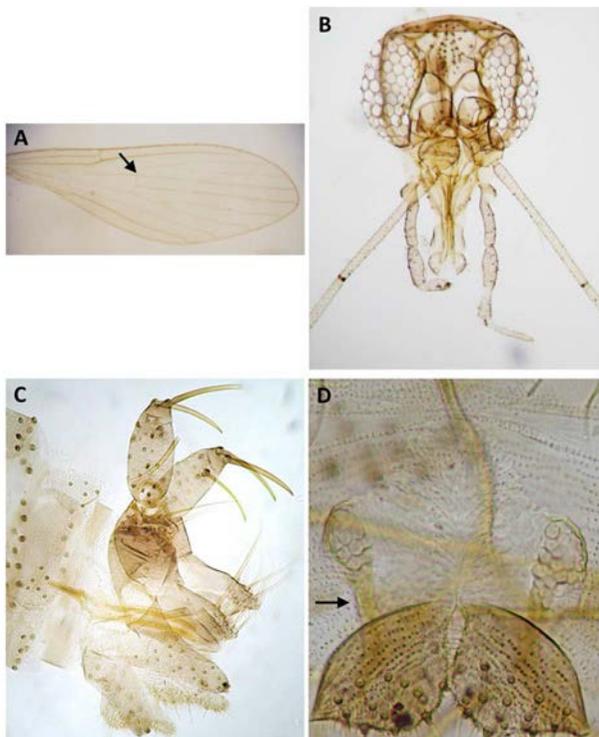
## Resultados

Se identificaron taxonómicamente cinco machos y dos hembras del subgénero *Hertigia* de *Warileya*, los cuales fueron determinados como *W. (H.) hertigi*. En ambos sexos fue notoria la ausencia de cicatrices de setas en el anepisternón, el propimerón y el clípeo, la presencia de dos hileras transversales de cicatrices de setas en los tergitos, y la longitud corta (5-25 µm, n=6) de la vena gamma, con la bifurcación de  $R_{2+3+4}$  justo después de la inserción de la vena transversal r-m (figura 1A). Estos también presentaron sutura interocular completa, faringe con espinas pequeñas, y fórmula

Correspondencia:

Eduar E. Bejarano, Universidad de Sucre, Carrera 14 N° 16B-32, Sincelajo, Colombia  
Teléfono: (575) 282 0830; fax: (575) 282 1240  
eduardelias@yahoo.com

Recibido: 11/10/16; aceptado: 30/07/17



**Figura 1.** Adultos de *Warileya (Hertigia) hertigi* (Fairchild, 1949), recolectados en el departamento de Antioquia, Colombia. A: Ala de la hembra, en la cual se señala la vena gamma (flecha negra); B: Cabeza de la hembra; C: Terminalia del macho; D: Abdomen de la hembra, en el cual se muestra la gonopofis del octavo esternito (flecha negra).

palpal 1.4.(2.3).5 en tres y 1.4.2.3.5 en dos, con el quinto palpómero (63-68  $\mu$  en tres machos; 75-76  $\mu$  en dos hembras) ligeramente superior en longitud al tercero (55-65  $\mu$  en tres machos; 85  $\mu$  en dos hembras) (figura 1B).

Los machos se caracterizaron por presentar la coxita (78-88  $\mu$ m, en tres) más corta que el estilo (99-103  $\mu$ m, en cuatro), este último provisto de dos espinas apicales y una preapical, y por tener el lóbulo lateral comparativamente más corto que el cerco, pero más largo que el parámetro (figura 1C), que se observó recubierto de setas en su parte distal. Además, los machos exhibieron filamentos genitales cortos (94-115  $\mu$  en cinco), equivalentes a 1,2-1,7 veces la longitud del apodema eyaculador más la bomba genital (68-81  $\mu$ , en cinco), los cuales estuvieron asociados a un par de varas esclerotizadas, dispuestas paralelas a estos y la bomba genital.

En la genitalia de las hembras, se destacó el brazo central de la furca genital con el ápice no dilatado, observado en posición ventral, y la presencia de

un par de proyecciones internas esclerotizadas, paralelas a la furca genital, denominadas tradicionalmente como ganopofis del octavo esternito (9,17). Estas proyecciones esclerotizadas adoptan apicalmente el aspecto de mórula y convergen en una sola estructura membranosa y rugosa, en forma piramidal, que se prolonga hasta superar la mitad del brazo central de la furca genital (figura 1D).

## Discusión

Los flebotómíneos del género *Warileya* se caracterizan por presentar alas anchas, con el ápice generalmente redondeado y la bifurcación  $R_{2+3+4}$  cercana a la inserción de la vena transversal r-m, sutura interocular completa, pleura sin setas, en el anepisternón y el proepimerón, tergitos con dos hileras transversales de setas, y genitales masculinos pequeños, con la coxita más corta que el estilo.

Lewis, *et al.* (18), reconocieron la existencia de dos subgéneros dentro de *Warileya*, el subgénero *Warileya*, que actualmente está compuesto por *W. (W.) phlebotomanica* Hertig, 1948, *W. (W.) rotundipennis*, *W. (W.) nigrosacculus* Fairchild y Hertig, 1951, *W. (W.) yungasi* Velasco y Trapido, 1974, *W. (W.) fourgassiensis* Le Pont y Desjeux, 1984, *W. (W.) lumbrerasi* Ogasuku, Pérez, Davies y Villaseca, 1996, *W. (W.) euniceae* Fernández, Carbajal, Astete y Wooster, 1998, y *W. (W.) leponti* Galati y Cáceres, 1999, y el subgénero *Hertigia*, integrado sólo por *W. (H.) hertigi*. Este género está representado en Colombia por tres especies, *Warileya (W.) nigrosacculus*, *W. (W.) rotundipennis* y *W. (H.) hertigi* (19).

*Hertigia* fue descrito inicialmente en la categoría taxonómica de género (8). Sin embargo, el posterior hallazgo de una especie de *Warileya* con características que habían sido propuestas como distintivas del género *Hertigia* (12), conllevó la degradación del último al estatus de subgénero (18). Posteriormente, Artemiev (20) retomó la clasificación original de este taxón y lo restituyó al rango de género, categorización que fue acogida por Galati (3). No obstante, en el presente trabajo se siguió el tratamiento tradicional de *Hertigia* como subgénero de *Warileya*, a la espera de estudios moleculares que permitieran esclarecer la relación entre estos.

