

I-ISSN 2590-7379 (Electrónico)

Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 41, Suplemento No. 2 - Infecciones bacterianas y virales
Octubre de 2021, Bogotá, D.C., Colombia, S.A.

Portada: Resonancia magnética en la que se aprecia el realce meníngeo de las raíces nerviosas de los segmentos lumbares.

Siemens MAGNETOM Avanto 1.5T™, MRI System

Hamilton Delgado-Argote, Radiología e Imágenes Diagnósticas, Universidad Icesi-Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia

Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 41, Suplemento No. 2 - Bogotá, D.C., Colombia - Octubre de 2021

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 Academia Nacional de Medicina Bogotá, D.C., Colombia	JULIÁN ALFREDO FERNÁNDEZ-NIÑO Universidad del Norte Barranquilla, Colombia	ERIKA SANTAMARÍA Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia
	JOSÉ MORENO-MONTOYA Fundación Santa Fe de Bogotá Bogotá, D.C., Colombia	OMAR SEGURA Federación Médica Colombiana Bogotá, D.C., Colombia	ORLANDO TORRES-FERNÁNDEZ Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia
	LEONARD MUNSTERMANN Yale University School of Medicine New Haven, CT, Estados Unidos	MAGDALENA WIESNER Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia	

Comité Científico

ARNOLDO BARBOSA Universidad del Tolima Ibagué, Colombia	ANDRÉS DE FRANCISCO Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos	JOHN MARIO GONZÁLEZ Universidad de los Andes Bogotá, D.C., Colombia
ANTONIO BERMÚDEZ Instituto Nacional de Salud Bogotá, D.C., Colombia	FERNANDO DE LA HOZ Universidad Nacional de Colombia Bogotá, D.C., Colombia	FELIPE GUHL Universidad de los Andes Bogotá, D.C., Colombia
JORGE H. BOTERO Universidad de Antioquia Medellín, Colombia	JOSÉ LUIS DI FABIO Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos	ANTONIO IGLESIAS Universidad Nacional de Colombia Bogotá, D.C., Colombia
GUSTAVO ALONSO CABRERA Universidad de Antioquia Medellín, Colombia	JORGE HERNANDO DONADO Universidad Pontificia Bolivariana Medellín, Colombia	JORGE JARA Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos
VÍCTOR CÁRDENAS University of Arkansas Little Rock, AK, Estados Unidos	CARLOS ANDRÉS FANDIÑO Universidad del Valle Cali, Colombia	ERNESTO JARAMILLO Organización Mundial de la Salud Ginebra, Suiza
ALBERTO CONCHA-EASTMAN Guatapé, Colombia	JOSÉ FIGUEROA World Health Organization Ginebra, Suiza	MARCELO LABRUNA Universidade de São Paulo São Paulo, Brasil
ZOILO CUÉLLAR Academia Nacional de Medicina Bogotá, D.C., Colombia	LUIS FERNANDO GARCÍA Universidad de Antioquia Medellín, Colombia	JAIRO LIZARAZO Hospital Universitario Erasmo Meoz Cúcuta, Colombia
LUIS GABRIEL CUERVO Organización Panamericana de la Salud Washington, D.C., Estados Unidos	ALBERTO GÓMEZ Pontificia Universidad Javeriana Bogotá, D.C., Colombia	JUAN GUILLERMO McEWEN Corporación para Investigaciones Biológicas Medellín, Colombia
PATRICIA DEL PORTILLO Corpogén Bogotá, D.C., Colombia	ENRIQUE GONZÁLEZ University of Texas Health Science Center at San Antonio San Antonio, TX, Estados Unidos	ROBERTO MENDOZA The Hospital for Sick Children Toronto, Ontario, Canada

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

LUZ ÁNGELA SALGADO
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

Contenido

Editorial

Efecto de las medidas preventivas durante la pandemia: más allá del SARS CoV-2 <i>Aura Lucía Leal-Castro</i>	5
---	---

Reporte de caso

Hallazgos de tuberculosis extrapulmonar en imágenes de resonancia magnética en una paciente pediátrica <i>Hamilton Delgado-Argote, Luz Miriam Leiva, Christian Rojas</i>	8
Bacteriemia tras la administración de <i>Bacillus clausii</i> para el tratamiento de la diarrea aguda: reporte de un caso <i>Juan Pablo García, John Alexander Alzate, Julián Andrés Hoyos, Edilberto Cristancho</i>	13

Ensayo

Escollones y peligros del análisis de supervivencia: el caso de los datos de COVID-19 <i>Daniele Piovani, Georgios K. Nikolopoulos, Stefanos Bonovas</i>	21
---	----

Reseña histórica

Comentario en torno al artículo "A propósito del bicentenario de la independencia de Colombia: las prácticas de lectura de Antonio Nariño y el desarrollo de una vacuna presuntamente efectiva contra la viruela" <i>Esteban Vanegas</i>	29
Salubridad y enfermedad en las minas de oro de Marmato en el siglo XIX: entre la epidemia de viruela y la guerra de los mil días <i>Fernando Gómez, Sebastián López, Arnoby Chacón</i>	37

Artículo original

Conocimientos, actitudes y prácticas relacionadas con la Covid-19 en pacientes atendidos en la carpa de triaje del Hospital Universitario de Caracas: un estudio transversal <i>Fabián R. Chacón, Juan M. Doval, Verónica I. Rodríguez, Adriana Quintero, Daniela L. Mendoza, Mario D. Mejía, Óscar D. Omaña, Mariana B. Contreras, Sebastián Gasparini, Carmen J. González, Natasha A. Camejo-Ávila, Sinibaldo R. Romero, David M. Flora-Noda, Andrea L. Maricuto, Viledy L. Velásquez, Rafael N. Guevara, Martín Carballo, Jocays Caldera, María C. Redondo, María E. Landaeta, Fhabián S. Carrión-Nessi, David A. Forero-Peña</i>	48
Vigilancia centinela de neumonías y meningitis bacterianas en menores de 5 años en un hospital pediátrico de tercer nivel en Colombia - 2016 <i>Germán Camacho-Moreno, Carolina Duarte, Diego García, Viviana Calderón, Luz Yanet Maldonado, Liliana Castellar, Jaime Moreno, Jacqueline Palacios, Ángela Gallego, Orlando Castillo, Olga Sanabria, Ivy Talavera, Rubén Montoya</i>	62
HIV en mujeres mayores de 50 años. Análisis de datos administrativos en departamentos del Pacífico colombiano (2014-2018) <i>Juanita Camacho, Diana Moscote, Yoseth J. Ariza</i>	76
Caracterización inmunológica de un grupo familiar colombiano con infección por SARS-CoV-2 <i>Wbeimar Aguilar-Jiménez, Lizdany Flórez-Álvarez, Daniel S. Rincón, Damariz Marín-Palma, Alexandra Sánchez-Martínez, Jahnnyer Martínez, María Isabel Zapata, John D. Loaiza, Constanza Cárdenas, Fanny Guzmán, Paula A. Velilla, Natalia A. Taborda, Wildeman Zapata, Juan C. Hernández, Francisco J. Díaz; María T. Rugeles</i>	86
Frecuencia de anticuerpos y seroconversión frente a <i>Rickettsia</i> spp. en pacientes atendidos en instituciones de salud del departamento de Caldas, Colombia, 2016-2019 <i>Jorge Enrique Pérez, Gloria Inés Estrada, Yuliana Zapata, Marylin Hidalgo, Cristian Camilo Serna, Diego Camilo Castro, Cristian González</i>	103
Efectos indirectos de la pandemia por SARS CoV-2 en la prevalencia de lactancia materna: modelación de su impacto <i>Álvaro Jácome, Carlos Castañeda-Orjuela, Nayide Barahona</i>	118
Caracterización de las infecciones de transmisión sexual, su tratamiento farmacológico y la recurrencia en una población colombiana <i>Luis Fernando Valladales-Restrepo, Juan Alberto Ospina-Cano, María José Londoño-Serna, Jorge Enrique Machado-Alba</i>	130
Características sociodemográficas y clínicas de la sífilis gestacional en Cali, 2018 <i>Juliana Benítez, María Alejandra Yépez, Mauricio Hernández-Carrillo, Diana Milena Martínez, Ángela Cubides-Munévar, Jorge Alirio Holguín-Ruiz, Martín Alonso Muñoz</i>	140
Prevalencia de parásitos intestinales en una cohorte de pacientes positivos para HIV en Antioquia, Colombia <i>Jorge Botero-Garcés, Esteban Villegas-Arbeláez, Sofía Giraldo, Johanna Urán- Velásquez, Laura Arias-Agudelo, Juan Carlos Alzate-Ángel, Gisela María García-Montoya, Ana Luz Galván-Díaz</i>	153
Distribución y caracterización fenotípica y genotípica de <i>Listeria monocytogenes</i> en aislamientos de alimentos, Colombia, 2010-2018 <i>Ana Isabel Muñoz, Edna Catering Rodríguez</i>	165
Comunicación breve	
Caracterización molecular de enterobacterias multiresistentes en dos departamentos de la selva peruana <i>Diana León-Luna, Alexander Fajardo-Loyola, José Yareta-Yareta, Antonio Burgos-Espejo, Carlos Peralta-Siesquen, Marco Galarza-Pérez, Pool Marcos-Carbajal</i>	180

Contents

Editorial

Effect of preventive measures during the pandemic: Beyond SARS CoV-2 <i>Aura Lucía Leal-Castro</i>	5
---	---

Case report

MRI findings on extrapulmonary tuberculosis in a pediatric patient <i>Hamilton Delgado-Argote, Luz Miriam Leiva, Christian Rojas</i>	8
Bacteremia after <i>Bacillus clausii</i> administration for the treatment of acute diarrhea: A case report <i>Juan Pablo García, John Alexander Alzate, Julián Andrés Hoyos, Edilberto Cristancho</i>	13

Essay

Pitfalls and perils of survival analysis under incorrect assumptions: the case of COVID-19 data <i>Daniele Piovani, Georgios K. Nikolopoulos, Stefanos Bonovas</i>	21
---	----

Historical review

Comment on the article "With regard to the bicentennial of the independence of Colombia: Reading practices of Antonio Nariño and the development of a presumably effective vaccine against smallpox" <i>Esteban Vanegas</i>	29
Healthiness and disease in Marmato gold mines during the 19th century: Between the smallpox plague and the War of a Thousand Days <i>Fernando Gómez, Sebastián López, Arnoby Chacón</i>	37

Original article

Knowledge, attitudes, and practices related to COVID-19 among patients at <i>Hospital Universitario de Caracas</i> triage tent: A cross-sectional study <i>Fabián R. Chacón, Juan M. Doval, Verónica I. Rodríguez, Adriana Quintero, Daniela L. Mendoza, Mario D. Mejía, Óscar D. Omaña, Mariana B. Contreras, Sebastián Gasparini, Carmen J. González, Natasha A. Camejo-Ávila, Sinibaldo R. Romero, David M. Flora-Noda, Andrea L. Maricuto, Viledy L. Velásquez, Rafael N. Guevara, Martín Carballo, Jocays Caldera, María C. Redondo, María E. Landaeta, Fhabían S. Carrión-Nessi, David A. Forero-Peña</i>	48
Sentinel surveillance for bacterial pneumonia and meningitis in children under the age of 5 in a tertiary pediatric hospital in Colombia - 2016 <i>Germán Camacho-Moreno, Carolina Duarte, Diego García, Viviana Calderón, Luz Yanet Maldonado, Liliana Castellar, Jaime Moreno, Jacqueline Palacios, Ángela Gallego, Orlando Castillo, Olga Sanabria, Ivy Talavera, Rubén Montoya</i>	62
HIV in women over 50 years: An analysis of administrative data in the departments of the Colombian Pacific region (2014-2018) <i>Juanita Camacho, Diana Moscote, Yoseth J. Ariza</i>	76
Immune characterization of a Colombian family cluster with SARS-CoV-2 infection <i>Wbeimar Aguilar-Jiménez, Lizdany Flórez-Álvarez, Daniel S. Rincón, Damariz Marín-Palma, Alexandra Sánchez-Martínez, Jahnyer Martínez, María Isabel Zapata, John D. Loaiza, Constanza Cárdenas, Fanny Guzmán, Paula A. Veilla, Natalia A. Taborda, Wildeman Zapata, Juan C. Hernández, Francisco J. Díaz; María T. Rugeles</i>	86
Frequency of antibodies and seroconversion against <i>Rickettsia</i> spp in patients consulting health institutions in the department of Caldas, Colombia, 2016-2019 <i>Jorge Enrique Pérez, Gloria Inés Estrada, Yuliana Zapata, Marylin Hidalgo, Cristian Camilo Serna, Diego Camilo Castro, Cristian González</i>	103
Indirect effects of the SARS CoV-2 pandemic on the prevalence of breastfeeding: Modeling its impact <i>Álvaro Jácome, Carlos Castañeda-Orjuela, Nayide Barahona</i>	118
Characterization of sexually transmitted infections, their pharmacological treatment, and recurrence in a Colombian population <i>Luis Fernando Valladales-Restrepo, Juan Alberto Ospina-Cano, María José Londoño-Serna, Jorge Enrique Machado-Alba</i>	130
Sociodemographic and clinical characteristics of gestational syphilis in Cali, 2018 <i>Juliana Benítez, María Alejandra Yépez, Mauricio Hernández-Carrillo, Diana Milena Martínez, Ángela Cubides-Munévar, Jorge Alirio Holguín-Ruiz, Martín Alonso Muñoz</i>	140
Prevalence of intestinal parasites in a cohort of HIVinfected patients from Antioquia, Colombia <i>Jorge Botero-Garcés, Esteban Villegas-Arbeláez, Sofía Giraldo, Johanna Urán- Velásquez, Laura Arias-Agudelo, Juan Carlos Alzate-Ángel, Gisela María García-Montoya, Ana Luz Galván-Díaz</i>	153
DDistribution and phenotypic and genotypic characterization of <i>Listeria monocytogenes</i> isolated from food, Colombia, 2010-2018 <i>Ana Isabel Muñoz, Edna Catering Rodríguez</i>	165

Brief communication

Molecular characterization of multiresistant enterobacteria in two departments of the Peruvian jungle <i>Diana León-Luna, Alexander Fajardo-Loyola, José Yareta-Yareta, Antonio Burgos-Espejo, Carlos Peralta-Siesquen, Marco Galarza-Pérez, Pool Marcos-Carbajal</i>	180
--	-----

Editorial

Efecto de las medidas preventivas durante la pandemia: más allá del SARS CoV-2

La situación que atraviesa actualmente el mundo con la pandemia de la COVID-19 tiene un impacto global sin precedentes sobre la morbimortalidad, especialmente en poblaciones vulnerables. Si bien todos los esfuerzos desplegados a lo largo de más de un año a nivel local, nacional e internacional estaban orientados a disminuir la transmisión del SARS CoV-2, las medidas sanitarias han tenido efecto en aquellos agentes patógenos cuyos modelos de transmisión son similares a los de este. La interrupción de la transmisión “persona a persona” es la razón más probable para explicar la disminución en la circulación de los virus respiratorios estacionales y en la presentación de infecciones bacterianas respiratorias por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e, incluso, *Neisseria meningitidis*, cuya vía de transmisión son las gotas. Además, la medida básica de prevención, es decir, el lavado de manos, tendría un impacto profundo, no solo en el comportamiento humano rutinario, sino en la disminución de infecciones como la enfermedad diarreica aguda (1).

En un comienzo, preocupaba el efecto potencial de la pandemia en la carga de infección respiratoria en algunos países, debido a la circulación concomitante de los virus respiratorios estacionales que se esperaba, según las proyecciones de los sistemas de vigilancia establecidos. Sin embargo, en la actualidad se reconoce que las medidas instauradas, como las restricciones en desplazamientos, el confinamiento, el uso de mascarillas, el distanciamiento y la higiene de manos, han tenido efecto sobre la circulación de algunos de estos virus y las infecciones que causan (2). Durante la pandemia ha aumentado considerablemente el número de estudios que generan evidencia científica a favor de dichas medidas para el control de la transmisión, por ejemplo, aquellos sobre el impacto del distanciamiento social y el efecto real de los tapabocas o barbijos (3).