El monotípico subgénero *Hertigia* es uno de los taxones de la subfamilia Phlebotominae menos frecuente en los muestreos entomológicos, más aún, los dos últimos registros de *W. (H.) hertigi*

datan de principios de la década del noventa, en Costa Rica (21), y de finales de la década del 2000, en el municipio de San Antonio del Tequendama, departamento de Cundinamarca, Colombia (19). No obstante, desde el punto de vista taxonómico, esta representa una de las especies de mayor importancia, por cuanto reúne los caracteres morfológicos más ancestrales de la subfamilia (8,20). Los ejemplares de *W. (H.) hertigi* recolectados en Antioquia, Colombia, exhibieron las características diagnósticas de la especie, referidas en la descripción original de ambos sexos (8,10). En este sentido, es necesario precisar que, aunque el par de proyecciones esclerotizadas observadas al nivel del octavo esternito en las hembras no fueron incluidas en la ilustración original de la hembra de *W. (H.) hertigi* (10), sí están presentes en el alotipo examinado.

Respecto a la longitud de la vena gamma, con la bifurcación de  $R_{2+3+4}$  justo después de la inserción de la vena transversal r-m, en contraste con el holotipo de *W. (H.) hertigi* en el cual la bifurcación se produce antes de la vena transversal r-m, se debe indicar que esta variación había sido previamente registrada en el material tipo de la especie (10). También, es destacable el poliformismo en la fórmula palpal, que correspondió a 1.4.2.3.5 en los especímenes de Colombia y a 1.4.2.5.3 en los ejemplares tipo de la especie, con la longitud del palpómero quinto levemente mayor que la del tercero en los flebotómíneos de Colombia. Lo anterior se explica por el tamaño similar de estos segmentos palpales, por lo cual cambios menores en su longitud ocasionan modificaciones en la fórmula palpal. Cabe resaltar que en una especie congénere, *W. (W.) lumbrerasi*, se ha observado una gran desviación estándar en el tamaño del palpómero quinto (14).

En conclusión, se registra por primera vez la presencia de *W. (H.) hertigi* en Antioquia, Colombia, lo cual incrementa a 64 el número de especies de flebotómíneos encontradas en este departamento (2). En total, 164 especies de flebotómíneos han sido halladas en Colombia.

#### Conflicto de intereses

No hay conflicto de intereses.

#### Financiación

Este trabajo fue financiado por el Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales (PECET) de la Universidad de Antioquia.

#### Referencias

1. Lainson R, Shaw JJ. New World Leishmaniasis. In: Cox FEG, Wakelin D, Gillespie SH, Despommier DD, editors. Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 10th edition. London: John Wiley & Sons, Ltd.; 2005. p. 313-49.
2. Bejarano EE, Estrada LG. Family Psychodidae. Zootaxa. 2016;4122:187-238. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4122.1.20>
3. Galati EA. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae). Classificação, morfologia, terminologia e identificação de Adultos. Apostila de Bioecologia e Identificação de Phlebotominae. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2015. p. 130.
4. Moreno M, Ferro C, Rosales-Chilama M, Rubiano L, Delgado M, Cossio A, et al. First report of *Warileya rotundipennis* (Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected with *Leishmania (Viannia)* in a focus of cutaneous leishmaniasis in Colombia. Acta Trop. 2015;148:191-6. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.04.017>
5. Vivero RJ, Muskus CE, Uribe SI, Bejarano EE, Torres C. Flebotómíneos (Diptera: Psychodidae) en la Reserva Natural del Cañón del Río Claro (Antioquia), Colombia. Actual Biol. 2010;32:165-71.
6. Young DG, Duncan MA. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sandflies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). Mem Amer Ent Inst. 1994;54:1-881.
7. Hertig M. A new genus of bloodsucking Psychodids from Perú (Diptera, Psychodidae). Ann Entomol Soc Am. 1948; 41:8-16. <https://doi.org/10.1093/aesa/41.1.8>
8. Fairchild GB. A new fly related to *Phlebotomus* from Panamá (Diptera, Psychodidae). Proc Entomol Soc Washington. 1949;51:81-4.
9. Fairchild GB, Hertig M. Notes on the *Phlebotomus* of Panamá (Diptera, Psychodidae). VIII. Two new species of *Warileya*. Ann Entomol Soc Am. 1951;44:422-9. <https://doi.org/10.1093/aesa/44.3.422>
10. Fairchild GB. A note on *Hertigia hertigi* Fairchild and description of the female (Diptera, Psychodidae). Proc Entomol Soc Washington. 1953;55:101-2.
11. Young DG, Chaniotis BN. The male of *Warileya nigrosacculus* (Diptera: Psychodidae). Fla Entomol. 1972;55:97-9.
12. Velasco J, Trapido H. Two new phlebotomine sandflies from Bolivia, *Lutzomyia boliviana*, n. sp. and *Warileya yungasi*, n. sp. (Diptera: Psychodidae). J Med Entomol. 1974;11:433-6.
13. Le Pont F, Desjeux P. *Warileya fourgassiensis* n. sp. (Diptera, Psychodidae), nouveau phlébotome cavernicole découverte en Guyane française. Cahiers ORSTOM. Sér Entomol Méd Parasitol. 1984;22:129-34.
14. Ogusuku E, Pérez JE, Davies CR, Villaseca P. Description of *Warileya lumbrerasi* n. sp. (Diptera: Psychodidae) from Perú. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996;91:711-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761996000600010>
15. Fernández R, Carbajal F, Astete H, Wooster MT. Notes on the phlebotomine sandflies from the Peruvian Southeast. II.

- Description of *Lutzomyia (Helcocyrtomyia) watsi* sp. n. and *Warileya euniceae* sp. n. (Diptera, Psychodidae). Rev Bras Entomol. 1998;42:65-70. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761998000100009>
16. **Cáceres AG, Galati EA.** Descrição de três espécies novas de Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Departamento de Pasco, Perú. Rev Bras Entomol. 1999;43:293-9.
  17. **Sinton JA.** Notes on some Indian species of the genus *Phlebotomus*. Part XIV. The hypopygium of the female *Phlebotomus*. Indian J Med Res. 1925;13:97-107.
  18. **Lewis DJ, Young DG, Fairchild GB, Minter DM.** Proposals for a stable classification of the phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). Syst Entomol. 1977;2:319-32. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3113.1977.tb00381.x>
  19. **Delgado LM.** Composición y abundancia de especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en San Antonio del Tequendama, departamento de Cundinamarca, región Andina, cuenca del río Magdalena (tesis). Tunja: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia; 2008. p. 69.
  20. **Artemiev MM.** A classification of the subfamily Phlebotominae. Parassitologia. 1991;33:69-77.
  21. **Herrero MV, Rojas JC, Jiménez AE, Zeledón R, Pereira R, Gutiérrez H.** II. Phlebotominae sandflies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) associated with human houses in an endemic area for cutaneous leishmaniasis in Costa Rica. En: Wijeyaratne P, Godman T, Espinal C, editores. Leishmaniasis control strategies: A critical evaluation of IDRC-supported research. Ottawa: International Development Research Center; 1992. p. 229-41.

## COMUNICACIÓN BREVE

# Desempeño de métodos moleculares para la identificación de subtipos poco comunes del virus de la hepatitis C, genotipo 2

Pierina D'Angelo<sup>1</sup>, Rossana Celeste Jaspe<sup>2</sup>, Carmen Luisa Loureiro<sup>2</sup>, Cristina Gutiérrez<sup>1</sup>, María Zulay Sulbarán<sup>3</sup>, Yoneira Sulbarán<sup>2</sup>, Félix Toro<sup>4</sup>, Flor Helene Pujol<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Programas Especiales-Hepatitis y SIDA, Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel", Caracas, Venezuela

<sup>2</sup> Laboratorio de Virología Molecular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela

<sup>3</sup> Laboratorio de Virología, Postgrado en Biología Aplicada, Universidad de Oriente, Núcleo Sucre, Cumaná, Venezuela

<sup>4</sup> Instituto de Inmunología, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela

**Introducción.** El virus de la hepatitis C (HCV) presenta una gran variabilidad genética, con siete genotipos y numerosos subtipos. La determinación del tipo viral ha sido fundamental para la escogencia y la duración del tratamiento antiviral adecuado. En Venezuela, el genotipo 2 del HCV es relativamente diverso, siendo particularmente prevalente el subtipo 2j.

**Objetivo.** Evaluar el desempeño de las metodologías para la determinación del genotipo del HCV, particularmente para la identificación del subtipo 2j.

**Materiales y métodos.** Se determinaron el genotipo y el subtipo del HCV mediante la técnica de hibridación inversa LiPA (*Line Probe Assay*) y secuenciación de las regiones genómicas 5'NC y NS5B del virus.

**Resultados.** En 65 muestras analizadas, la metodología basada en la amplificación de la región 5'NC mostró mayor sensibilidad (100 %), en comparación con la técnica LiPA (91 %) y la secuenciación de la región NS5B (77 %). La determinación de genotipo, tomando como método de referencia la secuenciación de NS5B, mostró un alto grado de concordancia para la secuenciación de la región 5'NC y la hibridación inversa LiPA, con 100 % en la asignación de genotipos, comparado con 70 % y 66 % para los subtipos, respectivamente. La secuenciación de la región NS5B permitió identificar los subtipos 2j y 2s, los cuales no fueron detectados por las otras metodologías. No se observó un patrón característico para las muestras subtipo 2j en la hibridación inversa LiPA.

**Conclusión.** Aunque es la metodología con menor sensibilidad, la secuenciación de la región NS5B es una herramienta poderosa para la correcta discriminación de los distintos subtipos circulantes del HCV, lo cual reviste importancia epidemiológica.

**Palabras clave:** hepatitis C/genética; genotipo; patología molecular.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3864>

## Performance of molecular methods for identification of unusual subtypes of hepatitis C virus genotype 2

**Introduction:** Hepatitis C virus (HCV) displays high genetic variability, with seven genotypes and numerous subtypes. The determination of the viral type has been essential for the selection and timing of antiviral treatment. In Venezuela, HCV genotype 2 is relatively diverse, being particularly prevalent subtype 2j.

**Objective:** To evaluate the performance of methodologies for genotyping HCV, particularly for identification of subtype 2j.

**Materials and methods:** HCV genotype and subtype were determined by reverse hybridization technique (LiPA) and sequencing of the HCV 5'UTR and NS5B regions.

**Results:** A total of 65 samples from HCV-infected patients were analyzed. PCR amplifications of the 5'UTR region exhibited the highest sensitivity (100% vs 91% for LiPA and 77% for NS5B). Genotype determination, taking as reference test NS5B, showed 100% concordance with the other methods, and 67% and 59% for subtypes with 5'NC and LiPA, respectively. NS5B sequencing allowed the identification of subtypes 2j and 2s, which were not detected by the other methods. A specific LiPA pattern was not observed for HCV subtype 2j.

### Contribución de los autores:

Félix Toro y Flor Helene Pujol: diseño del estudio

Pierina D'Angelo, Rossana Celeste Jaspe, Carmen Luisa Loureiro, Cristina Gutiérrez, María Zulay Sulbarán, Yoneira Sulbarán: recolección de datos

Todos los autores participaron en el análisis de datos y en la redacción del artículo.

**Conclusion:** Although being the methodology with lowest sensitivity for amplification of HCV RNA, sequencing NS5B region remains a powerful tool for correct discrimination of the different HCV subtypes, which is of epidemiological relevance.

**Key words:** Hepatitis C/genetics; genotype; pathology, molecular.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3864>

Existen de 130 a 150 millones de personas crónicamente infectadas con el virus de la hepatitis C (HCV) (1). Esta infección crónica puede conllevar cirrosis, cáncer hepático y muerte (2-4). El HCV muestra una gran variabilidad genética, con siete genotipos y numerosos subtipos con una divergencia que alcanza el 30 % en genotipos y alrededor del 15 % en los subtipos (5,6). Los genotipos y subtipos del HCV difieren en su distribución geográfica (7).

En Latinoamérica, la prevalencia de la infección por hepatitis C oscila entre 0,3 y 0,9 %, con predominio de la circulación de los genotipos 1 (6-81 %), 2 (0-33 %) y 3 (0-30 %) (7-9). Cabe destacar que la prevalencia más alta para el genotipo 2 en la región, se encuentra en Venezuela (8,10). La diversidad genética del HCV en Latinoamérica y el Caribe es más restringida que la que se observa en el continente africano, en general, con una menor variedad de subtipos y menor diversidad entre los aislamientos circulantes (11).

En Venezuela, los subtipos predominantes del HCV son el 1a, el 1b y el 2j; el genotipo 2j es el más frecuente, aun considerando el número relativamente grande de subtipos circulantes del genotipo 2. En países vecinos, como Colombia y Brasil, el subtipo 2j no se ha identificado y se reporta la circulación de subtipos más comunes, como el 2a, el 2b y el 2c (10,11).

Un factor ampliamente reconocido implicado en la patogénesis viral es el genotipo del HCV involucrado en la infección, según el cual la reacción al tratamiento puede variar (12). El tratamiento de la infección crónica por el HCV se ha revolucionado con el surgimiento de los antivirales de acción directa, en un intento por optimizar un tratamiento efectivo para todas las variantes del virus (13).