En el 2020, la detección de virus respiratorios, como el de la influenza o el respiratorio sincitial, registró una importante disminución comparada con la del 2019, según los informes de los sistemas de vigilancia de países en todo el mundo. Algunos sistemas incluso informaron la “ausencia efectiva” de la epidemia anual, con un especial impacto en la población pediátrica apreciable en la reducción significativa de las tasas de ingreso a las unidades de cuidado intensivo por infecciones respiratorias graves (4). Colombia no ha sido ajena a este fenómeno y, en el 2020, los reportes de casos de infección respiratoria disminuyeron el 38 %, en tanto que no se recuperaron virus como el de influenza, el respiratorio sincitial, los adenovirus o los metapneumovirus durante las semanas epidemiológicas 27 a 37, comportamiento inusual y muy diferente al de años anteriores cuando, para esa misma época, se detectaban los picos de la mayoría de los virus respiratorios en nuestro país (5).

Citación:

Leal-Castro AL. Efecto de las medidas preventivas durante la pandemia: más allá del SARS CoV-2. Biomédica. 2021;41(Supl.2):5-7.

En las infecciones bacterianas como la meningitis meningocócica, también se reportó una disminución marcada en el mundo, por ejemplo, el sistema de vigilancia del Reino Unido registró una reducción del 76 % en el 2020 (6). En Colombia, se presentó una reducción global del 48 % en los casos de meningitis bacteriana aguda por *S. pneumoniae*, *H. influenzae* y *N. meningitidis*, así como en otras infecciones como la tosferina, con una disminución del 78 % en la notificación de casos (7,8), y la enfermedad diarreica aguda o la hepatitis A, que disminuyeron 45 y 78 %, respectivamente, en comparación con el año inmediatamente anterior (9,10).

El impacto de las medidas instauradas en la pandemia va incluso más allá de las infecciones virales y bacterianas. Así lo demuestra la disminución significativa de la prevalencia de pediculosis en Latinoamérica como consecuencia de la restricción en la movilidad de los niños y la inasistencia a los centros educativos (11).

Algunos autores han señalado que el impacto observado podría considerarse una “consecuencia positiva no esperada” de las medidas, aunque la magnitud y la duración de dicho efecto variaría, como en el caso de los virus respiratorios, según el tipo de agente (3,4).

De todas maneras, el efecto de las medidas en la comunidad justificaría adoptarlas en el futuro para disminuir la transmisión de muchos de estos agentes patógenos. Sin embargo, no se ha observado el mismo impacto en otras situaciones, como la prevención de infecciones asociadas con la atención en salud, pues, aunque hay una mayor visibilidad de prácticas como la higiene de manos, las medidas de aislamiento o el uso de elementos de protección individual, múltiples informes coinciden en que este tipo de infecciones asociadas con bacterias resistentes aumentó durante los picos de ingreso de pacientes con COVID-19. En este sentido, se podría afirmar que las tasas de dichas infecciones se han visto influenciadas negativamente por la reacción frente a la pandemia (12).

Más allá de los datos observados, hay un aspecto fundamental que llama a la reflexión: la pandemia y las medidas para combatirla han ejercido un efecto sobre el comportamiento y las dinámicas de la prestación de los servicios de salud, su acceso, la capacidad para hacer pruebas diagnósticas, los sistemas de notificación cuya base es la generación de diagnósticos y que se han visto influenciados por múltiples factores, incluidas la carga de trabajo y la priorización, tanto de los prestadores como de las autoridades de salud. Por lo tanto, el reto radica en determinar si la disminución en el reporte de casos de infecciones realmente corresponde a una menor carga de la enfermedad por reducción de la transmisión, o si se debe al subregistro en la vigilancia rutinaria (13).

Tal vez la principal lección aprendida hasta el momento es la necesidad de establecer el equilibrio entre las demandas de atención de la pandemia, y el mantenimiento de los procesos rutinarios de vigilancia, prevención y control de enfermedades transmisibles y no transmisibles. Los sistemas de salud y las políticas públicas deben adelantar una evaluación continua de las medidas instauradas durante la pandemia y su posible impacto en otros ámbitos de la salud.

Nos estamos enfrentando a grandes retos globales que obligan a “mirar por fuera de la caja”, es decir, a adoptar una visión centrada, no solamente en el impacto de las medidas contra la transmisión del SARS CoV-2, sino

en la posibilidad de transferir algunos de sus principios al control de otras infecciones. Además, los cambios observados en la esfera de la epidemiología se deben a múltiples causas y el reto, sin duda, será evaluar el impacto que la reacción a la pandemia ha generado en los sistemas de vigilancia y, eventualmente, instaurar estrategias para fortalecerlos en un futuro inmediato.

Aura Lucía Leal-Castro

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia
allealc@unal.edu.co

Referencias

1. Smith DRM, Opatowski L. COVID-19 containment measures and incidence of invasive bacterial disease. *Lancet Digit Health*. 2021;3:331-2. [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(21\)00085-6](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(21)00085-6)
2. Yum S, Hong K, Sohn S, Kim J, Chun BC. Trends in viral respiratory infections during COVID-19 pandemic, South Korea. *Emerg Infect Dis*. 2021;27:1685-8. <https://doi.org/10.3201/eid2706.210135>
3. Islam N, Sharp SJ, Chowell G, Shabnam S, Kawachi I, Lancelotti B, *et al*. Physical distancing interventions and incidence of coronavirus disease 2019: Natural experiment in 149 countries. *BMJ*. 2020;15:2743. <https://doi.org/10.1136/bmj.m2743>
4. Liu P, Xu M, Cao L, Su L, Lu L, Dong N, *et al*. Impact of COVID-19 pandemic on the prevalence of respiratory viruses in children with lower respiratory tract infections in China. *Virology*. 2021;8:159. <https://doi.org/10.1186/s12985-021-01627-8>
5. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento infección respiratoria aguda Colombia 2020. Fecha de consulta: 2 de septiembre de 2021. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/INFECCION%20RESPIRATORIA%20AGUDA_2020.pdf
6. Brueggemann AB, Jansen van Rensburg MJ, Shaw D, McCarthy ND, Jolley KA, Maiden MCJ, *et al*. Changes in the incidence of invasive disease due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis* during the COVID-19 pandemic in 26 countries and territories in the Invasive Respiratory Infection Surveillance Initiative: A prospective analysis of surveillance data. *Lancet Digit Health*. 2021;3:360-70. [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(21\)00077-7](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(21)00077-7)
7. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento Meningitis bacteriana aguda y enfermedad meningocócica. Colombia 2020. Fecha de consulta: 2 de septiembre de 2021. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/MENINGITIS%20BACTERIANA_2020%20cambiar.pdf
8. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento Tos Ferina. Colombia 2020. Fecha de consulta: 3 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/TOS%20FERINA%20PE%20XIII%202020.pdf>
9. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento Hepatitis A. Colombia 2020. Fecha de consulta: 3 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/HEPATITIS%20A%20PE%20XIII%202020.pdf>
10. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento Enfermedad diarreica aguda. Colombia 2020. Fecha de consulta: 3 de septiembre de 2021. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ENFERMEDAD%20DIARREICA%20AGUDA%20PE%20XIII%2020200.pdf>
11. Galassi F, Ortega-Insaurralde I, Adjemian V, González-Audino P, Picollo MI, Toloza AC. Head lice were also affected by COVID-19: A decrease on pediculosis infestation during lockdown in Buenos Aires. *Parasitol Res*. 2021;120:443-50 <https://doi.org/10.1007/s00436-020-07038>
12. Weiner-Lastinger LM, Pattabiraman V, Konnor RY, Patel PR, Wong E, Xu S, *et al*. The impact of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on healthcare-associated infections in 2020: A summary of data reported to the National Healthcare Safety Network. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021;3:1-14. <https://doi.org/10.1017/ice.2021.362>
13. Ullrich A, Schranz M, Rexroth U, Hamouda O, Schaade L, Diercke M, *et al*. Impact of the COVID-19 pandemic and associated non-pharmaceutical interventions on other notifiable infectious diseases in Germany: An analysis of national surveillance data during week 1–2016 – week 32–2020. *The Lancet Regional Health – Europe*. 2021;6:100103. <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100103>

Reporte de caso

Hallazgos de tuberculosis extrapulmonar en imágenes de resonancia magnética en una paciente pediátrica

Hamilton Delgado-Argote¹, Luz Miriam Leiva², Christian Rojas³

¹ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Icesi, Cali, Colombia

² Departamento de Medicina Física y Rehabilitación, Hospital Universitario del Valle, Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Neurología Infantil, Departamento de Pediatría, Hospital Universitario del Valle, Universidad del Valle, Cali, Colombia

La tuberculosis pulmonar es la más común en niños y su forma extrapulmonar corresponde aproximadamente a 30 a 40 % de los casos.

Se presenta el caso de una niña indígena con tuberculosis diseminada: pulmonar, cerebral, medular y musculoesquelética, con importantes secuelas en el neurodesarrollo.

Este caso ilustra el espectro de la tuberculosis extrapulmonar pediátrica en países endémicos en desarrollo. Además, evidencia la gravedad de las complicaciones neurológicas causantes de grave discapacidad y resalta el valor de las imágenes radiológicas para orientar la sospecha diagnóstica de compromiso extrapulmonar.

Palabras clave: tuberculosis; tuberculosis meníngea; tuberculosis osteoarticular; niño.

MRI findings on extrapulmonary tuberculosis in a pediatric patient

Pulmonary tuberculosis is the most common in children and its extrapulmonary manifestations are present in 30% to 40% of cases.

We present the case of an indigenous girl with disseminated tuberculosis: pulmonary, brain, medullary, and musculoskeletal with substantial neurodevelopmental sequelae.

This case exemplifies the spectrum of pediatric extrapulmonary tuberculosis in endemic developing countries. Furthermore, it shows the severity of highly disabling neurological complications and stresses the importance of radiological imaging in guiding diagnostic suspicion of extrapulmonary involvement.

Keywords: Tuberculosis; tuberculosis, meningeal; tuberculosis, osteoarticular; child.

La tuberculosis pulmonar es el tipo más común de la enfermedad en los niños; la forma extrapulmonar se presenta en 30 a 40 % de los casos (1,2). Colombia tiene una incidencia intermedia de cerca de 25 casos por cada 100.000 habitantes (3). La población infantil es más vulnerable frente a la tuberculosis diseminada y extrapulmonar; y son factores de riesgo ser menor de 5 años, presentar inmunodeficiencias, no estar vacunados con la BCG y la desnutrición (4,5), la cual constituye el principal factor de riesgo en los países endémicos en desarrollo (6).

En Colombia, el compromiso extrapulmonar, que es el que más morbimortalidad genera, se ha documentado en el 34 % de los casos de tuberculosis en niños (3). En países como Uruguay, la forma de presentación más frecuente en menores de 15 años es la pleural, la cual ocurre mayoritariamente en niños previamente sanos (4). El sistema linfático es el más afectado (3), en tanto que la infección diseminada y la afectación del sistema nervioso central son las manifestaciones más frecuentes en pacientes inmunocomprometidos (7).

El compromiso del sistema nervioso central es la complicación más importante, causante de grave discapacidad y de tasas de mortalidad entre el 15 y el 32 %, en tanto que el 80 % de los sobrevivientes presenta secuelas neurológicas (6). En México, se ha documentado que la incidencia de este tipo de compromiso es del 1 % del total de casos y de 6 a 10 % de los extrapulmonares en pacientes inmunocompetentes, siendo la manifestación

Recibido: 26/10/2020

Aceptado: 10/06/2021

Publicado: 10/06/2021

Citación:

Delgado-Argote H, Leiva LM, Rojas C. Hallazgos de tuberculosis extrapulmonar en imágenes de resonancia magnética en una paciente pediátrica. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):8-12. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5857>

Correspondencia:

Hamilton Delgado-Argote, Carrera 98 N° 18-49, Torre 4, sótano, Departamento de Imágenes Diagnósticas, Fundación Valle del Lili, Cali, Colombia
Teléfono: (57-032) 331 9090, extensión 8152
hamilton.delgado1@u.icesi.edu.co

Contribución de los autores:

Hamilton Delgado-Argote: evaluación, interpretación y descripción de imágenes diagnósticas; recolección de datos y revisión de la literatura
Luz Miriam Leiva: recolección de datos, revisión de la literatura
Christian Rojas: concepción y diseño del manuscrito, análisis e interpretación de los datos
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

Financiación:

El presente manuscrito no contó con financiación de ninguna institución.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

más frecuente la meningitis, seguida por el tuberculoma y el absceso tuberculoso (8).

En la leptomeningitis tuberculosa, el estudio mediante imágenes permite detectar el realce paquimeníngeo basal, la hidrocefalia no obstructiva y el infarto parenquimatoso, hallazgos muy específicos para la meningitis por tuberculosis (7,9), cuyas características radiológicas varían según el momento de la evolución (7). A menudo, la radiculomielitis es una extensión de la tuberculosis meníngea que afecta la médula espinal y las raíces nerviosas, lo que en el estudio radiológico se evidencia por el realce meníngeo irregular perimedular y radicular (7,10).

La manifestación osteomuscular más frecuente es la espondilitis tuberculosa, seguida de la artritis séptica, la cual suele ser monoarticular y comprometer la cadera o la rodilla, lo que se manifiesta radiológicamente como sinovitis (7). Otras afecciones menos frecuentes son la tenosinovitis y la miositis por tuberculosis.

En este artículo se presentan las imágenes de resonancia magnética (RM) de una paciente con tuberculosis extrapulmonar extensa.

Caso clínico

Se trata de una niña indígena de 9 años de edad, residente en un resguardo en el Valle del Cauca, con antecedentes de desnutrición e historia de desarrollo psicomotor acorde para la edad; al no presentar el carné correspondiente, se asumió que no había sido vacunada con BCG.

Consultó por un cuadro de 14 días de fiebre, dolor abdominal difuso y emesis. En el examen físico, presentaba fiebre (40°C), taquicardia (120 latidos por minuto), desnutrición (peso para la talla de menos de dos desviaciones estándar), periodos fluctuantes de somnolencia e irritabilidad, pero sin signos meníngeos. No se evidenciaron cambios inflamatorios o infecciosos en oídos ni orofaringe y, tampoco, lesiones en la piel.

En los exámenes de laboratorio, se reportó leucocitosis, elevación de la proteína C reactiva, hipocaliemia e hiponatremia; la IgG contra citomegalovirus fue positiva y, la IgM, negativa, la IgG y la IgM para toxoplasma, leptospira y dengue, así como los antígenos febriles, la gota gruesa y los hemocultivos, fueron negativos.

La ecografía de abdomen fue normal y no se identificaron imágenes nodulares, miliars, ni masas o áreas de consolidación en la radiografía de tórax.

Durante la evolución, presentó deterioro neurológico con episodios convulsivos tónico-clónicos e inestabilidad hemodinámica progresiva, por lo cual se le dio ingreso a la unidad de cuidados intensivos por impresión diagnóstica de neuroinfección. Se le hizo una punción lumbar y el líquido cefalorraquídeo (LCR) se encontró ligeramente turbio, con presión de apertura elevada, predominio linfocítico, hipoglucoorraquia, y proteinorraquia, en tanto que el panel meníngeo (FilmArray™) fue negativo, así como la coloración Gram y la prueba de BAAR.