Como sucede con el tratamiento con el interferón 'pegilado' y la ribavirina, la selección de un antiviral de acción directa, la duración del tratamiento y la reacción virológica sostenida dependen del genotipo y el subtipo del HCV (14,15). Poco se conoce sobre la distribución de más de 67 subgenotipos del HCV. Potencialmente, la diversificación del virus podría afectar las tasas de reacción virológica sostenida si surgen sustituciones asociadas con la resistencia. Estas mutaciones dependen del subtipo y afectan la efectividad del tratamiento (16).

Dado el impacto mundial de la infección por el HCV y debido a que los estudios sobre la diversidad de sus subtipos son escasos en Latinoamérica, es importante contar con herramientas para determinar el genotipo, que permitan la búsqueda de información más precisa y correcta sobre la dinámica de la distribución de los genotipos y subtipos del virus.

En este sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar el desempeño de distintos métodos, la secuenciación de ácidos nucleicos y la hibridación inversa (17), para determinar el genotipo del HCV e identificar el subtipo 2j, muy prevalente en Venezuela.

## **Materiales y métodos**

### ***Población de estudio***

Previo autorización y consentimiento informado por parte de los participantes, se analizaron 65 muestras de suero o plasma provenientes de pacientes infectados con el HCV que acudieron al servicio diagnóstico entre los años 2009 y 2012. La mayoría de los pacientes eran crónicos, con diagnóstico previo de infección por el HCV y con seguimiento médico especializado para ser sometidos a tratamiento antiviral. Las muestras se procesaron inmediatamente o se mantuvieron a una temperatura de -70 °C hasta su posterior análisis.

### ***Determinación del genotipo viral***

Las muestras se evaluaron mediante el ensayo de hibridación inversa Versant HCV Genotype 2.0 Assay (LiPA)<sup>TM</sup> (Innogenetics, distribuido por Siemens, Healthcare Diagnostic, USA). Asimismo, se evaluaron el genotipo y el subtipo mediante la secuenciación de ácidos nucleicos a partir de las

Correspondencia:

Flor H. Pujol, Laboratorio de Virología Molecular, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas 1020-A, Venezuela

Teléfono: (58-212) 5041623; fax (58-212) 504 1623

fhpujol@gmail.com

Recibido: 29/03/17; aceptado: 12/09/17

regiones genómicas 5'NC y NS5B del HCV (10). Las secuencias de nucleótidos obtenidas fueron alineadas con un panel de secuencias de referencia depositadas en la base de datos de *GenBank*.

Se hizo el análisis filogenético mediante el método *neighbor-joining*, basado en matrices de distancias estimadas por Kimura de dos parámetros, utilizando el programa DNAMAN, versión 5.2.2 (Lynnon Biosoft, Canadá). Los análisis fueron sustentados con valores de confianza (*bootstrap*) de 1.000 réplicas y se crearon árboles filogenéticos basados estrictamente en el porcentaje de divergencia genética.

### Análisis estadístico

El grado de concordancia entre las metodologías empleadas se estableció mediante el cálculo del coeficiente kappa ( $\kappa$ ) (18).

### Resultados

En este estudio, se analizaron 65 muestras provenientes de sueros de pacientes que presentaron anticuerpos contra el HCV (anti-HCV). A partir de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) anidada en la región 5'NC del HCV (5'NC), se logró identificar el genotipo circulante en el 100 % de las muestras, a diferencia del 91 % (59/65) con el ensayo de hibridación inversa (LiPA) y el 77 % (50/65) al emplear la región NS5B del HCV (NS5B).

El análisis de los resultados reveló la circulación predominante de dos genotipos representados por tres subtipos, específicamente 1a, 1b y 2j. Sin embargo, la asignación del subtipo 2j se determinó únicamente a partir de la amplificación de la región NS5B, mientras que, con los métodos 5'NC y LiPA, los aislamientos del subtipo 2j fueron clasificados en su mayoría como subtipo 2ac o, en su defecto,

como genotipo 2. Los métodos mostraron una concordancia del 100 % en cuanto a la asignación de genotipos, a diferencia de lo observado en la asignación de los subtipos circulantes. Al comparar la asignación de subtipos de los métodos 5'NC y LiPA con NS5B, se observó una concordancia de 70 y 66 %, respectivamente. En el cuadro 1 se muestra la correlación de las asignaciones de subtipos entre los métodos LiPA y NS5B. La discrepancia entre subtipos del HCV se detectó, particularmente, para aquellos subtipos poco comunes del genotipo 2.

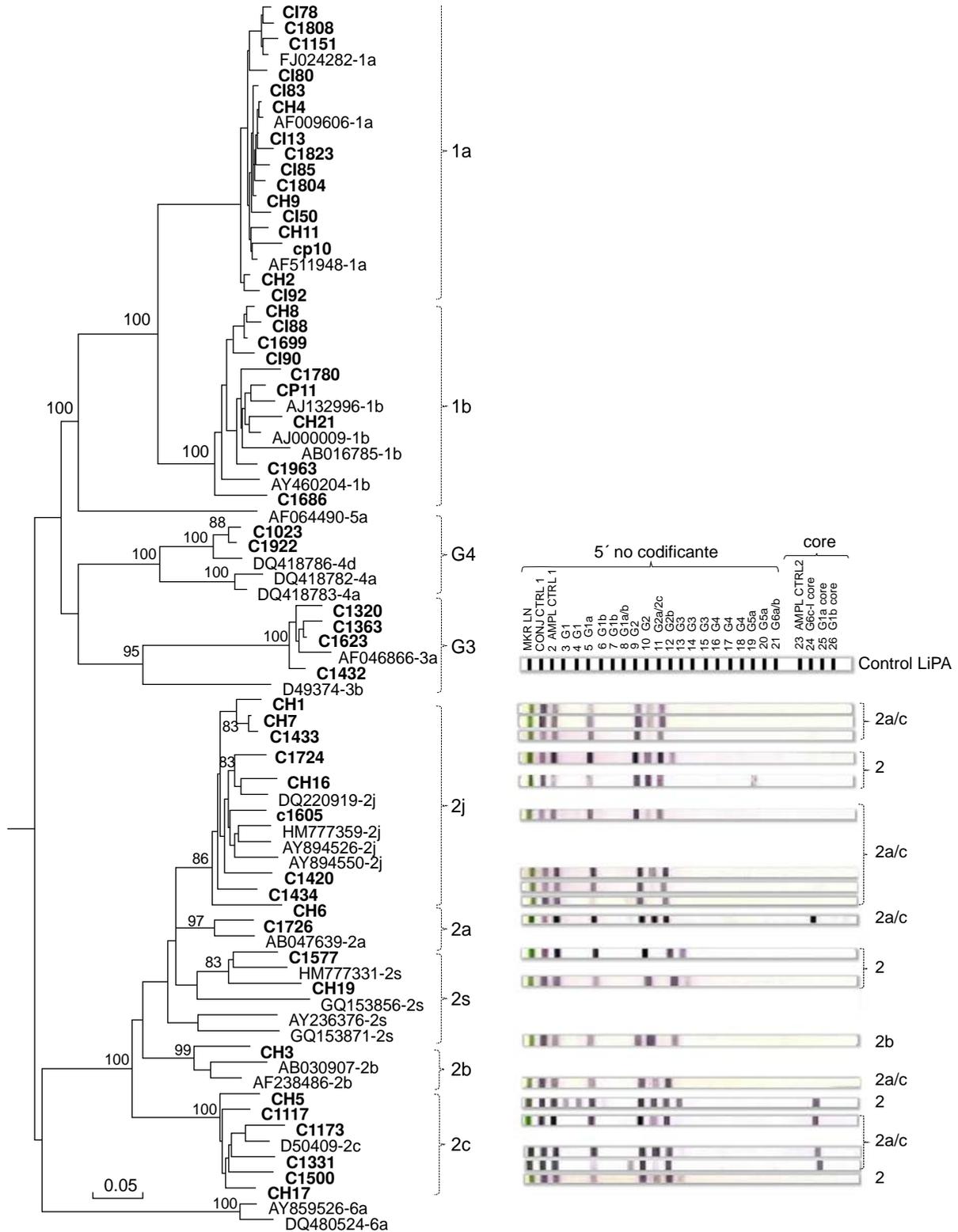
En la figura 1 se muestra el árbol filogenético usando las secuencias de la región NS5B. Se observó una gran diversidad de subtipos dentro del genotipo 2, con cinco subtipos (2a, 2b, 2c, 2j y 2s), algunos de los cuales no fueron identificados por los otros métodos de determinación de genotipo. En cuanto a los genotipos 4, el análisis en la región NS5B permitió clasificarlos como subtipo 4d.

Debido a la gran frecuencia del subtipo 2j en el grupo estudiado, lo cual es poco común fuera de Venezuela, se quiso evaluar si existía un patrón distintivo de hibridación para este subtipo mediante el LiPA. Sin embargo, no se observó un patrón sugestivo de la presencia del genotipo 2j, ya que los aislamientos 2j presentaron cuatro patrones distintos de hibridación, no pudiéndose discriminar las muestras con genotipo 2j de las otras con genotipo 2. Ninguna de las muestras con genotipo 2j mostró banda de hibridación en la región de la cápside. De la misma manera, las dos muestras clasificadas como genotipo 2s por la región NS5B, mostraron el mismo patrón de bandas en la tira de nitrocelulosa con el método LiPA, siendo asignadas como genotipo 2 (figura 1).

**Cuadro 1.** Concordancia entre los métodos NS5B y LiPA

Genotipo	LiPA									Total
	1a	1b	2	2a/c	2b	3	3a	4	4a/c/d	
1a	14	1								15
1b		10								10
2a				1						1
2b					1					1
2c			3	3						6
2j			1	8						9
2s			2							2
3a						1	3			4
4d								1	1	2
Total	14	11	6	12	1	1	3	1	1	50
Kappa										0,66

Las letras en negrilla corresponden a una concordancia total y, las letras en cursiva, a discrepancias en subtipo.



**Figura 1.** Árbol filogenético de la región NS5B de aislamientos del HCV. Se estimó la distancia genética por el método de Kimura de dos parámetros y se construyó el árbol filogenético con el método de *neighbor-joining*. Se muestran los valores de *bootstrap* por encima de 80 %. Los aislamientos están designados con su número de acceso en el GenBank y su genotipo, salvo los aislamientos venezolanos analizados en este estudio, que se muestran en negrilla. Se muestra el patrón de bandas obtenidas por LiPA para las muestras de genotipo 2.

## Discusión

El presente estudio permitió hacer un análisis comparativo de diferentes metodologías para determinar el genotipo circulante del HCV. La amplificación del ARN viral por los métodos LiPA y 5'NC mostró la mayor sensibilidad, de 91 % y 100 %, respectivamente, comparada con una de 77 % obtenida por el método NS5B. Estos resultados concuerdan con los reportados en otros estudios, en los cuales los métodos basados en la amplificación de la región 5'NC mostraron un alto grado de sensibilidad (17,19-21). No se puede descartar que el almacenamiento de las muestras o una baja carga viral hayan afectado el éxito de amplificación por medio de alguna de estas técnicas. Sin embargo, la baja sensibilidad del método NS5B ha sido reportada previamente, en particular, para aislamientos virales del genotipo 2 (10).

En términos de calidad de asignación de genotipos, los resultados mostraron el 100 % de correlación por los diferentes métodos empleados. Este alto grado de correlación es similar a lo reportado por otros autores (17,22). La mayoría de las discrepancias observadas en los subtipos con las determinaciones por LiPA y 5'NC respecto al método de referencia, se presentaron en aislamientos del genotipo 2, lo que concuerda con los reportes de Cai, *et al.*, en 2013, en los cuales la identificación de los subtipos con la técnica LiPA y la secuenciación de la región NS5B alcanzó una concordancia de solo 45 %, en el caso del genotipo 2 (23). Welzel, *et al.*, en 2017, observaron una mayor discordancia en la genotipificación de aislamientos del genotipo 2, al comparar el método LiPA con la secuenciación, probablemente debido a la gran diversidad de subtipos dentro de este genotipo (16).

El análisis filogenético de la región NS5B permitió identificar una gran diversidad de subtipos presentes en los aislamientos venezolanos del genotipo 2; además de la asignación de subtipos comunes, como 2a, 2b y 2c, se identificó la circulación de los subtipos 2j y 2s. La bondad de la técnica de NS5B para identificar subtipos poco comunes ha sido descrita por varios autores; por ejemplo, Margall, *et al.*, detectaron los subtipos 2j y 2q en muestras circulantes en España (24). En Venezuela, la alta prevalencia del subtipo 2j permitió la secuenciación del genoma completo de este subtipo para su identificación (10). En Europa, se ha encontrado el genotipo 2j en España y Francia, con prevalencias que oscilan entre 0,9 y 2,3 %. (24). En Argentina, se identificó un aislamiento de subtipo 2j en una

población de donantes voluntarios (25). El subtipo 2s, aunque no es muy frecuente en Venezuela, ha mostrado ser recurrente en distintas regiones del país (10,26). Las secuencias venezolanas del HCV de genotipo 2j se agruparon dentro de un clado monofilético (10); a pesar de ello, se observaron diversos patrones de hibridación mediante la técnica LiPA.