Se confirmó el diagnóstico de tuberculosis con base en las manifestaciones clínicas, el nexa epidemiológico (procedente de zona endémica), los factores de riesgo (desnutrición, sin inmunización) y la prueba molecular Xpert MTB/RIF™ positiva en el LCR y la secreción traqueal, con cultivo de LCR positivo para tuberculosis sensible a isoniazida y rifampicina.

Dados los episodios convulsivos, la postura antálgica en flexión de la cadera y la rodilla derecha con limitación para la rotación pasiva de la cadera, la presencia de alodinia y la hiperalgesia a partir del dermatoma a nivel de C4, se hizo la resonancia magnética (RM) de cerebro, columna total y pelvis.

Las imágenes obtenidas evidenciaron tuberculosis cerebral, con hallazgo de meningitis, tuberculomas e hidrocefalia (figura 1), tuberculosis medular con presencia de colecciones leptomeníngeas y radiculitis (figura 2), y tuberculosis osteomuscular con sinovitis, bursitis y miositis (figura 3).

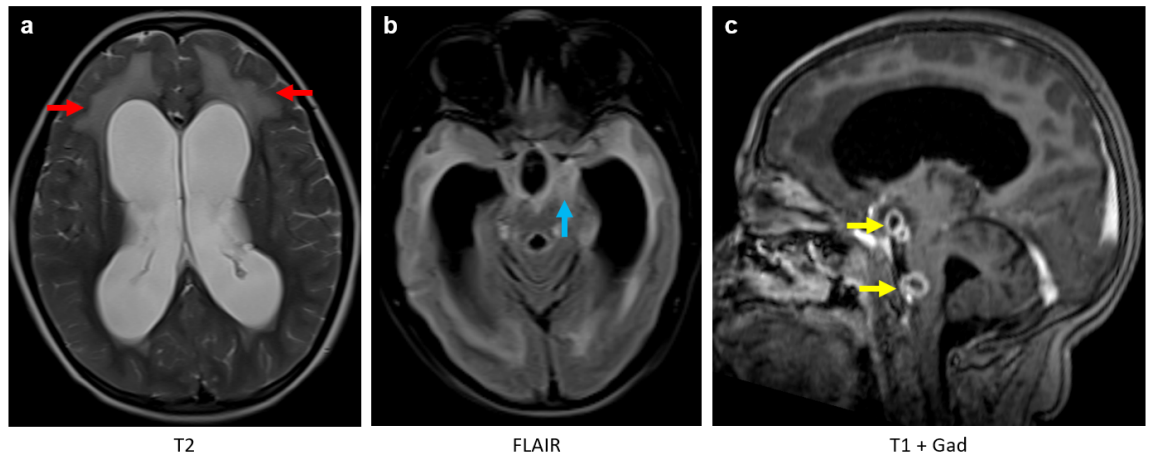


Figura 1. Resonancia magnética cerebral. Imágenes axiales potenciadas en T2 (a), FLAIR (b) y coronales T1 después del uso de gadolinio (c). Hidrocefalia no obstructiva supra e infratentorial con hiperintensidades de la sustancia blanca periventricular (flecha roja) correspondiente a edema transependimario por actividad hidrocefálica. Aumento de la intensidad de señal en las meninges de la base del cráneo (flecha azul) como causa principal de la hidrocefalia por obstrucción del flujo cefalorraquídeo y disminución en su absorción. Se detectaron dos lesiones extraaxiales con realce en anillo, correspondientes a focos de tuberculomas (flechas amarillas).

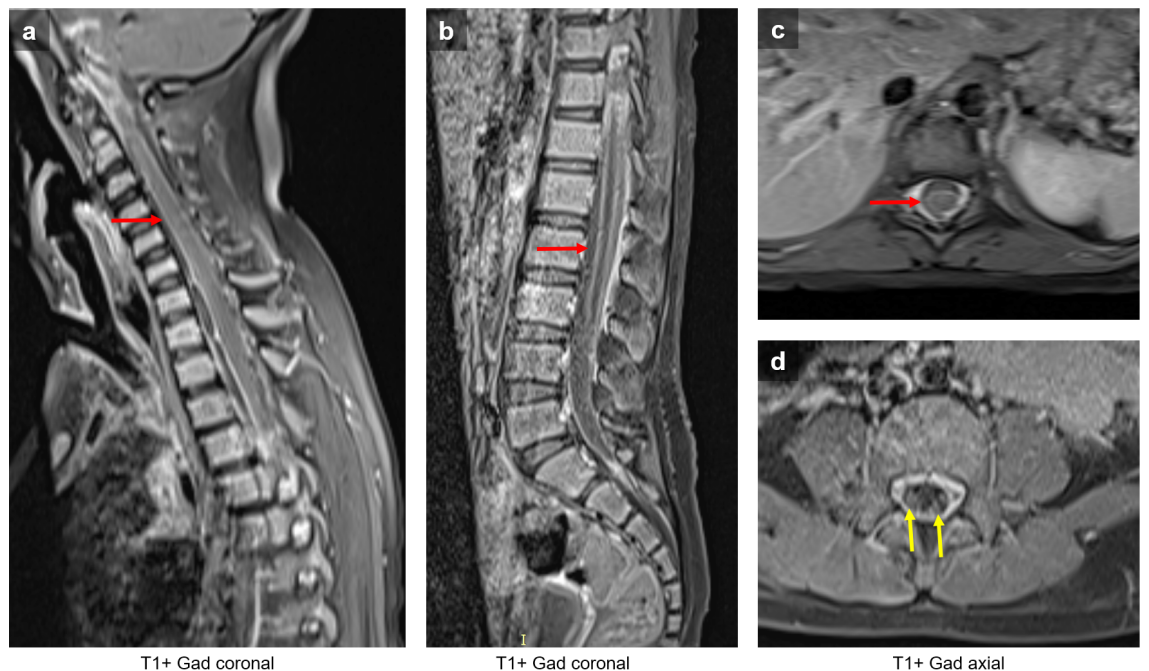


Figura 2. Resonancia magnética de columna. Imágenes sagitales (a y b) y axiales a nivel torácico (c) y lumbar (d) potenciadas en T1 después del uso de gadolinio. Realce meníngeo en los segmentos cervicales, torácico y lumbar (flecha roja) con realce de las raíces (flecha amarilla)

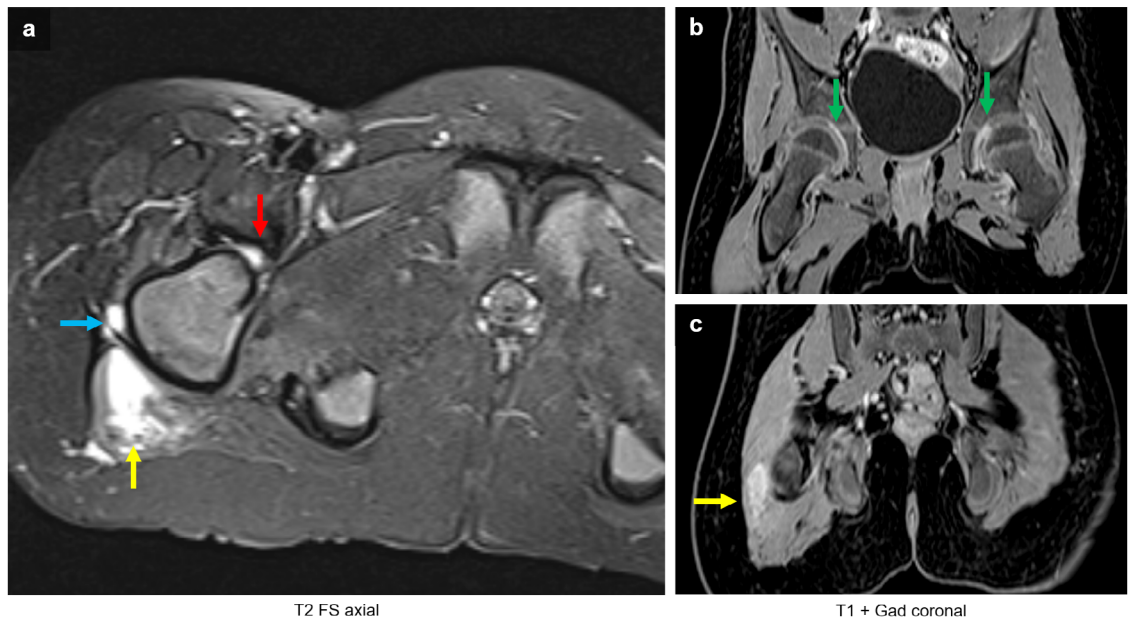


Figura 3. Resonancia magnética de pelvis. Imagen axial potenciada en T2 con saturación grasa (a) y coronales potenciada en T1 después del uso de contraste (b y c). Edema del margen lateral del musculo glúteo mayor derecho (flecha amarilla) y de vasto lateral del cuádriceps ipsilateral (flecha azul). Nótese la presencia de derrame articular coxofemoral (flecha roja) con realce después del uso de contraste indicativo de sinovitis bilateral (flecha verde).

La niña recibió tratamiento con isoniacida, rifampicina, pirazinamida y etambutol (fases 1 y 2) durante seis meses, y con prednisolona, levitiracetam (como anticonvulsivante), morfina y amitriptilina para el manejo del dolor somático y el neuropático, y baclofeno y clonazepam para tratar la espasticidad.

Se descartó una inmunodeficiencia primaria o adquirida (HIV no reactivo, niveles de inmunoglobulinas y complemento normales). Sin embargo, presentó una evolución tórpida, con secuelas neurológicas muy incapacitantes por la lesión cerebral extensa (deterioro cognitivo, espasticidad, movimientos anormales y epilepsia), lo que significó dependencia en todas las actividades de autocuidado, pues hubo necesidad de ventriculostomía externa, gastrostomía y traqueostomía. Además, la paciente tuvo secuelas osteomusculares, entre ellas, contracturas articulares, retracciones en cadera y rodilla, y dolor neuropático atribuido a radiculitis.

En una junta interdisciplinaria, se decidió que la paciente debía recibir cuidado paliativo y se le dio egreso con un programa de cuidado en casa.

El diagnóstico de tuberculosis extrapulmonar constituye un reto y el estudio con imágenes permite orientar el diagnóstico (1,7).

Consideraciones éticas

Se obtuvo el consentimiento informado de los padres de la paciente y el aval del Comité Institucional de Revisión de Ética Humana de la Universidad del Valle (CIREH) (código ERC 006 – 020).

Referencias

1. Kritsaneepaiboon S, Andres MM, Tatco VR, Lim CC, Concepcion ND. Extrapulmonary involvement in pediatric tuberculosis. *Pediatr Radiol.* 2017;47:1249-59. <https://doi.org/10.1007/s00247-017-3867-0>

2. Yáñez-Lema G, Toapanta-Guayta B, Ramírez-Jaramillo E, Zambrano-Leal M. Tuberculosis meníngea en un paciente pediátrico: reporte de un caso clínico. *Rev Ecuatoriana Neurología*. 2021;30:218-22. <https://doi.org/10.46997/revecuatneurol30100218>
3. Sepúlveda EF, Yunda LI, Herrera KM, Moreno G. Extrapulmonary tuberculosis in Colombian children: Epidemiological and clinical data in a reference hospital. *Int J Mycobacteriol*. 2017;6:132. https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_65_17
4. Martínez L, Vázquez S, Flóres M de LM, Notejane M, Zabala C, Giachetto G, *et al*. Tuberculosis extra-pulmonar en niños bajo 15 años de edad internados en el Centro Hospitalario Pereira Rossell, Uruguay. *Rev Chilena Infectol*. 2020;37:577-83. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000500577>
5. Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, Cohn DL, Daley CL, Desmond E, *et al*. Official American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of tuberculosis in adults and children. *Clin Infect Dis*. 2017;64:e1-33. <https://academic.oup.com/cid/article/64/2/111/2811357>
6. Niederbacher-Velásquez J. Tuberculosis extrapulmonar en niños. *Neumol Pediatr*. 2015;10:160-8.
7. Rodríguez-Takeuchi SY, Renjifo ME, Medina FJ. Extrapulmonary tuberculosis: Pathophysiology and imaging findings. *Radiographics*. 2019;39:2023-37. <https://doi.org/10.1148/rg.2019190109>
8. Gray-Lugo M, Cedi-Zamudio S, Guerrero-Avenida GM, Gómez-Apo E. Espectro imagenológico de la tuberculosis en el sistema nervioso central. *An Radiol México*. 2017;15:294-307.
9. Mezocho A, Thakur K, Vinnard C. Tuberculous meningitis in children and adults: New insights for an ancient foe. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2017;17. <https://doi.org/10.1007/s11910-017-0796-0>
10. Kilborn T, van Rensburg PJ, Candy S. Pediatric and adult spinal tuberculosis: Imaging and pathophysiology. *Neuroimaging Clin N Am*. 2015;25:209-31. <https://doi.org/10.1016/j.nic.2015.01.002>

Case report

Bacteremia after *Bacillus clausii* administration for the treatment of acute diarrhea: A case report

Juan Pablo García¹, John Alexander Alzate², Julián Andrés Hoyos², Edilberto Cristancho³

¹ Semillero de Investigación de Medicina Interna, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

² Departamento de Medicina Interna, Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira, Colombia

³ Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario San Jorge, Pereira, Colombia

Bacillus clausii is a gram-positive rod used as a probiotic to treat diarrhea and the side effects of antibiotics such as pseudomembranous colitis. We report a case of *B. clausii* bacteremia in a non-immunocompromised patient with active peptic ulcer disease and acute diarrhea. The probiotic was administered during the patient's hospitalization due to diarrhea of infectious origin. *B. clausii* was identified in the bloodstream of the patient through Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight (MALDI-TOF) days after her discharge. Given the wide use of probiotics, we alert clinicians to consider this microorganism as a causative agent when signs of systemic infection, metabolic compromise, and hemodynamic instability establish after its administration and no pathogens have been identified that could explain the clinical course.

Keywords: *Bacillus clausii*; bacteremia; diarrhea; probiotics; gram-positive bacteria.

Bacteriemia tras la administración de *Bacillus clausii* para el tratamiento de la diarrea aguda: reporte de un caso

Bacillus clausii es un bacilo Gram positivo usado como probiótico para tratar la diarrea y efectos adversos de los antibióticos, como la colitis pseudomembranosa. Se reporta un caso de bacteriemia por *B. clausii* en una paciente inmunocompetente con enfermedad ulcerosa péptica activa y diarrea aguda. El probiótico le fue administrado durante la hospitalización debido al origen infeccioso de la diarrea. *B. clausii* se identificó en el torrente sanguíneo de la paciente, utilizando espectrometría de desorción/ionización mediante láser asistido por matriz (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization*, MALDI), acoplada a un detector de iones (*Time of Flight*, TOF) (MALDI-TOF), días después de haber sido dada de alta.

Dado el amplio uso de los probióticos, alertamos a los clínicos para que consideren este microorganismo como agente causal cuando se detecten signos de infección sistémica, compromiso metabólico, e inestabilidad hemodinámica tras su administración, y no se haya identificado ningún patógeno que pueda explicar el cuadro clínico.

Palabras clave: *Bacillus clausii*; bacteriemia; diarrea; probióticos, bacterias Gram positivas.

Bacillus clausii is a gram-positive, spore-forming rod, widely used as a probiotic (1). Probiotics have been used for hundreds of years to treat different diseases. Since the 1960s they have been used to treat viral diarrhea in children and the side effects of antibiotic administration (2). Antibiotic-associated side effects and *Clostridioides difficile* diarrhea are well-known scenarios where probiotics are proven to be efficient (3). Recent studies on the safety of *B. clausii* administration have concluded that it has intrinsic resistance mechanisms to some antibiotics (e.g. macrolides), but no toxin-producing genes or transferrable antimicrobial resistance, which makes it very safe (4,5). However, other studies have shown no related side effects linked to its use (6-8), and, on the other hand, side effects have been inconsistently reported and not adequately assessed. Anyway the World Health Organization has acknowledged probiotics might be responsible for systemic infections and deleterious metabolic activity (9).