La relativa alta prevalencia del genotipo 2 en Venezuela, con respecto a otros países suramericanos, podría deberse a varios factores. En primer lugar, podría deberse a la relativa baja frecuencia de subtipos que circulan entre usuarios de drogas intravenosas, como el subtipo 3a, ya que la frecuencia de su uso es relativamente menor en Venezuela (27). En segundo lugar, no se puede descartar una ventaja en la diseminación del subtipo 2j en Venezuela por haber sido introducido en la época colonial, mientras que los otros subtipos, como 1a y 1b, fueron introducidos el siglo pasado (10). Finalmente, se desconoce si existe un factor de riesgo asociado con la infección por el subtipo 2j; no se descarta que la transmisión sexual pueda influir (10), lo cual podría estar afectando la prevalencia de este subtipo.

El conocer el subtipo del HCV para el manejo clínico de los pacientes está cobrando importancia con el advenimiento de fármacos antivirales de acción directa ya que, por ejemplo, los pacientes infectados con el subtipo 1a tienden a mejorar de forma más lenta que los infectados con el subtipo 1b (14,28). Se desconoce si esta variación podría asociarse con una mayor resistencia a los nuevos tratamientos (29). La asignación de genotipos y subtipos del virus es también importante para diversos propósitos de investigación, incluyendo estudios filogenéticos, epidemiológicos y de la historia natural de la infección.

Por otra parte, se desconoce la diversidad de subtipos del HCV en muchos países latinoamericanos. Así como ocurre en Venezuela, en otros países de la región podrían presentarse subtipos poco frecuentes del HCV. Es por ello que se recomienda que en cada país se evalúe la posibilidad de estudiar la secuenciación de las variantes circulantes, bien sea con fines epidemiológicos o de rutina clínica, usando, por ejemplo, la secuenciación en la región NS5B, para tener una visión de la variedad de subtipos que circulan, ya que esto podría tener implicaciones de adecuación del tratamiento antiviral.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Financiación

Este proyecto fue parcialmente financiado por el proyecto Misión Ciencia: Tecnología para el diagnóstico molecular de enfermedades transmisibles, FONACIT, Venezuela.

## Referencias

- Lanini S, Easterbrook PJ, Zumla A, Ippolito G.** Hepatitis C: Global epidemiology and strategies for control. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22:833-8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.07.035>
- Simmonds P.** Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus - 15 years on. *J Gen Virol.* 2004;85:3173-88. <https://doi.org/10.1099/vir.0.80401-0>
- Hnatyszyn HJ.** Chronic hepatitis C and genotyping: The clinical significance of determining HCV genotypes. *Antivir Ther.* 2005;10:1-11.
- Tellinghuisen TL, Evans MJ, von Hahn T, You S, Rice CM.** Studying hepatitis C virus: Making the best of a bad virus. *J Virol.* 2007;81:8853-67. <https://doi.org/10.1128/JVI.00753-07>
- Smith DB, Bukh J, Kuiken C, Muerhoff AS, Rice CM, Stapleton JT.** Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: Updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology.* 2014;59:318-27. <https://doi.org/10.1002/hep.26744>
- Timm J, Roggendorf M.** Sequence diversity of hepatitis C virus: Implications for immune control and therapy. *World J Gastroenterol.* 2007;13:4808-17. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i36.4808>
- Gower E, Estes C, Blach S, Razavi-Shearer K, Razavi H.** Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. *J Hepatol.* 2014;61:S45-57. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.07.027>
- Polaris Observatory HCV Collaborators.** Global prevalence and genotype distribution of hepatitis C virus infection in 2015: A modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017;2:161-76. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(16\)30181-30189](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(16)30181-30189)
- Alvarado-Mora MV, Pinho JR.** Epidemiological update of hepatitis B, C and Delta in Latin America. *Antivir Ther.* 2013;18:429-33. <https://doi.org/10.3851/IMP2595>
- Sulbarán MZ, Di Lello FA, Sulbarán Y, Cosson C, Loureiro CL, Rangel HR, et al.** Genetic history of hepatitis C virus in Venezuela: High diversity and long time of evolution of HCV genotype 2. *PLoS One.* 2010;5:e14315. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014315>
- Cristina J.** Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus in the Latin American region. *J Clin Virol.* 2005;34(Suppl.2):S1-7. [https://doi.org/10.1016/S1386-6532\(05\)00393-8](https://doi.org/10.1016/S1386-6532(05)00393-8)
- Cuypers L, Ceccherini-Silberstein F, van Laethem K, Li G, Vandamme AM, Rockstroh JK.** Impact of HCV genotype on treatment regimens and drug resistance: A snapshot in time. *Rev Med Virol.* 2016;26:408-34. <https://doi.org/10.1002/rmv.1895>
- Asselah T, Boyer N, Saadoun D, Martinot-Peignoux M, Marcellin P.** Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: Optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int.* 2016;36(Suppl.1):47-57. <https://doi.org/10.1111/liv.13027>
- Jiménez-Pérez M, González-Grande R, España Contreras P, Pinazo Martínez I, de la Cruz Lombardo J, Olmedo Martín R.** Treatment of chronic hepatitis C with direct-acting antivirals: The role of resistance. *World J Gastroenterol.* 2016;22:6573-81. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i29.6573>
- Foster GR, Afdhal N, Roberts SK, Brau N, Gane EJ, Pianko S.** Sofosbuvir and Velpatasvir for HCV genotype 2 and 3 infection. *N Engl J Med.* 2015;373:2608-17. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1512612>
- Welzel TM, Bhardwaj N, Hedskog C, Chodavarapu K, Camus G, McNally J, et al.** Global epidemiology of HCV subtypes and resistance-associated substitutions evaluated by sequencing-based subtype analyses. *J Hepatol.* 2017;67:224-36. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.03.014>
- Verbeeck J, Stanley MJ, Shieh J, Celis L, Huyck E, Wollants E, et al.** Evaluation of Versant hepatitis C virus genotype assay (LiPA) 2.0. *J Clin Microbiol.* 2008;46:1901-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.02390-07>
- Viera AJ, Garrett JM.** Understanding interobserver agreement: The kappa statistic. *Fam Med.* 2005;37:360-3.
- Laperche S, Lunel F, Izopet J, Alain S, Dény P, Duverlie G, et al.** Comparison of hepatitis C virus NS5B and 5' noncoding gene sequencing methods in a multicenter study. *J Clin Microbiol.* 2005;43:733-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.2.733-739.2005>
- Scott JD, Gretch DR.** Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: A systematic review. *JAMA.* 2007;297:724-32. <https://doi.org/10.1001/jama.297.7.724>
- Baclig MO, Chan VF, Ramos JD, Gopez-Cervantes J, Natividad FF.** Correlation of the 5'untranslated region (5'UTR) and non-structural 5B (NS5B) nucleotide sequences in hepatitis C virus subtyping. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2010;1:236-44.
- Martró E, González V, Buckton AJ, Saludes V, Fernández G, Matas L, et al.** Evaluation of a new assay in comparison with reverse hybridization and sequencing methods for hepatitis C virus genotyping targeting both 5' noncoding and nonstructural 5b genomic regions. *J Clin Microbiol.* 2008;46:192-7. <https://doi.org/10.1128/JCM.01623-07>
- Cai Q, Zhao Z, Liu Y, Shao X, Gao Z.** Comparison of three different HCV genotyping methods: Core, NS5B sequence analysis and line probe assay. *Int J Mol Med.* 2013;31:347-52. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.1209>
- Margall N, March F, Español M, Torras X, Gallego A, Coll P.** Two unusual hepatitis C virus subtypes, 2j and 2q, in Spain: Identification by nested-PCR and sequencing of a NS5B region. *J Virol Methods.* 2015;223:105-8. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.07.022>
- del Pino N, Oubiña JR, Rodríguez-Frías F, Esteban JI, Buti M, Otero T, et al.** Molecular epidemiology and putative origin of hepatitis C virus in random volunteers from Argentina. *World J Gastroenterol.* 2013;19:5813-27. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i35.5813>