Ethical considerations

The patient gave her informed consent to access and submit her clinical data as a case report for scientific purposes. We submitted the manuscript and the informed consent to the ethics committee at *Universidad Tecnológica de Pereira* and obtained its endorsement to publish the case.

Received: 02/07/2020
Accepted: 04/03/2021
Published: 04/03/2021

Citation:

García JP, Hoyos JA, Alzate JA, Cristancho E. Bacteremia after *Bacillus clausii* administration for the treatment of acute diarrhea: a case report. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):13-20. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5662>

Corresponding author:

Juan Pablo García, Carrera 23 N° 13-12, Camino de Álamos, Pereira, Colombia
Teléfono: (321) 741 1310
juan.garcia@utp.edu.co

Author contributions:

John Alexander Alzate: attending physician and idea of presenting the case report
Juan Pablo García: reviewed the patient's record to build up the case report and was directly involved with the patient's in-hospital attention.
Julián Andrés Hoyos: reviewed the patient's record to build up the case report, validated the laboratory results according to the patient's clinical course, and assessed the antimicrobial therapy administered to the patient
Edilberto Cristancho: re-certified the laboratory results and the microbiology samples and cultures
All authors read, edited, wrote, and approved the final manuscript.

Funding:

None.

Conflicts of interest:

Authors declared not having any conflicts of interest.

Table 1. Blood analysis, renal function, electrolyte control, and hemostatic parameters

	Previous to admission	Admission day	Reference values
White blood cells (cell/ml)	10,510	8,080	4,500 - 10,000
Neutrophils (cell/ μ l)	8,600	6,230	2,200 - 6,500
Hemoglobin (g/dl)	13.5	14.3	13.5 - 17.5
Platelets (cell/ μ l)	198,000	240,000	150,000 - 350,000
Chloride (mmol/L)	79	76	98 - 107
Potassium (mmol/L)	2.2	2	3.6 - 5
Sodium (mmol/L)	122	122	137 - 145
Glucose (mg/dl)	98	105	60 - 110
Creatinine (mg/dl)		0.3	0.66 - 1.25
Blood urea nitrogen (mg/dl)		9	9 - 21
Thromboplastin partial time (s)		30.1	23.6 - 34.8
Prothrombin time (s)		15.3	11 - 15

Case report

An 87-year-old woman arrived at the emergency room of a third-level hospital in Colombia reporting 12 days of watery, abundant, fetid diarrhea accompanied by brown-colored vomit and melena. She was referred from a first-level hospital with several laboratory tests completed. After admission, critical care clinicians evaluated the patient and admitted her to the intermediate care unit. Her medical history included arterial hypertension, chronic obstructive lung disease (COPD), and a cholecystectomy.

The patient appeared somnolent throughout the initial physical evaluation. She also had elevated systolic blood pressure (150/80 mm Hg) and tachypnea (22 breaths per minute), she had no fever (36,1°C), her pulse was 80 beats per minute, her oxygen saturation 97%, the Glasgow Coma Scale score was 13/15, she had dried oral mucosa and rales in both of her pulmonary fields. The examination was otherwise normal.

The previous laboratory findings and those during the patient's admission are summarized in table 1. We initially administered ampicillin/sulbactam (1.5 grams every six hours) as *Klebsiella pneumoniae* was documented in a urine culture brought by the patient (taken five days before admission) and bacterial diarrhea was suspected. There was no previous or recent documentation of any urinary symptoms and, therefore, asymptomatic bacteriuria was suspected.

Two days later, an upper gastrointestinal endoscopy was done. It showed three Forrest Class III gastric ulcers for which proton pump inhibitors were administered. Sodium, potassium, and water deficits were in constant reposition. The patient did not present new episodes of melena or vomit, only occasional diarrheic depositions during her stay at the intermediate care unit.

Based on her clinical evolution, the patient was then transferred to the internal medicine unit ten days after admission. She appeared disorientated, but no additional signs or symptoms were present, aside from diarrheic depositions. An astringent diet was started but abdominal pain and diarrhea persisted. The internal medicine physician decided to prescribe an Enterogermina™ probiotic (2 billion/5 ml *B. clausii* spore suspension, strains: SIN, O/C, T, and N/R) every six hours as of the 16th day of her hospital stance.

On day 19, we interviewed the patient again in search of urinary symptoms and she reported having dysuria and abdominal pain, which she associated with a previous bladder catheterization. At this point, urine analysis, Gram stain, culture, and antimicrobial susceptibility testing were done. The urine analysis revealed positive leukocyte esterase, pyuria, and bacteriuria. The

Gram stain identified a Gram-negative rod characterized three days later in the urine culture as *Escherichia coli* with an inhibitor-resistance TEM (IRT) pattern as shown by evidence of resistance to ampicillin (MIC ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$), ampicillin/sulbactam (MIC ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$), and preserved sensibility to all cephalosporins. We established a diagnosis of probable urinary tract infection (UTI) and, given that the antimicrobial susceptibility testing results were only available 3 days later, we started the empirical administration of cephalothin (1 g/6 h) pending results.

On the 20th day of the hospital stay, the patient began shivering, sweating, and did not appear well. Her heart rate was 137 beats per minute, her respiratory rate was 30 breaths per minute, her temperature was 38.7 °C, her blood pressure was 89/48 mm Hg, and her oxygen saturation was 88% without oxygen support. There were signs of phlebitis on the right upper limb where the peripheral catheter was placed. The blood analysis showed a white blood cell count of 9,020/mm³ [4,500–10,000], neutrophilia of 89%, hemoglobin of 9.8 g/dl [12–15.5], and C-reactive protein of 6.3 mg/dl [0–5] (table 2). A pair of anaerobic and aerobic blood cultures were drawn from peripheral intravenous access. Cephalothin was suspended and intravenous vancomycin (1 g/12 h) and cefepime (1 g/12 h) were started to target microorganisms responsible for sepsis in the context of a Gram-negative rod UTI and Gram-positive cocci phlebitis. Supplementary oxygen was administered by nasal cannula due to low oxygen arterial pressure. Figure 1 summarizes the clinical course after the administration of Enterogermina™.

Table 2. Laboratory and microbiology test results on the 20th day of hospital stance

	20 th day of hospital stance	26 th day of hospital stance	Reference values
White blood cells (cell/ml)	9,020	4,960	4,500 - 10,000
Neutrophils (cell/ μl)	7,810	2,460	2,200 - 6,500
Hemoglobin (g/dl)	9.8	10.9	13.5 - 17.5
Mean corpuscular volume (fl)	85.5	83.4	82 - 96
Red cell distribution width (%)	14.4	14.5	11 - 15.5
Platelets (cell/ μl)	257,000	246,000	150,000 - 350,000
C-reactive protein (mg/dl)	6.3	-	0 - 5
Serum creatinine (mg/dl)	0.5	-	0.52 - 1.04
Blood urea nitrogen (mg/dl)	8	-	7 - 18
Arterial blood gases (20th day)			
pH	7.48		
pCO ₂ (mm Hg)	24		35 - 45
pO ₂ (mm Hg)	66		80 - 110
HCO ₃ ⁻ std (mmol/L)	21.1		-
A-aDO ₂	26		-
Potassium (mmol/L)	3		3,6 - 5
Sodium (mmol/L)	130		137 - 145
Glucose (mg/dl)	122		60 - 110
Blood cultures (20th day)			
Aerobic	Gram-positive rods		None
Anaerobic	Gram-positive rods		None
Gastrointestinal Film Array Panel™ (22 nd day)			
Enterogaagregative and Enteropathogenic <i>E. coli</i>			

Day 16 of medical stance

Enterogermina®
administration

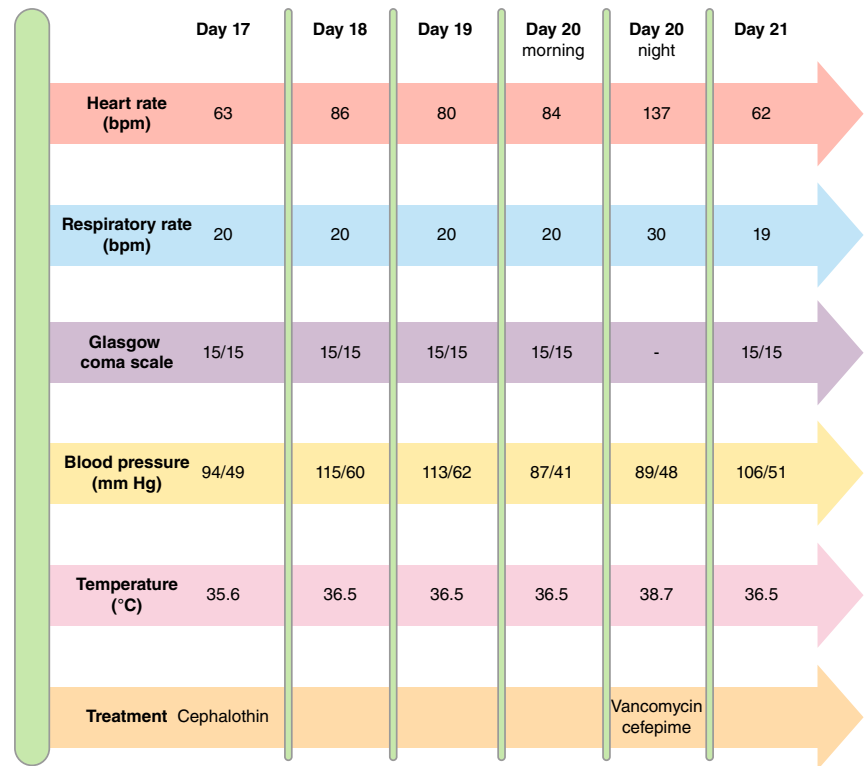


Figure 1. Summary of bacteremia course

One day later, the patient's vital signs were back to normal. She tolerated oral intake, but still had diarrhea. Periodically, we assessed the renal function in creatinine and blood urea nitrogen (BUN) samples, which were never out of range. However, abdominal pain and diarrhea persisted. On day 22, we did coprology, stool culture, gastrointestinal FilmArray™, colonoscopy, and abdominal ultrasonography in search of the infectious source of diarrhea. Four days later, the FilmArray™ was positive for enteroaggregative and enteropathogenic *E. coli* (Protocol: Stool FA v2.3, Pouch: GI Panel v2.1). The other microbiological tests and diagnostic images were normal. By the 26th day, a new complete blood cell count was within normal range, except for the persistence of mild anemia.

The results from the blood culture Gram stain were available on day 22 (figure 2), upon which we added intravenous ampicillin (2 g/4 h) to the previous antimicrobial therapy to target the Gram-positive rods identified. An infectious disease specialist assessed the therapy and decided to start intravenous gentamicin (5 m/kg in two doses per day for 7 days), continue the recently added ampicillin, and suspend the empiric therapy with vancomycin and cefepime. The patient's clinical course improved and her vital signs were within normal range. The last episode of diarrhea was on the 27th day. The 7-day antimicrobial treatment was completed and supplementary oxygen was gradually removed. The patient was discharged on the 33rd day with complete clinical recovery.

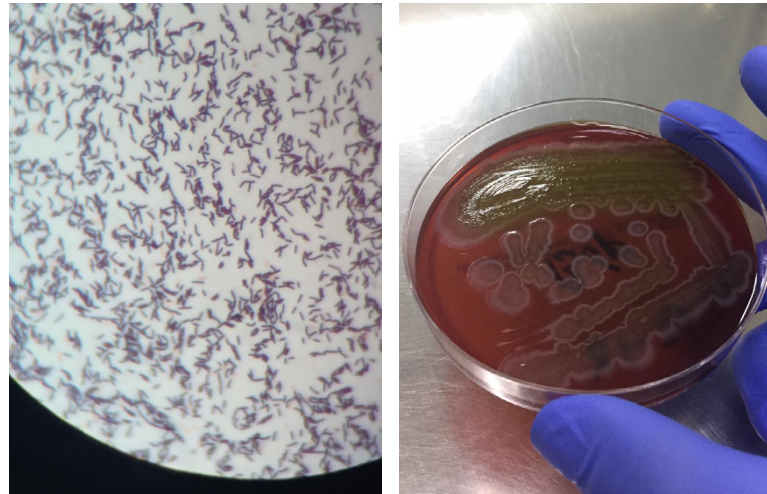


Figure 2. Gram stain, blood culture, and MALDI-TOF results. Left: Blood culture, Gram stain, 100X. Right: Gram-positive rod colonies that grew on blood culture in solid medium, Agar Columbia (BioMérieux brand). MALDI-TOF result: Type of sample: blood culture. Identified microorganism: *Bacillus clausii*. This is a sensitive and high-precision technique for the identification of microorganisms through mass spectrometry analysis. Methods sequencing the 16S subunit have a 98% concordance for microorganism identification (Score: 2.4, highly reliable identification at genera and species levels)

As the typification of the Gram-positive rod identified in the blood culture Gram stain was not possible, we resorted to MALDI-TOF spectrometry whose results were available 2 days after the patient was discharged reporting the presence of *B. clausii* (figure 2).

Discussion

We reported the case of an 87-year-old female patient with upper gastrointestinal bleeding, diarrhea of infectious origin, and recent use of proton pump inhibitors in whom probiotics containing *B. clausii* were administered and later identified as the cause of bacteremia and hemodynamic instability. We discuss here previously published case reports of bacteremia due to *B. clausii* administration, recommended scenarios to administer probiotics, and the potential risk factors/clinical profiles that could make a patient susceptible to bacteremia caused by probiotics containing *Bacillus* spp.

The systemic infections, especially *Bacillus* spp. bacteremia, are rare conditions and, frequently, they are considered contaminant bacteria in blood cultures. The most common agent of *Bacillus* spp. bacteremia is *Bacillus cereus* but there are reports of bacteremia by probiotics containing *Bacillus subtilis* and *B. clausii* like the case we are now reporting (10,11).

Recently, three cases of immunocompromised patients who developed clinically significant bloodstream infections by *B. clausii* were reported (12). Two patients had stage IV lung cancer and the third one presented with septic shock due to ischemic colitis. As in these cases, our patient also had a fever and an increased count of white blood cells. While these patients died from other causes not related to *B. clausii* bacteremia, our patient survived throughout the hospital stance after adequate treatment of upper gastrointestinal bleeding and timely antimicrobial therapy. A limitation in our case report is the absence of antimicrobial susceptibility testing on *B. clausii*.

Conversely, the isolate from one of the reported patients was penicillin-, clindamycin-, and tetracycline-resistant.

Princess, *et al.* published a case report of bacteremia in an immunocompetent adult with acute diarrhea under broad-spectrum antibiotics prescribed to treat *K. pneumoniae* respiratory and surgical wound infection in a patient that had evacuating craniectomy after cerebral vein thrombosis and intraparenchymal bleeding (13). The patient also had a fever after probiotic administration. *B. clausii* was initially isolated in blood cultures as a Gram-positive rod and identified through a MALDI-TOF assay, as was our case. We treated our patient with ampicillin plus gentamicin while Princess, *et al.* prescribed teicoplanin; our patient's isolate was penicillin-resistant only (MIC: 32 µg/ml) but, besides vancomycin and ciprofloxacin, no other antibiotics were tested given there were no interpretative guidelines. Another limitation of our study was that no control blood culture was done to assess the microbiological response to treatment.

Joshi, *et al.* reported the case of a pediatric patient with congenital heart disease and recurrent lower respiratory tract infections that received *B. clausii* probiotic to treat acute diarrhea (14) and was treated with IV vancomycin. The isolate from three blood culture samples was identified through MALDI-TOF. The strain was not associated with penicillin resistance but it is noteworthy that *B. clausii* bacteremia recurred although there was no repeated probiotic dose and the agent persisted in the blood culture despite appropriate vancomycin IV therapy.