26. **Sulbarán MZ, Montaña L, Sulbarán Y, Loureiro CL, Flores CR, Fariás Y, *et al.*** Caracterización molecular del virus de la hepatitis C en pacientes remitidos al Laboratorio Regional de Salud Pública del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá", Cumaná, Venezuela. *Invest Clin.* 2016;57:13-24.
27. **Jaspe RC, Sulbarán YF, Loureiro CL, Martínez N, Devesa M, Rodríguez Y *et al.*** Genetic diversity of hepatitis B virus and hepatitis C virus in human immunodeficiency virus type 1-co-infected patients from Venezuela. *J Med Microbiol.* 2014;63:1099-104. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.067496-0>
28. **Chevaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet R, Pawlotsky JM.** Hepatitis C virus (HCV) genotype 1 subtype identification in new HCV drug development and future clinical practice. *PLoS One.* 2009;4:1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008209>
29. **Le Guillou-Guillemette H, Vallet S, Gaudy-Graffin C, Payan C, Pivert A, Goudeau A, *et al.*** Genetic diversity of the hepatitis C virus: Impact and issues in the antiviral therapy. *World J Gastroenterol.* 2007;13:2426. <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i17.2416>

## RETRACTION

The Editorial Board of *Biomédica* informs that due to conflicts among the authors, it has been forced to retract the paper “Effectiveness of low back pain treatment with acupuncture” signed by Montes LA, Valenzuela MJ (*Biomédica*. 2018;38(0):54-60. doi: 10.7705/biomedica.v38i0.3546). Any authorship dispute must be resolved by the authors before the manuscript is submitted.

## RETRACTACIÓN

El Comité Editorial de *Biomédica* informa que debido a conflictos entre los autores, se ha visto forzado a retirar el artículo “Efectividad del tratamiento de la lumbalgia con acupuntura” firmado por Montes LA, Valenzuela MJ (*Biomédica*. 2018;38(0):54-60. doi: 10.7705/biomedica.v38i0.3546). Las disputas sobre autoría deben ser resueltas por los autores antes de someter el manuscrito a la revista.

## 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](http://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.

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 ambas 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](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](mailto: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](http://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.

*Biomédica* is an open access journal and it includes citation metadata for all references in published articles, all of which are deposited in CrossRef (<http://www.crossref.org/>).

### General information on manuscripts

*Biomédica* will publish scientific papers written in Spanish or English, in the following categories:

**Original articles:** Unpublished manuscripts resulting from biomedical research which present new information about specific aspects and provides a relevant contribution to scientific knowledge.

**Short communication:** Report of partial or final results of research whose rapid disclosure is of great importance.

**Technical note:** Detailed description of a new laboratory technique or of modifications done to an established technique, emphasizing the advantages that the process has, or the importance of the innovation developed.

**Essay:** A philosophical, literary, or scientific manuscript that presents an author's documented opinion about a specific topic or a topic of current interest.

**Commentary:** A manuscript about an article published in the journal.

**History:** A manuscript that places emphasis on historical personalities or facts, and their contributions to the development of biomedical sciences or health policies.

**Topic review:** the current state of the art on a specific topic; it includes two categories:

- 1) Requested by the Editorial Board to experts on a topic.
- 2) Presented by professionals interested in a particular topic. For this option, authors must send a proposal indicating why the topic selected is relevant to the readers of *Biomédica* including a brief description, some key references, publications by the authors on the topic that are to be cited (mandatory), unpublished data by the authors that are to

be included (mandatory), the probable size of the manuscript and the approximate number of illustrations.

In both categories, authors should include the following elements:

- An abstract with emphasis on the significance of recent findings;
- a pointed introduction to the topic showing past landmarks and present developments;
- appropriate subtitles to facilitate a better understanding of the manuscript;
- the development of the topic is left to the discretion of the authors, but they are advised to include tables, graphics and figures to provide a clearer understanding of the text. In case figures are taken partially or totally from other publications, authors must attach the permission from the copyright holder for their reproduction in *Biomédica*.

**Images in biomedicine:** An illustrated paper with photographs demonstrating and explaining a concept, a structure, a disease or a biomedical diagnosis. It must include a short commentary emphasizing the importance of the illustrated topic.

**Make your own diagnosis:** The purpose of papers presented in this category is to challenge the diagnostic ability of readers, using illustrations or photographs of clinical data, or microscopic findings. It has two parts, the clinical presentation and the corresponding findings in the first part, and the correct diagnosis in the second part. The latter should appear on a separate page and with an updated comment on the disease it highlights.

**Case presentation:** Clinical cases with peculiar presentations or special features of diagnostic value and a brief review of the relevant literature.

**Letters to the editor:** Readers can request explanations or comment on articles published in the journal. The decision to publish these letters lies on the Editorial Board.

**Book review:** Brief critical writings on books about health and biomedicine.

### Preparation of the manuscript

Please follow the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors that are published as "Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals" (updated December 2013) (<http://icmje.org/icmje-recommendations.pdf>).

The manuscript must include the following sections:

**Presentation page:** This section must include the following items:

- Manuscript title (maximum 165 characters)
- Running title for page headlines (maximum 50 characters)
- Spanish title (maximum 165 characters)
- A paragraph with the authors' full names (include only first family name)
- The institutional affiliation of each author including the name of their group, institution, city and country. The link of authors' names and institutional affiliation should be done using numbers in superscript. Omit positions held and academic qualifications.
- Name of corresponding author, along with postal address, telephone and fax numbers and e-mail address
- A paragraph stating authors' specific contribution to the article.

**Abstracts:** The manuscript must include a structured abstract (introduction, objective, materials and methods, results and conclusions) in both Spanish and English, not longer than 250 words. The use of references is not allowed in the abstract, and the inclusion of abbreviations and acronyms is not recommended.

**Key words:** No more than ten key words in each language are permitted. Authors are advised to verify the English keywords in the Medical Subject Headings (MeSH) of the Index Medicus available from <http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>, and the Spanish keywords in *Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS)* of the Latin American and Caribbean Health Sciences index available from <http://decs.bvs.br>

**Text:** All manuscripts, including the presentation page, abstracts, references, tables and titles of figures and tables, should be in double space. Leave only a single space after the end of each paragraph. Use Arial font size 12 for the text and for table and figure titles, and do not justify the text (left justified). Use italic letters for species names or scientific terms; do not underline for italicization.

**Electronic format:** The manuscript must be received as an MS Word™ file, preferably in the 97-2003 version. Figures should come attached

to the Word document and they should be sent preferably in a 300 dpi tiff format. Graphics made with Power Point™ or MS Word programs are not acceptable because of low resolution. Illustrations are printed in a single column (75 mm) or in two columns (153 mm), therefore, illustrations must be sent in one of these two print sizes. In the case of color illustrations, please use CMYK files in a high resolution tiff format. The best resolution for CMYK files is 300 dpi if the image does not include text. If the image includes text, the recommended resolution is 600 dpi; if it is black and white, the recommended resolution is 1200 dpi. The recommended font for graphics is Helvetic. If your files are Macintosh, please convert them to one of the above formats. A complete list of the files must be sent including the names of the programs in which they were formatted.

**Acknowledgements:** Authors should certify that persons mentioned in the Acknowledgements have been informed and they have agreed to it. This is not required in the case of institutions.

**Conflicts of interest and financial support statements:** Authors must place these statements before the References section in separate paragraphs.

*Biomédica* subscribes the ICMJE recommendations in this respect and adopts their format for the statement of potential conflicts of interest, which should be filled out individually by each author and sent along with the letter of submission. The electronic format is available from <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/>.

**References:** Strict adherence to the guidelines of the uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals is required. A number is assigned to each reference as it appears in the manuscript, the tables and figures in ascending order. The reference numbers are placed within parenthesis (not as indices or superscripts).

Personal communications, unpublished data, manuscripts in preparation or submitted for publication, and abstracts presented at congresses or other scientific meetings must not be numbered but rather referenced in the text within parenthesis.

Consult the periodical publications list of Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/tsd7serials7lij.html>) for exact abbreviations of journal names. If the journal is not listed, write its full title. Include only the first six authors of the article, followed by *et al.* The inclusion of national and Latin-American references

is recommended. For this purpose, please consult Lilacs, Latindex, Sibra, or Colciencia's indices, and other pertinent bibliographic sources.

The following are some examples of references from different types of publications according to the Vancouver style.

**Scientific journal:** The adequate way of citing scientific journals is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title. Journal's abbreviated name. Year;volume:initial page-last page. <http://dx.doi.org/>

Examples:

**Alter G, Malenfant JM, Altfeld M.** CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods*. 2004;294:15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jim.2004.08.008>

**Sánchez J, Villada OA, Rojas ML, Montoya L, Díaz A, Vargas C, et al.** Efecto del zinc aminoquelado y el sulfato de zinc en la incidencia de la infección respiratoria y la diarrea en niños preescolares de centros infantiles. *Biomédica*. 2014;34:79-91. <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.1581>

**Book or document:** The adequate way of citing books or documents is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title. Edition (when applicable). Place of publication: Publisher; year. Initial page-last page or total number of pages.

Example:

**Bernard HR.** Research methods in anthropology: Qualitative and quantitative approaches. Second edition. Thousand Oaks, CA: Sage Publications; 1994. 585 p.

**Book chapter or document:** The adequate way of citing book chapters or documents is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title of chapter. In: name of book author(s), editor(s). Title of book. Edition (when applicable). Place of publication: Publisher; year. Initial page - last page or total number of pages.

Example:

**Restrepo A, Tobón AM, Agudelo CA.** Paracoccidiodomycosis. In: Hospenthal DR, Rinaldi MG, editors. *Diagnosis and treatment of human mycoses*. 1st edition. Totowa, NJ: Humana Press; 2008. p. 127-331.

**Documents in web sites:** The adequate way of citing documents published in web sites is the following (Please, check the order of the data, spacing and punctuation):

**Authors (only first family name followed by first name initials) in bold.** Title. Citation date: day, month, year. Available from: exact link to open the document.

Example:

**Nucci M, Colombo AL.** Clinical manifestations and diagnosis of acute/subacute paracoccidiodomycosis. *UpToDate*. 2012. Citation date: October 15, 2012. Available from: <http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-acute-subacute-paracoccidiodomycosis>.

**Tables and figures:** Tables must be formatted using the Word processing tool for this purpose. Do not include columns or tabulations within the text of the manuscript.

Regarding microscope slides, include the staining and lens increase in the objective, but do not include the value of the ocular.

In the case of tables or figures previously published, an authorization by the copyright holder should be attached for publication in *Biomédica*.

### Manuscript submission

The manuscript should be submitted to *Biomédica's* on-line platform using the link "*Información para autores*", available from <http://www.revistabiomedica.org/>. However, a printed letter signed by all authors stating that they know the contents of the manuscript, that they agree to its submission for publication in *Biomédica*, and explicitly stating that the manuscript has not been published or submitted for publication to any other journal should be sent to the following address:

Revista Biomédica  
Instituto Nacional de Salud  
Avenida Calle 26 No. 51-20, bloque B, oficina B-245  
Bogotá D.C., Zona 6, Colombia

Authors living in foreign countries may send the letter signed and scanned via e-mail to *Biomédica's*

e-mail: [biomedica@ins.gov.co](mailto: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.