The main conclusion from this case series is the importance of being cautious when using probiotics, especially if there is a risk of a fatal outcome. Our case report adds to a previous one of *B. clausii* bacteremia with no underlying immunocompromising conditions such as active cancer or severe malnourishment. Even though there is no formal description of risk factors to develop infections by this probiotic, we can conclude that they may occur irrespective of the patient's immune status. In table 3 we summarize the profile of the patients reported highlighting those characteristics that may behave as risk factors and encouraging awareness among attending physicians. It has yet to be determined if bacteremia by *B. clausii* could be related to worse outcomes as there are now two out of six patients who succumbed to conditions apparently not related to probiotic administration. The conditions related to an increased risk of bacteremia due to other types of probiotics (e.g., *Lactobacillus*) are older age, congenital immune deficiencies, treatment with antitumoral chemotherapy or ionizing radiation, extensive gastrointestinal ulcers, treatments with broad-spectrum antibiotics, and diabetes (15).

Table 3. Profile of patients documented with bacteremia due to *Bacillus clausii* administration

Authors	Year of publication	Age	Patients' profile	Treatment	Antimicrobial susceptibility
Gargar JD, <i>et al.</i>	2019	ND	Stage IV lung cancer and pneumonia	ND	One case reported resistance to clindamycin, penicillin, and tetracycline.
Gargar JD, <i>et al.</i>	2019	ND	Stage IV lung cancer and pneumonia	ND	
Gargar JD, <i>et al.</i>	2019	ND	Septic shock from ischemic colitis	ND	
Hubiche T, <i>et al.</i>	2019	5 months	Congenital heart disease, malnourishment, recurrent respiratory tract infections, repeated hospital/ICU admissions, and broad-spectrum antibiotics	Vancomycin	Susceptibility to vancomycin and penicillin (E-test)
Princess, <i>et al.</i>	2020	Middle aged	Type 2 diabetes, decompressive craniotomy, and broad-spectrum antibiotics	Teicoplanin	Susceptibility to ciprofloxacin and vancomycin. Resistance to penicillin (E-test)

Bacillus clausii safety profile has been confirmed in randomized control trials for efficient treatment of acute diarrhea related to viral infection, *Clostridioides difficile* infection, and antibiotic-associated diarrhea (16). Notwithstanding the published recommendations, the risks of *Bacillus* probiotics include the production of enteric toxins and toxicity for normal cells (17). Physicians are more aware of probiotics' benefits than of their risks, and, therefore, further research and case reporting are necessary to identify their potential harm in certain clinical contexts. We observed that Enterogermina™ was not efficient to treat our patient's diarrhea by enteropathogenic and enteroaggregative *E. coli* as diarrhea persisted for 11 days after its administration. Enterogermina™ (*Bacillus clausii*) administration in patients with recent upper gastrointestinal bleeding, acute diarrhea, and the use of proton pump inhibitors, which can diminish stomach pH and favor bacterial colonization, may lead to bacteremia through direct invasion or gut translocation. Therefore, *B. clausii* should be considered as a possible agent in the presence of systemic signs of infection, metabolic compromise, and hemodynamic instability when no other pathogens are identified to explain the clinical course. In such cases, the treatment should be aimed at fighting this Gram-positive rod with antibiotics other than clindamycin, erythromycin, and chloramphenicol, as *B. clausii* has intrinsic resistance against them (4).

References

1. Duc LH, Hong HA, Barbosa TM, Henriques AO, Cutting SM. Characterization of *Bacillus* probiotics available for human use. *Appl Environ Microbiol*. 2004;70:2161-71. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.4.2161>
2. Jayanthi N, Ratna MS. *Bacillus clausii* - The probiotic of choice in the treatment of diarrhoea. *J Yoga Phys Ther*. 2015;5:1-4. <https://doi.org/10.4172/2157-7595.1000211>
3. Guarino A, Guandalini S, Lo Vecchio A. Probiotics for prevention and treatment of diarrhea. *J Clin Gastroenterol*. 2015;49(Suppl.1):S37-45. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000349>
4. Lakshmi SG, Jayanthi N, Saravanan M, Ratna MS. Safety assesment of *Bacillus clausii* UBBC07, a spore forming probiotic. *Toxicol Rep*. 2017;4:62-71. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.12.004>
5. Upadrasta A, Pitta S, Madempudi RS. Draft genome sequence of *Bacillus clausii* UBBC07, a spore-forming probiotic strain. *Genome Announc*. 2016;4:4-5. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00235-16>
6. Sudha MR, Bhonagiri S, Kumar MA. Efficacy of *Bacillus clausii* strain UBBC-07 in the treatment of patients suffering from acute diarrhoea. *Benef Microbes*. 2013;4:211-6. <https://doi.org/10.3920/BM2012.0034>
7. Ianiro G, Rizzatti G, Plomer M, Lopetuso L, Scaldaferrri F, Franceschi F, *et al.* *Bacillus clausii* for the treatment of acute diarrhea in children: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients*. 2018;10:1074. <https://doi.org/10.3390/nu10081074>
8. Drugs.com. *Bacillus clausii*. Wolters Kluwer Health; 2018. Consulted: Accessed on June 10, 2021. Available from: <https://www.drugs.com/npp/bacillus-clausii.html>
9. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clin Infect Dis*. 2015;60 (Suppl. 2):S129-34. <https://doi.org/10.1093/cid/civ085>
10. Bennet J, Dolin R, Blaser M. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th edition. Philadelphia: Elsevier; 2020. p. 2571-3.
11. Oggioni M, Pozzi G, Valensin P, Galieni P, Bigazzi C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*. *J Clin Microbiol*. 1998;36:325-6. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.1.325-326.1998>
12. Gargar JD, Divinagracia RM. When good things go bad: A case series of bacteremia from probiotics. *Chest*. 2019;155:92A. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2019.02.091>
13. Princess I, Natarajan T, Ghosh S. When good bacteria behave badly: A case report of *Bacillus clausii* sepsis in an immunocompetent adult. *Access Microbiol*. 2020;2:1-3. <https://doi.org/10.1099/acmi.0.000097>

14. Sangeeta J, Soonu U, Supratim S, Suverna K, Anjali S. *Bacillus clausii* septicemia in a pediatric patient after treatment with probiotics. *Pediatr Infect Dis J*. 2019;38:228-30. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002350>
15. Brunser O. Inocuidad, prevención y riesgos de los probióticos. *Rev Chil Pediatr*. 2017;88:534-40. <https://doi.org/10.4067/S0370-41062017000400015>
16. Castro J de, Kesavelu D, Lahiri KR, Chaijitraruch N, Chongsrisawat V, Jog PP, *et al*. Recommendations for the adjuvant use of the poly-antibiotic – resistant probiotic *Bacillus clausii* (O/C, SIN, N/R, T) in acute, chronic, and antibiotic-associated diarrhea in children: Consensus from Asian experts. *Trop Dis Travel Med Vaccines*. 2020;4:1-15. <https://doi.org/10.1186/s40794-020-00120-4>
17. Paik NLWKH. *Bacillus* strains as human probiotics: Characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food Sci Biotechnol*. 2019;28:1297-305. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00691-9>

Essay

Pitfalls and perils of survival analysis under incorrect assumptions: the case of COVID-19 data

Daniele Piovani^{1,2}, Georgios K. Nikolopoulos², Stefanos Bonovas^{1,3}

¹ Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Pieve Emanuele, Milan, Italy

² Medical School, University of Cyprus, Nicosia, Cyprus

³ IRCCS Humanitas Research Hospital, Rozzano, Milan, Italy

Non-parametric survival analysis has become a very popular statistical method in current medical research. However, resorting to survival analysis when its fundamental assumptions are not fulfilled can severely bias the results. Currently, hundreds of clinical studies are using survival methods to investigate factors potentially associated with the prognosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) and test new preventive and therapeutic strategies. In the pandemic era, it is more critical than ever to base decision-making on evidence and rely on solid statistical methods, but this is not always the case. Serious methodological errors have been identified in recent seminal studies about COVID-19: One reporting outcomes of patients treated with remdesivir and another one on the epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill patients.

High-quality evidence is essential to inform clinicians about optimal COVID-19 therapies and policymakers about the true effect of preventive measures aiming to tackle the pandemic. Though timely evidence is needed, we should encourage the appropriate application of survival analysis methods and careful peer-review to avoid publishing flawed results, which could affect decision-making.

In this paper, we recapitulate the basic assumptions underlying non-parametric survival analysis and frequent errors in its application and discuss how to handle data on COVID-19.

Keywords: Coronavirus infections; betacoronavirus; severe acute respiratory syndrome; survival analysis; data interpretation, statistical.

Escollos y peligros del análisis de supervivencia: el caso de los datos de COVID-19

El análisis de supervivencia es un método estadístico muy popular en la investigación médica actual. Sin embargo, el recurrir al análisis de supervivencia cuando no se cumplen sus supuestos fundamentales puede sesgar gravemente los resultados. Actualmente, cientos de estudios clínicos están utilizando esta metodología para estudiar los factores potencialmente asociados con el pronóstico de la COVID-19 y probar nuevas estrategias preventivas y terapéuticas.

En la pandemia actual es más importante que nunca que las decisiones se basen en pruebas y en métodos estadísticos sólidos. Sin embargo, este no es siempre el caso. Se han detectado errores metodológicos graves en estudios seminales recientes sobre COVID-19: uno que informa los resultados de los pacientes tratados con remdesivir y otro sobre la epidemiología, el curso clínico y los resultados de los pacientes críticamente enfermos.

La evidencia de calidad es esencial para informar a los médicos sobre las terapias óptimas contra la enfermedad y, a los legisladores, sobre el verdadero efecto de las medidas preventivas destinadas a abordar la pandemia. Aunque se necesitan pruebas oportunas, debemos fomentar la aplicación adecuada de los métodos de análisis de supervivencia y una cuidadosa revisión por pares para evitar la publicación de resultados defectuosos que pueden afectar la adopción de decisiones.

En este artículo, recapitulamos los supuestos básicos que subyacen al análisis de supervivencia y los errores frecuentes en su aplicación, y discutimos cómo manejar los datos sobre la COVID-19.

Palabras clave: infecciones por coronavirus; betacoronavirus; síndrome respiratorio agudo grave; análisis de supervivencia; interpretación estadística de datos.

Non-parametric survival analyses are sophisticated statistical techniques that have become very popular in current medical research (1). These special methods are useful in studies with time-to-event data and can be applied to observational and experimental research alike. In such research studies, the outcome of interest can be “negative”, such as death or heart attack, or “positive”, such as hospital discharge, while an important feature of time-to-event data is that at the end of the follow-up time the outcome may not have occurred for all patients (2).

Received: 19/01/2021

Accepted: 13/03/2021

Published: 28/05/2021

Citation:

Piovani D, Nikolopoulos GK, Bonovas S. Pitfalls and perils of survival analysis under incorrect assumptions: the case of COVID-19 data. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):21-8.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.5987>

Corresponding author:

Daniele Piovani, Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Via Rita Levi Montalcini 4, 20090 Pieve Emanuele, Milan, Italy
Telephone: (+39) (340) 366 5193
dpiovani@hotmail.com

Author contributions:

All authors contributed to the drafting of the manuscript and approved its final version.

Funding:

This work was not funded.

Conflicts of interest:

We declare no competing interests.

For the analysis of such data, we need to apply survival analysis methods; however, employing non-parametric survival analysis methods when their fundamental assumptions are not met can severely bias the results. In a recent study reporting outcomes in a cohort of patients hospitalized for severe COVID-19 and treated with remdesivir on a compassionate-use basis (3), the authors failed to appropriately consider the participants who died, thus overestimating the cumulative incidence of clinical improvement (4). Similar methodological errors have been identified in a seminal observational study on the epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill patients with laboratory-confirmed COVID-19 (5,6) and in influential randomized clinical trials conducted in other research fields (7,8).

Especially in the COVID-19 pandemic era, decision-making should be evidence-based and rely on solid statistical methods. Although the concepts presented in this paper are not novel, errors in handling survival data are still occurring frequently, even in leading medical journals (3-8). In this study, we recapitulate the basic assumptions underlying the most commonly used non-parametric methods for survival analysis in the medical field and discuss frequent errors in their application including scenarios of competing risks and a certain fallacy that may occur when studying COVID-19 or other acute infections.

Time-to-event data and censoring

In survival analysis, we analyze the numbers of participants who suffered the event of interest (i.e., a dichotomous variable of event status) and the times at which the events have occurred (i.e., a continuous variable, which reflects the time until a patient has the event of interest) (2).

Participants who have not experienced the event of interest before the end of the follow-up period are defined as “censored”, i.e., their observation period has ended before event occurrence. This is also called administrative censoring. In these participants, the probability to experience the event of interest after the date of censoring is unknown (9). Censoring may also happen when patients are lost to follow-up, have withdrawn from the study, or when other events have prevented further follow-up (i.e., competing events). In each of these cases, we have incomplete follow-up information (2).

Prior to any analysis, the dataset should be adequately compiled with a continuous variable reporting the time of follow-up and, typically, a categorical variable taking value zero if the follow-up has been censored, one if the event of interest has occurred, and other values if one or more (competing) events have prevented the observation of the event of interest. In this paper, we will refer to “right-censoring”, as this is the most frequent scenario encountered in the medical literature, but other types of censoring also exist.

Basic assumptions of non-parametric survival methods

Although alternative methods exist, estimating the survival probability of a group of patients is traditionally performed through the Kaplan-Meier method (10,11). This step function takes into account censoring and computes the proportion of patients surviving (i.e., not experiencing the event of interest) at each timepoint an event occurs until the end of the follow-up period (10,11). To correctly apply the Kaplan-Meier method and avoid flawed results, censoring should be “non-informative” (9,11), in other words, patients who are censored should have the same future risk for the occurrence of the event of interest,

conditional on exposure and covariates, as those who continue to be followed. This is referred to as “assumption of independent censoring,” which is often referred to as non-informative censoring, though the latter has a slightly different technical definition. If the risks are different, the censoring assumption is violated: Censoring the former group of patients can introduce bias when estimating the survival probability through the Kaplan-Meier method (11).

Often the aim of epidemiological studies is the formal comparison of the survival prospects between two or more groups of patients (e.g., receiving different treatments or having different baseline characteristics). The most popular survival analysis method for this purpose in medicine is the Cox proportional hazards model (12). This regression method is widely used for investigating the association between patients’ survival time and one or more categorical or continuous variables. A fundamental assumption is that the ratio of hazards of any two individuals (hazard is the instantaneous rate of event occurrence conditional on survival) should remain roughly constant at all the timepoints since baseline. This is often referred to as “proportional hazards assumption”; it is the baseline assumption for applying the log-rank test and the proportional Cox regression method (12).

Under this assumption, comparing the Kaplan-Meier curves of two subgroups of patients having different survival prospects should show approximately parallel functions while an important deviation from proportionality would determine a visible relative change in slope along time. As a consequence, when the proportionality assumption is not met, the estimated hazard ratios depend largely on the follow-up time (13). Proportionality can be checked through tests or graph-based methods based on Schoenfeld residuals. Previous studies on randomized controlled trials have shown that using a Cox regression model when this assumption is not met can systematically inflate the magnitude of the effect associated with a given treatment (14). Other appropriate methods to analyze survival data in case of non-proportional hazards also exist, such as parametric survival methods (e.g., Royston-Parmar model), which do not rely on this assumption (15).

Competing risks in survival analysis

On several occasions, the chance to observe the outcome of interest can be altered or prevented by the occurrence of a competing event (16). For instance, in a study investigating breast cancer recurrence, we might want to know whether the recurrence rate differs between two or more treatment groups. Death from any cause prior to breast cancer relapse (e.g., from a heart attack or stroke, or even from a traffic accident) is a “competing event” whose occurrence precludes the primary outcome of interest. Accordingly, we call the probability of these events “competing risks” because the probability of each competing event is regulated by the other competing events.

A similar competing risks scenario in COVID-19 could be observed in a study evaluating the effect of a certain vaccine on COVID-19-associated mortality. Especially very old people who were given priority in vaccination may die during the follow up from another cause without even being infected. Death associated with COVID-19 pneumonia and death from another cause are not independent events. When death answers to another cause, patient follow-up is interrupted and the probability of dying due to consequences of COVID-19 becomes zero. However, death is not a random event; patients who die from another cause might not have the same probability of dying from COVID-19 pneumonia as those who continue to be followed (e.g., patients who die are generally older

and with more comorbidities). Hence, censoring of patients who died for any other cause because the follow-up stops violates the independent censoring assumption (i.e., the event “death from another cause” is informative), thus biasing the cumulative incidence of death associated with COVID-19 pneumonia. On the contrary, if patients dying from other causes are not censored, we assume that it is possible to die due to the consequences of COVID-19 pneumonia after having already died – a completely unrealistic scenario.

How do we deal with competing risks in survival analysis?

The application of the Kaplan-Meier method is not appropriate in such cases; it can lead to flawed results (i.e., to an overestimation of the cumulative incidence of the event of interest) (17,18). Instead, estimating the cumulative incidence function through alternative methods is the correct methodological approach (19,20). The cumulative incidence function is a product of two probabilities: In this example, the first term would be the probability that death associated with COVID-19 happens up to time t , the second term would be the probability that this event is COVID-19-associated death (and not the competing event, i.e., death from another cause). Cumulative incidence function curves can be calculated and plotted for both COVID-19-associated death and death from another cause.

The cumulative incidence function can be seen also as the probability of observing the event of primary interest up to a certain timepoint (16). In other words, this method allows estimating the hazard of event occurrence while taking into account that one or more events could compete with the primary outcome of interest. In a scenario with no competing events, the Kaplan-Meier method and the cumulative incidence function approach would give exactly the same result.

A second important problem of using the Kaplan-Meier method in the presence of competing risks and informative censoring occurs when the aim of the study is to formally compare the survival probability between two or more groups. For example, in a randomized controlled trial, this error might bias not only the overall survival probability but also the absolute difference in risk between the treatment and comparator groups, thus distorting the number needed to treat and the number needed to harm (21). In observational studies, this could potentially bias the hazard ratio estimated through Cox proportional-hazards regression models.

For example, let's assume that in our previous example of COVID-19 vaccination, the aim was instead to formally compare vaccine A and vaccine B in terms of COVID-19-associated mortality. As already stated, censoring patients who die from another cause and using the Kaplan-Meier approach would overestimate the cumulative incidence of the event under scrutiny (i.e., COVID-19-associated death) in both patient groups. This could either inflate or deflate the absolute risk difference between groups depending on multiple factors, including the frequency and timing of competing events across comparison groups, and the actual magnitude of the risk difference (21). Additionally, if the study design was observational, unmeasured, or residual confounding could yield an additional distortion of the hazard ratio. This would occur if one or more characteristics of the patients are differentially associated with the probability of the event of interest (COVID-19-associated death) and of the competing event (death from another cause). The direction of this distortion is not easy to predict. The solution for this issue in the current example is to avoid using the Kaplan-Meier method and Cox

proportional-hazards regression and, instead, apply the Fine and Gray model, which appropriately considers the two sub-distribution cumulative incidence functions (i.e., of relapse and death) in the two groups of patients (22) or, alternatively, the cause-specific cumulative incidence function. In these studies, confounding should be addressed at the design stage by collecting well-known confounders and at the analysis stage by stratification matching or including confounders in the multivariable regression model. Given the observational nature of the data, residual confounding associated with unmeasured or unknown confounders cannot generally be excluded.

Competing-risks methods are being increasingly applied in the analysis of cause-of-death data to obtain real-world probabilities of death broken down by specific causes. This information is crucial for informing patients about the risks they face in certain conditions and for making evidence-based decisions about optimal therapies and the best healthcare resource allocation.

In literature, it has been proposed that competing-risks methods must be considered in the analysis when the percentage of patients having experienced the competing event is higher than that of patients having experienced the event of interest (23), or when the absolute percentage of patients having experienced the competing event is higher than 10 percent (16). Although competing-risks regression methods based on the cumulative incidence function, such as the Fine and Grey model, have been known for two decades (22), failing to appropriately account for competing risks in statistical analysis is not uncommon (7,8,14,21). However, is it always necessary to apply competing-risks regression in the analysis of time-to-event data with competing events?

The case of COVID-19 and other acute infections

Herein, we present a scenario in which the Kaplan-Meier method can be applied to correctly handle a special case of a competing event. We refer to acute infections requiring hospitalization such as for example, COVID-19 pneumonia. This example also applies to the COVID-19 studies previously mentioned (3-6).

We hypothesize a clinical study involving patients admitted to hospital for COVID-19 pneumonia in which the primary outcome is “mechanical ventilation or in-hospital death” within 28 days after admission. How should we analyze the data for patients who have been discharged alive?

A discharge event prevents the observation of the study outcome by interrupting the follow-up. Since the discharge is not a random event, censoring these patients (on the date of their discharge) would constitute informative censoring; this would lead to inflated results by overestimating the risk of “mechanical ventilation or in-hospital death” among patients admitted to the hospital for COVID-19 pneumonia (6).

An option to resolve the issue is to use the cumulative incidence function methodology. However, is it really necessary to use competing-risks analysis in this case? Let’s reconsider the previous example regarding the COVID-19 vaccine in which death for any cause was the competing event for COVID-19-associated death. These two events are both “negative” and the probability of dying from another cause is likely not independent of the study outcome. By using the cumulative incidence function, we quantitatively assess the extent of this association through the estimation of two distinct sub-distribution

cumulative hazard functions (one for the event of primary interest and one for the competing event), which correctly take into account the competitive nature of both events (16).

In the current example of critically ill adults with laboratory-confirmed COVID-19 admitted to hospitals in New York City (5), discharge (competing event) is the “opposite” of the primary outcome of interest (mechanical ventilation or in-hospital death) and the dependence between the two events is very clear. The probability of outcome occurrence at and after discharge is zero because the patient has recovered. If we could follow this patient after discharge, she/he would be event-free until the end of the observation period (28 days after admission to the hospital). This is not a proper competing-risks scenario because, in the short 28-day timeframe, COVID-19 can be considered an acute illness, and, once discharged, a patient will not relapse. For these reasons, in this example, a correct approach is to consider the patients discharged as censored at the end of the study follow-up (day 28) and use the Kaplan-Meier method (6).

The same approach also applies to the exactly specular scenario: Having “clinical improvement” as the primary outcome of interest and in-hospital death for COVID-19 as the competing event (3,4).

Recently, this simple method has been nicely applied by authors of randomized controlled trials on remdesivir (25,26), dexamethasone (27), hydroxychloroquine (28), and lopinavir/ritonavir (29) for the treatment of COVID-19 patients.

Discussion and conclusion

Nowadays, there are appropriate statistical methods and powerful software to correctly analyze time-to-event data in the presence or absence of competing risks (9-12,17,19,21,22). The choice of the approach used should be driven by the nature of the data and the scientific question itself. In general, the Kaplan-Meier method is not appropriate in circumstances where there are competing risks. This is particularly true if censoring is applied to competing events occurring with high frequency. Failure to account correctly for competing events can lead to overestimating the outcome occurrence and to flawed estimates of effect in clinical studies examining the effect of covariates (e.g., treatments or patient characteristics) on the incidence of the outcome of interest. When the outcome of the study is clinical improvement, this may lead to overestimating the beneficial effect of experimental drug treatment (3,4), thus giving credits to potentially ineffective drugs and leading to a waste of time and resources.

Survival analysis is increasingly employed in the current medical literature; however, authors often do not explain the method used to deal with censoring. Given the frequent occurrence of situations with competing risks and the biases resulting from incorrectly analyzed time-to-event (survival) data, manuscript reviewers should encourage researchers to use optimal statistical approaches. As we have shown, even the most influential journals in medicine are not immune to such issues (3-6). Readers of the medical literature should be aware of these potential problems and should look for information on censoring methods. To increase transparency, we advise that the method of censoring should be clearly reported in the methods sections and persons at risk should be always declared below the graphs that are plotting the survival probability or the cumulative incidence curves.

In the pandemic era, hundreds of observational studies and experimental trials are investigating factors associated with the prognosis of COVID-19 patients and testing new treatments (30,31). High-quality evidence is essential to inform clinicians about optimal COVID-19 therapies and policymakers about the true effect of preventive measures aiming to tackle the pandemic. Raising false expectations regarding treatments because of errors in the statistical methods is unacceptable and should be avoided at all costs, especially in these difficult times. Though timely evidence is needed, we should encourage the appropriate application of survival analysis methods and careful peer-review to avoid publishing flawed results, which could affect decision-making.

References

1. Horton NJ, Switzer SS. Statistical methods in the journal. *N Engl J Med.* 2005;353:1977-9. <https://doi.org/10.1056/NEJM200511033531823>
2. Machin D, Campbell MJ, Walters SJ. *Medical Statistics: A textbook for the health sciences*, 4th edition. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.; 2007. p.181-200.
3. Grein J, Ohmagari N, Shin D, Diaz G, Asperges E, Castagna A, *et al.* Compassionate use of remdesivir for patients with severe Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;382:2327-36. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2007016>
4. Bonovas S, Piovani D. Compassionate use of remdesivir in Covid-19. *N Engl J Med* 2020;382:e101. <https://doi.org/10.1056/NEJMc2015312>
5. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, Jacobson BA, Meyer BJ, Balough EM, *et al.* Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: A prospective cohort study. *Lancet.* 2020;395:1763-70. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31189-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31189-2)
6. Piovani D, Bonovas S. Study of critically ill patients with Covid-19 in New York City. *Lancet.* 2020;396:1064. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32072-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32072-9)
7. Wolkewitz M, Cooper B, Barnett AG, Binderet N, Schumacher M. Treatment of hospital-acquired pneumonia. *Lancet Infect Dis.* 2011;11:729. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70262-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70262-6)
8. Wolkewitz M, Harbarth S, Beyersmann J. Daily chlorhexidine bathing and hospital-acquired infection. *N Engl J Med.* 2013;368:2330-2. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1304820>
9. Altman DG, Bland JM. Time to event (survival) data. *BMJ.* 1997;317:468-9. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7156.468>
10. Kaplan EL, Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc.* 1958;53:457-81. <https://doi.org/10.2307/2281868>
11. Bland JM, Altman DG. Statistics notes: Survival probabilities (the Kaplan–Meier method). *BMJ.* 1998;317:1572. <https://doi.org/10.1136/bmj.317.7172.1572>
12. Cox DR. Regression models and life tables. *J R Stat Soc B.* 1972;34:187-220. <https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1972.tb00899.x>
13. Hernan MA. The hazards of hazard ratios. *Epidemiology.* 2010;21:13-5. <https://doi.org/10.1097/EDE.0b013e3181c1ea43>
14. Rulli E, Ghilotti F, Biagioli E, Porcu L, Marabese M, D'Incalci M, *et al.* Assessment of proportional hazard assumption in aggregate data: A systematic review on statistical methodology in clinical trials using time-to-event endpoint. *Br J Cancer.* 2018;119:1456-63. <https://doi.org/10.1038/s41416-018-0302-8>
15. Royston P, Parmar MK. Flexible proportional-hazards and proportional-odds models for censored survival data, with application to prognostic modelling and estimation of treatment effects. *Stat Med.* 2002;21:2175-97. <https://doi.org/10.1002/sim.1203>
16. Wolkewitz M, Cooper BS, Bonten MJ, Barnett AG, Schumacher M. Interpreting and comparing risks in the presence of competing events. *BMJ.* 2014;349:g5060. <https://doi.org/10.1136/bmj.g5060>
17. Lau B, Cole SR, Gange SJ. Competing risk regression models for epidemiologic data. *Am J Epidemiol.* 2009;170:244-56. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp107>

18. Southern DA, Faris PD, Brant R, Galbraith PD, Norris CM, Knudtson ML, *et al.* Kaplan-Meier methods yielded misleading results in competing risk scenarios. *J Clin Epidemiol.* 2006;59:1110-4. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2006.07.002>
19. Austin PC, Lee DS, Fine JP. Introduction to the analysis of survival data in the presence of competing risks. *Circulation.* 2016;133:601-9. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.017719>
20. Schuster NA, Hoogendijk EO, Kok AAL, Twisk JWR, Heymans MW. Ignoring competing events in the analysis of survival data may lead to biased results: A nonmathematical illustration of competing risk analysis. *J Clin Epidemiol.* 2020;122:42-8. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2020.03.004>
21. Austin PC, Fine JP. Accounting for competing risks in randomized controlled trials: A review and recommendations for improvement. *Stat Med.* 2017;36:1203-9. <https://doi.org/10.1002/sim.7215>
22. Fine J, Gray RJ. A proportional hazards model for the subdistribution of a competing risk. *J Am Stat Assoc.* 1999;94:496-509. <https://doi.org/10.1080/01621459.1999.10474144>
23. Berry SD, Ngo L, Samelson EJ, Kiel DP. Competing risk of death: An important consideration in studies of older adults. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58:783-7. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2010.02767.x>
24. Wolkewitz M, Sommer H. Evaluating mortality in an intensive care unit requires extended survival models. *Crit Care.* 2014;18:415. <https://doi.org/10.1186/cc13757>
25. Wang Y, Zhang D, Du G, Du R, Zhao J, Jinet Y, *et al.* Remdesivir in adults with severe Covid-19: A randomised; double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet.* 2020;395:1569-78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31022-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31022-9)
26. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, *et al.* Remdesivir for the treatment of Covid-19 - Final Report. *N Engl J Med.* 2020;383:1813-26. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2007764>
27. The RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-19 - Preliminary Report. *N Engl J Med.* 2021;384:693-704. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2021436>
28. The RECOVERY Collaborative Group. Effect of hydroxychloroquine in hospitalized patients with Covid-19. *N Engl J Med* 2020;383:2030-40. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2022926>
29. The RECOVERY Collaborative Group. Lopinavir-ritonavir in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): A randomised, controlled, open-label, platform trial. *Lancet.* 2020;396:1345-52. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32013-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32013-4)
30. Piovani D, Pansieri C, Peyrin-Biroulet L, Danese S, Bonovas S. A snapshot of the ongoing clinical research on COVID-19. *F1000Res* 2020;9:373. <https://doi.org/10.12688/f1000research.23843.1>
31. Janiaud P, Axfors C, Van't Hoof J, Saccolotto R, Agarwal A, Appenzeller-Herzog C, *et al.* The worldwide clinical trial research response to the COVID-19 pandemic – the first 100 days. *F1000Res* 2020;9:1193. <https://doi.org/10.12688/f1000research.26707.2>

Reseña histórica

Comentario en torno al artículo “A propósito del bicentenario de la independencia de Colombia: las prácticas de lectura de Antonio Nariño y el desarrollo de una vacuna presuntamente efectiva contra la viruela”

Esteban Vanegas

Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Bogotá, D.C., Colombia

La viruela significó para las colonias americanas un proceso que desestabilizaba de forma dramática las dinámicas sociodemográficas de las colonias, lo que incentivó el desarrollo de estudios científicos sobre el virus causante. Cada libro acerca de la viruela en la biblioteca de Nariño constituyó una herramienta en la lucha contra el virus emprendida por el prócer. Tras la revisión del artículo “A propósito del bicentenario de la independencia de Colombia: las prácticas de lectura de Antonio Nariño y el desarrollo de una vacuna presuntamente efectiva contra la viruela” (1) quise comentar y profundizar en torno al saber médico de Nariño mediante el acercamiento a las obras a las que recurrió para instruirse sobre la enfermedad. A partir de la semblanza de cada una de ellas, analicé el proceso de variolización en el Reino de la Nueva Granada y la necesidad de fabricar una vacuna propia.

Palabras clave: viruela; virus de la viruela; vacuna contra viruela; inmunización; virus *Vaccinia*; epidemias.

Comment on the article “With regard to the bicentennial of the independence of Colombia: Reading practices of Antonio Nariño and the development of a presumably effective vaccine against smallpox”

For the American colonies, smallpox implied a process that dramatically destabilized their sociodemographic dynamics, which explains why scientific development took place around the causative virus. Each book about smallpox in Nariño's library was a tool in the fight against smallpox undertaken by the founding father. After reviewing the article “About the bicentennial of the independence of Colombia: The reading practices of Antonio Nariño and the development of a vaccine that is presumably effective against smallpox”(1), I set myself to study Antonio Nariño's medical knowledge further. Through the approach to the works that Nariño used to educate himself on smallpox and the development of a biographical sketch of each of them, I analyzed the process of variolization in the Kingdom of Nueva Granada and the need to manufacture a vaccine locally.

Key words: Smallpox; variola virus; smallpox vaccine; immunization; Vaccinia virus; epidemics.

La viruela en América y la variolización en el Reino de la Nueva Granada

Los grandes aliados de la conquista española en los territorios americanos fueron los agentes patógenos que cruzaban el Atlántico a bordo de sus embarcaciones (2). Distintas hubiesen resultado las correrías de los conquistadores en el suelo de las Indias sin el amparo de los microbios que, con mortandad ingente, se propagaban entre las poblaciones amerindias (2,3). La viruela arribó al continente a principios del siglo XVI y su expansión diezmo las poblaciones nativas del Caribe y de la América continental (2,4); para 1520, ya se había propagado desde La Española y Cuba al golfo de México (3). El asedio de Hernán Cortes a México-Tenochtitlán solo pudo lograrse cuando el coctel de viruela, fiebre tifoidea y disentería arrasó con los ejércitos indígenas (3,4). Se cree que la viruela mató a más de 3 millones de aztecas (3,4). La primera epidemia de viruela en los territorios del Reino de la Nueva Granada acaeció en el año 1558 y provocó más de 40.000 muertos (5). Posteriormente, las epidemias se repitieron regularmente con hondas implicaciones sociodemográficas (5). Se han documentado hasta 11 epidemias de viruela en el periodo colonial, ocurridas con interludios de 20 años, aproximadamente (5,6).

Recibido: 15/07/2020
Aceptado: 10/03/2021
Publicado: 10/03/2021

Citación:

Vanegas E. Comentario en torno al artículo “A propósito del bicentenario de la independencia de Colombia: las prácticas de lectura de Antonio Nariño y el desarrollo de una vacuna presuntamente efectiva contra la viruela”. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):29-36. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5723>

Correspondencia:

Esteban Vanegas, Calle 44 B N° 53-30, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (571) 222 2381
vanegasesteban1@gmail.com

Financiación:

El autor no recibió apoyo financiero para la investigación, autoría ni la publicación de este artículo.

Conflicto de intereses:

El autor declara no tener ningún conflicto de intereses.

Francisco Cosme Bueno, médico del Virreinato del Perú, documentó que la primera variolización en Hispanoamérica ocurrió en la ciudad de Popayán, hacia 1738 (7), dato proveniente de unas pocas fuentes. Por su parte, el naturalista francés Charles Marie de La Condamine señaló que el primer episodio de variolización en Hispanoamérica ocurrió de forma aislada en Brasil, hacia el año 1727 (7,8). El historiador y médico Hugo Sotomayor-Tribín precisó en su obra “Viruela en Colombia, de la Real Expedición Filantrópica al Parque de Vacunación” cuál fue, en su opinión, el primer proceso de variolización documentado en la región (5). Durante la epidemia de viruela que se inició en Cartagena de Indias en 1756, el párroco de San Juan de Girón, Joseph Velásquez Zilillaga, inoculó secreciones de un contagiado en 400 personas, aproximadamente (5). Se dice que el método tuvo tanto éxito que solo se registró un deceso a causa de la viruela en su poblado durante la epidemia, en tanto que causó más de 40.000 muertes en el Reino (5).

La masificación de la variolización en Hispanoamérica tuvo obstáculos (8-10). En la España peninsular había una amplia resistencia entre los médicos y los académicos del Real Tribunal del Protomedicato, pues la consideraban un método ineficaz y peligroso (8,10). Hubo publicaciones que proclamaban la peligrosidad del método, teniendo en cuenta los riesgos implícitos del proceso, las posibles secuelas de la infección benigna y la potencial fuente de contagio que representaba la persona inoculada (8-10). Además, había objeciones de naturaleza religiosa (9,10). En su diario, Mutis critica esta posición afirmando que “la decisión del protomedicato de Madrid era contraria a la propagación de un saludable método para España” (5,11). Durante la epidemia de 1782, el sabio publicó el “Método general para curar viruelas” (5,11,12) en el que adaptaba las técnicas de variolización de Europa a las condiciones del Reino, teniendo en cuenta la escasez de médicos y las prácticas generalizadas de curanderos y chamanes (12). La publicación de Mutis no solo era una detallada explicación del método de variolización: contenía diversas normas de higiene personal y de los espacios (5,11,12), y constituyó uno de los primeros esfuerzos en salud pública en América (13).

Mutis emprendió la tarea de inocular a gran parte de la población del Nuevo Reino (5,11,14). Con el aval del virrey Caballero y Góngora, se inició una campaña para masificar el método entre los granadinos (5,14) mediante la distribución de volantes que defendían la inoculación a pesar de las objeciones religiosas y culturales que eran comunes entre la población (14,15). Esta difusión comunitaria del método permitió la inoculación de más de 1.700 habitantes de Santa Fe hacia 1782 (15). El impacto de la variolización en ese año fue limitado: se produjo el deceso del 20 % de la población santafereña, pero en la epidemia de 1802, la tasa de mortalidad se redujo ostensiblemente (solo ocurrieron 300 muertes) (12,13).

Las obras de Antonio Nariño en torno a la viruela

Ante la escasez de médicos en la Nueva Granada, Antonio Nariño se dedicó a atender a las personas pobres y a prescribir medicamentos durante las epidemias. Nariño era un defensor a ultranza de la variolización. Como lo señalan Moreno, *et al.*, Nariño poseía en su biblioteca tres obras médicas sobre la viruela (1,5), de las cuales hago a continuación una breve semblanza.

La “Disertación físico-médica en la cual se prescribe un método seguro para preservar a los pueblos de viruelas hasta lograr la completa extinción de ellas en todo el reino” es una obra del médico español Francisco Gil (16). La obra tiene una estrecha relación con el trabajo del prócer quiteño Eugenio

Espejo “Reflexiones acerca de un método para preservar a los pueblos de las viruelas” (17), la cual constituye una clara manifestación humanista e ilustrada que sirvió de referencia y base para la disertación del médico español (17,18). Es tal la influencia del pensamiento del quiteño en la obra de Gil, que este último insertó el trabajo del prócer como apéndice de su libro en la segunda edición (19).

Para Espejo, la inoculación es un acto patriota que busca la conservación y la propagación del género humano para garantizar que los pobladores de una nación permanezcan ilesos (17-19). Espejo contraría la noción religiosa que tildaba la variolización como un acto pecaminoso que ponía en riesgo la integridad de los siervos de Dios (17-19). La variolización en manos del Estado se convertía en una herramienta humanitaria y se legitimaba como un proceder cristiano (18). Para José Celestino Mutis, Antonio Nariño y Eugenio Espejo, el poder del Estado radica en su modo de actuar frente a los riesgos que ponen en peligro a las clases trabajadoras que sustentan el desarrollo y el crecimiento social, político y económico (20).

A pesar de esta premisa de la obra criolla en la que se fundamentó el libro del español, este tenía un pensamiento más conservador (16), pues, si bien defendía la variolización, propendía por llevarla a cabo con mesura y prudencia (16). Enumeró de forma detallada sus riesgos y probables consecuencias, promoviendo su implementación únicamente por parte de médicos entrenados y convocando al Estado a que creara instituciones cuyo único fin fuera la inoculación y el aislamiento del inoculado (16). Gil rechazaba la inoculación sin las precauciones debidas y en su disertación enunció extensamente los riesgos de un proceso mal hecho (16). Para él, el paso fundamental de una variolización efectiva era el aislamiento del inoculado. Por esta razón defendía la creación de hospitales en las periferias de las ciudades dedicados exclusivamente a inocular (16).

Francisco Gil promovía el método de Robert Sutton para la inoculación (16). Este médico inglés perfeccionó la técnica otomana de la inoculación, la cual tenía sus orígenes en las prácticas brahmánicas de la India (21), y la describió así:

“[...] La lanceta cargada con la menor cantidad perceptible de materia... introdúzcala inmediatamente por punción, oblicuamente, entre la bufanda y la verdadera piel apenas suficiente para extraer sangre [...]” (5).

Este procedimiento resultó de amplia efectividad: provocaba menos efectos adversos, era menos doloroso y permitía una inoculación rápida (5). La técnica usada por Mutis era distinta a la defendida por Gil. En el “Método general para curar viruelas” el sabio describía:

“[...] Lo más seguro es hacer dos incisiones de tres a cuatro líneas, una en el brazo y otra en la pierna opuesta, poniendo un pedazo de hilo de igual longitud bien pasado por la materia...se debe cubrir la herida con cualquier emplasto pegante [...]” (12),

en tanto que no existe documentación que describa la técnica usada por Nariño en sus procedimientos médicos.

En su disertación, Gil hace una precisa y extensa narración de la historia natural de la enfermedad, con los tratamientos que consideraba indicados en cada estadio de la infección (16). Es llamativa la recomendación de métodos como las sangrías, la utilización de opio para paliar los síntomas,

el uso de sustancias vejigantes en los estadios finales, el mantenimiento de la salivación con agua nitrada y gargarismos con agua de limón, la administración de quina para la fiebre y el uso de cantárida (veneno secretado por algunos coleópteros) para promover la aparición de las lesiones en las primeras etapas de la infección (16).

El segundo libro encontrado en la biblioteca de Nariño que aborda el tema de la viruela se denomina “Disertación sobre la inoculación de las viruelas”, obra que no registra autor ni fecha de redacción (1). Según algunos académicos, este título, mencionado por Moreno, *et al.*, podría corresponder a la “Disertación sobre la inoculación de las viruelas” de Bonifacio Jiménez de Lorite, médico sevillano que publicó su obra en 1758 (21). Jiménez de Lorite defendía la implementación de la variolización en España y proponía un método similar al establecido por Sutton (22). Sin embargo, no es improbable que el libro de Nariño haya sido una traducción de la obra francesa “*Memoire sur l’Inoculation de la Petite Verole*” escrita por Charles-Marie de La Condamine, que, coincidentalmente, fue traducida por Jiménez de Lorite. La traducción al castellano de esta obra se publicó en 1675 y avivó aún más la intensidad del debate sobre la benevolencia de la variolización. La Condamine sufrió de viruela en un viaje a las Américas, lo que marcó profundamente su obra científica (23). En la obra mencionada, el naturalista y geógrafo francés hizo una intensa defensa de la variolización con especial énfasis en su adopción en las colonias. Afirmaba que desde 1743 los esclavos negros del Paraná eran inoculados por sus amos con excelentes resultados (23). Señalaba, asimismo, que la viruela se había ensañado con la población indígena y era responsable de más muertes que el mismo hierro español (23). También, describió el amplio uso del curare por parte de los aborígenes del Amazonas para atender las lesiones de la viruela (23).

El tercer libro sobre la viruela en posesión de Nariño era la “Disertación físico-médica, en que con la razón, autoridad y experiencia se demuestra la utilidad y seguridad de la inoculación de las viruelas” (1). Este libro pertenecía originalmente a Sebastián López Ruiz, médico y naturalista panameño que mantuvo una aguda disputa con José Celestino Mutis por el descubrimiento de la quina (24). López Ruiz arribó a Santa Fe en 1667 como médico y secretario del virreinato (24), y allí se dedicó a dictar clases particulares de matemáticas y francés (24,25). Nariño fue uno de sus grandes alumnos. Cuando López Ruiz fue nombrado Botánico de la Real Orden en Madrid, dejó en Santa Fe algunos de sus libros y muebles a cargo de su esposa, doña María Begoña Aldana, quien, a su vez, dejó al cuidado de Nariño las pertenencias de su esposo (25,26), y este las embargó por una presunta deuda que López Ruiz tenía con él (25,26). Este hecho es atestiguado por un expediente de 1797 en el que López Ruiz demandó la devolución de sus bienes (26).

Este tercer libro fue escrito originalmente en lengua toscana por el médico gaditano Juan Espallarosa, fue traducido al castellano en 1767 (27) y sus dos partes fueron publicadas en distintas fechas. En la primera, Espallarosa rescata la labor de los médicos griegos Pilarini y Timoni, quienes iniciaron en Constantinopla la transmisión de las técnicas orientales de variolización (27), así como la labor de Lady Mary Wortley Montagu. El gaditano inicia su defensa de la variolización rescatando la obra de La Condamine y poniendo de manifiesto los estragos de la enfermedad en las poblaciones amerindias de regiones como la selva brasilera (27). Además, narra la gran mortandad de la peste en las regiones de la Toscana, en Francia, en Levante, en Alemania y en otras diversas naciones europeas (27). A

continuación, hace una súplica a los ministros de gobierno para considerar los casos de Inglaterra, Ginebra y Holanda, sitios donde la variolización se popularizaba con notables resultados (27). En la segunda parte, da respuesta a las diversas objeciones contra el procedimiento y a los argumentos de diversos académicos y eclesiásticos (27), describe los efectos adversos, da indicaciones para su tratamiento (27) y, por último, cierra la obra indicando cómo se realiza el procedimiento de variolización (27).

Llama la atención que, en la demanda de López Ruiz para la devolución de sus libros, se exigió el retorno de la obra de Francisco Gil titulada “Preservación de las viruelas” (25), nombre que parece ser una abreviación del título completo del libro ya comentado: “Disertación físico-médica en la cual se prescribe un método seguro para preservar a los pueblos de viruelas”. De la suerte de este tomo no se sabe nada.

Con estas tres obras en su posesión y con el conocimiento de otras tantas, gracias al favor de maestros como Mutis, quien seguramente le prestó a su discípulo libros como “*Avis au peuple sur sa santé*”, tratado de medicina que contiene información sobre la viruela, muy seguramente Nariño ejerció la medicina y prestó sus servicios a las poblaciones más vulnerables (1).

La necesidad de replicar la vacuna

El descubrimiento de la vacuna contra la viruela por Edward Jenner en 1796, abrió nuevas perspectivas a la ciencia en la lucha contra esta devastadora enfermedad. El conocimiento de la vacuna, muy posiblemente, llegó a la Nueva Granada con la publicación del “Tratado sobre la vacuna” de Diego de Bancos y con la traducción que Pedro Hernández hizo del libro de François Chaussier “Origen y descubrimiento de la Vacuna” (5,28). Una de las primeras solicitudes para que la España peninsular enviara la vacuna a las Américas, provino del ayuntamiento de Santa Fe (5,15,29). El virrey de la Nueva Granada, Pedro Mendinueta y Múzquiz, intentó importar de Europa linfa bovina para fabricar la vacuna, sin embargo, las muestras llegaban al continente inutilizables (30). El médico Francisco Javier de Balmis propuso al rey Carlos IV un método para transportar la vacuna contra la viruela desde la península a las colonias: formar una cadena de niños que, mediante inoculaciones sucesivas, mantuviera la vacuna activa (30,31). La primera de estas expediciones traía a 20 niños y significó una revolución científica para las colonias (32). Entre tanto, Mutis buscaba la linfa vacunal entre los bovinos y equinos de las proximidades de Santa Fe, con el fin de fabricar su propia vacuna (5). La búsqueda fue infructuosa, dado que los reservorios del virus de la viruela del caballo (sustrato fundamental de la vacuna) eran animales endémicos de Europa. Intentó, además, inocular viruela humana en vacas sin obtener resultados satisfactorios (5,32). En este contexto, Nariño fue encarcelado y comenzó a purgar su condena en condiciones deplorables, pero recibía atención médica de su maestro José Celestino Mutis, quien lo apoyó y le brindó los recursos para continuar sus labores científicas en prisión. En la biblioteca virtual de la Universidad Nacional, se encuentra la carta que Antonio Nariño dirigió al virrey afirmando haber inventado su propia vacuna efectiva contra la viruela:

“[...] después de 47 días de trabajo, en que me han salido infructuosas varias experiencias, tengo hoy la satisfacción de presentar a vuestra excelencia un muchacho, en quien ha prendido un grano con todas las apariencias de verdadera vacuna, habiéndose seguido todos los períodos y síntomas que prescriben las dos únicas recetas que han llegado a esta capital, estando hoy precisamente en el día nono de la vacunación [...]” (26).

Nariño afirmaba haber conseguido la vacuna con resultados idénticos a los descritos por los tratados que pululaban por Santa Fe y que describían las recetas usadas en Europa para fabricar el compuesto a partir de la linfa bovina (1,26). Se desconocen los ingredientes que usó Nariño para alcanzar su cometido, así como el antígeno empleado en la preparación de la supuesta vacuna. Ante el fracaso de Mutis para obtener el sustrato fundamental en el Reino, los naturalistas y médicos abandonaron la búsqueda de linfa bovina y equina (5). No existe registro alguno de la forma de preparación del compuesto que, supuestamente, Nariño inoculó a su sobrino. Resulta sumamente improbable que, en las paupérrimas condiciones carcelarias de Nariño, se lograra la creación de una vacuna, y más en ausencia del único compuesto conocido en ese tiempo capaz de producir inmunidad sin recurrir a la variolización o el contagio. Efectivamente, la mayor duda surge ante la ausencia en el Reino del insumo esencial para conferir valor biológico al compuesto. Lo más probable es que Nariño no hallara solución para dicho inconveniente y nunca inventara una vacuna, y que la lesión producida en su sobrino (cuya naturaleza etiológica nos es desconocida) le pareciera similar a las descritas en los libros.

No se ha documentado ninguna vacuna creada en las Indias y tampoco se ha registrado un intento exitoso distinto al de Balmis para inmunizar a los americanos en aquella época. La primera expedición de Balmis arribó a Puerto Cabello el 30 de marzo de 1803 (5,30). En Caracas, la expedición se dividió en dos grupos, uno de los cuales alcanzó el Reino de la Nueva Granada (30,31). La segunda expedición vacunal a cargo del doctor Salvany, compañero de Balmis, llegó a Santa Fe el 18 de diciembre y fue recibida por el virrey Amar y Borbón y el propio Mutis (5). Se desconoce lo acontecido después del intento de Nariño y lo más probable es que un fracaso sea la causa del profundo silencio histórico al respecto, pero lo verdaderamente rescatable es su intento de dar respuestas de salud pública en medio de su tragedia personal y a pesar de las condiciones de su reclusión.

Conclusión

En las colonias americanas, la devastación generada por la viruela y los altos costos económicos, demográficos y sociales, llevaron a que la labor científica en salud se desarrollara en torno a las medidas que contuvieran el virus. La variolización, a pesar de sus detractores, tuvo un amplio impacto y una mediana aceptación entre los ilustrados de la Nueva Granada, que veían en el método un acto de responsabilidad estatal. La vacuna fue una respuesta providencial a un problema de salud pública cardinal en el continente americano. Sin embargo, en el inicio de su propagación, surgieron problemas en las dinámicas de distribución que retrasaron la llegada de la inmunización a América. Esto obligó a los ilustrados, entre ellos a Nariño, a buscar formas de replicar la vacuna en las Indias. A pesar de la ausencia de recursos, Nariño intentó inventar una vacuna y eso, independientemente de su factibilidad, demuestra su gallardía e ingenio. Los estudios de Nariño revelan su profundo humanismo, encarnado en su intento de garantizar los derechos de los ciudadanos americanos, no solo en temas políticos y sociales, sino también, en lo concerniente a su salud y bienestar.

Referencias

1. Moreno S-M, Moreno-Gómez F. A propósito del bicentenario de la independencia de Colombia: las prácticas de lectura de Antonio Nariño y el desarrollo de una vacuna presuntamente efectiva contra la viruela. *Biomédica*. 2020;40(Supl.1):8-19. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5024>
2. Riley JC. Smallpox and American Indians revisited. *J Hist Med Allied Sci*. 2010;65:445-77. <https://doi.org/10.1093/jhmas/jrq005>
3. Franco-Paredes C, Lammoglia L, Santos-Preciado JI. Perspectiva histórica de la viruela en México: aparición, eliminación y riesgo de reaparición por bioterrorismo. *Gac Méd Méx*. 2004;14:321-7.
4. Sessa R, Palagiano C, Scifoni MG, di Pietro M, Del Piano M. The major epidemic infections: A gift from the Old World to the New? *Panminerva Med*. 1999;41:78-84.
5. Villamil-Jiménez LC, Sotomayor-Tribín HA, Esparza J. Viruela en Colombia: de la Real Expedición Filantrópica al Parque de Vacunación. Primera edición. Bogotá: Ediciones Unisalle; 2020. p. 120.
6. Lucena-Giraldo M. Between fear and piety: The proposal by José Ignacio de Pombo to bring the smallpox vaccine to New Granada (1803). *Asclepio*. 1989;41:127-39
7. de Micheli A. La medicina y la ilustración en la Nueva España. *Gac Méd Méx*. 1998;134:343-9.
8. Caffarena-Barcenilla P. Viruela y vacuna. Primera edición. Santiago de Chile: Editorial Universitaria; 2016. p. 200
9. de Micheli A, Izaguirre-Ávila R. La vacunación antivariólica antes y después de Jenner. *Rev Invest Clin*. 2011;63:84-9.
10. León-Sanz P, Baretino-Coloma D. La polémica sobre la inoculación de las viruelas. Primera edición. Pamplona: Editorial del Gobierno de Navarra; 2007. p. 300.
11. España, G. José Celestino Mutis: el sabio de la vacuna. Primera edición. Bogotá: Panamericana; 1998. p. 8-37.
12. Palacios L. Algunos aspectos relacionados con José Celestino Mutis y la medicina. *Rev Cienc Salud*. 2008;6:99-106.
13. Restrepo M. José Celestino Mutis y la medicina social en el Nuevo Reino de Granada: estudio y antología. Santiago de Chile: Facultad de Filosofía y Humanidades de la Universidad de Chile; 2011. p. 54.
14. de Zubiria R. Antonio Vargas Reyes y la medicina del siglo XIX en Colombia. Segunda edición. Bogotá: Editorial de la Academia Nacional de Medicina; 2002. p. 10-7.
15. Duro J. Los inicios de la lucha contra la viruela en España. Alicante: Universidad de Alicante; 2014. p.133-40.
16. Gil F. Disertación físico-médica en la cual se prescribe un método seguro para preservar a los pueblos de viruelas hasta lograr la completa extinción de ellas en todo el reino. Primera edición. Madrid: Imprenta Real; 1784. p. 174.
17. Monteros-Valdivieso MY. Eugenio Espejo y su historia de las viruelas. *Rev Med Cubana*. 1958;69:143-56.
18. Fierro-Benítez R. Eugenio Espejo, médico Quiteño de la ilustración: pionero de la bacteriología en las Américas. *Anales de la Real Academia Nacional de Medicina*. 2003;120:79-93.
19. Taiana JA. Colonial Quito: its physicians and hospitals. Eugenio Espejo, American emancipator. *J Int Coll Surg*. 1963;39:76-91
20. Santa Cruz-Espejo FJE. Reflexiones acerca de las viruelas. Primera edición. Quito: Facsimilar; 1785. p. 50.
21. Sotomayor-Tribín HA. Los médicos y la medicina en el proceso de independencia. *Medicina*. 2010;32:243-54.
22. Chinchilla A. Anales históricos de la Medicina en general, y biográfico-bibliográfico de La Española en particular. Primera edición. Madrid: Editorial de López y Cía.; 1884. p. 1-32.
23. de La Condamine L. Mémoire sur l'inoculation de la petite vérole lu à l'Assemblée publique de l'Académie royale des Sciences. Primera edición. Paris: Imprimeur & Librairie; 1754. p. 20-60.

24. Amaya JA, Torres-Moreno JV. Ciencia y economía en el Nuevo Reino de Granada. Las comisiones de Sebastián José López Ruiz. *Historia Caribe*. 2016;11:183-213. <https://doi.org/10.15648/hc.29.2016.8>
25. Flores-Castro F. Sebastián López Ruiz: primer médico, botánico y físico panameño. Universidad de Panamá. Fecha de consulta: 10 de julio de 2020. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/324571345_SEBASTIAN_LOPEZ_RUIZ_Primer_Medico_Botanico_y_Fisico_Panameno
26. Biblioteca Nacional de Colombia. Antonio Nariño: lector y patriota – 2015. Fecha de consulta: 20 de julio de 2020. Disponible en: <http://bibliotecanacional.gov.co/content/antonio-narino-labiblioteca>
27. Espallarosa J. Disertación Physico-medica en que, con la razón, autoridad y esperiencia, se demuestra la utilidad y seguridad de la inoculación de las viruelas y las grandes ventajas que de ella se siguen à la humana sociedad y a los reynos. Primera edición. Francisco Rioja: Imprenta D. Cádiz; 1764. p.1-110.
28. Villegas J, Gutiérrez A. Medicina científica mutisiana. Primera edición. Bogotá: Editorial Pontificia Universidad Javeriana; 2008. p. 27-32.
29. Baquero H. La expedición de la vacuna. *Acta Med Colomb*. 1993;18:24-7.
30. García-Procel E. Bicentenario de la vacunación antivariolosa. Parte II. La expedición vacunal del doctor Francisco Javier Balmis. *Gac Méd Méx*. 1997;133:95-9.
31. Asensi F. La real expedición filantrópica de la vacuna (Xavier de Balmis/Josep Salvany). *Rev Chil Infect*. 2009;26:562-7. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182009000700014>
32. Veiga J, de la Fuente-Díez E, Martín-Rodero H. La Real Expedición Filantrópica de la vacuna (1803 - 1810). *Med Segur Trab*. 2007;53:71-84.

Reseña histórica

Salubridad y enfermedad en las minas de oro de Marmato en el siglo XIX: entre la epidemia de viruela y la guerra de los mil días

Fernando Gómez^{1,2}, Sebastián López^{1,2}, Arnoby Chacón¹

¹ Departamento Clínico, Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

² Programa de Investigaciones en Gerontología y Geriatria, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

La minería ha tenido una gran influencia en las sociedades humanas, permeando por igual las riquezas del suelo y la cultura, lo que ha tenido profundas implicaciones para los individuos dedicados a esta labor y para los lugares en los que se lleva a cabo.

En el presente artículo, se describen las características socioculturales y de sanidad, así como las enfermedades más frecuentes en las minas de oro de Marmato (Caldas) durante el siglo XIX. Las precarias condiciones de salubridad y las enfermedades tropicales infecciosas persistieron en la población durante todo el siglo.

Palabras clave: salubridad ambiental; minería; historia; enfermedades profesionales; medicina tropical.

Healthiness and disease in Marmato gold mines during the 19th century: Between the smallpox plague and the War of a Thousand Days

Mining has had a great influence on human societies permeating the riches of the soil and culture in equal proportion. This has led to profound changes in the individuals dedicated to this work and the locations where it takes place.

In this historical review, we describe the socio-cultural and health characteristics, as well as the diseases associated with gold mining in Marmato (Caldas) during the 19th century. Poor salubrity conditions and tropical and infectious diseases were constant during the whole century.

Keywords: Environmental healthiness; mining; history; occupational diseases; tropical medicine.

A comienzos del siglo XVI, los españoles descubrieron las laderas avolcanadas donde hoy está situado el municipio de Marmato, entre Caldas y Antioquia (figura 1). En los primeros siglos, se conoció como Moroga o Moraga, y fue célebre por la gran cantidad de oro en sus filones (1). Desde el siglo XVI fue asiento de minas subterráneas de oro elemental, explotadas de manera rudimentaria por pequeños grupos de españoles y mestizos, con pequeñas cuadrillas de esclavos negros huidos de Popayán (2). En 1787, las tres principales regiones auríferas de la Nueva Granada eran Antioquia, Popayán y Chocó. Antes de la fundación de Riosucio en 1819, San Juan de Marmato, la Vega de Supía y el Real de Minas de Quiebralomo, eran el eje de la riqueza minera de esa zona (3). En 1824, las minas de Marmato se arrendaron a compañías inglesas como garantía de los empréstitos del gobierno inglés, las cuales mantuvieron el control sobre ellas hasta comienzos del siglo XX (4). En 1872, pobladores provenientes de “los departamentos del Sur de Antioquia” como parte de la colonización antioqueña en el occidente de Caldas, refundaron la antigua ciudad colonial de Anserma (Santa Ana de los Caballeros), se diseminaron por la región y, junto con los negros, mestizos, mulatos y los escasos indios sobrevivientes, fueron protagonistas de la vida regional (5). Esta zona pertenecía al Estado Soberano del Cauca, pero siempre se consideró parte de los “departamentos de Antioquia” y estuvo ligada a su historia, como lo refiere en su memoria sobre la medicina en los departamentos antioqueños el doctor Emilio Robledo, quien situaba su frontera sur “hasta donde moja sus robustos tarsos en el río de la Vieja (Cartago) de linfas mansas” (6). Las disputas por tierras

Recibido: 24/03/2021

Aceptado: 15/06/2021

Publicado: 16/06/2021

Citación:

Gómez F, López S, Chacón A. Salubridad y enfermedad en las minas de oro de Marmato en el siglo XIX: entre la epidemia de viruela y la guerra de los mil días. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):37-47. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5945>

Correspondencia:

Fernando Gómez, Programa de Investigación en Gerontología y Geriatria, Universidad de Caldas, sede Versalles, Calle 65 N° 26-10, Manizales, Colombia
Teléfono: (576) 885 1981
gomez.montes@ucaldas.edu.co

Contribución de los autores:

Fernando Gómez: planteamiento de la investigación, búsqueda bibliográfica, análisis, discusión y redacción del manuscrito
Sebastián López: análisis histórico, discusión y redacción del manuscrito
Arnoby Chacón: transcripción, análisis epidemiológico, análisis de salud pública y discusión

Financiación:

No se requirió financiación para este estudio.

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

y minas en el cantón de Supía eran el reflejo de la confrontación política y económica que vivía Colombia en siglo XIX, época en la cual las guerras civiles y escaramuzas fueron constantes (7).

Aspectos de salubridad

A finales del siglo XVIII, los pobladores indígenas ya no eran los mismos grupos del siglo XVI (armados, paucuras, pozos, picaras, carrapas y quimbayas, cartamas, caramantas, ansermas e irrás), sino la mezcla y reagrupamiento de los sobrevivientes y los desplazados de estas tribus, a quienes la minería y la expropiación de las tierras de labranza llevó a padecer hambre.

Sobre la población de Marmato en los años siguientes hay gran controversia, pues algunos autores afirman que para 1850 se contaba con 7.000 pobladores en las minas, incluidos los extranjeros que laboraban allí (8). Jean-Baptiste Boussingault –el primer administrador de las minas– describe que en 1830 los habitantes eran cerca de 3.000 y, “todos libres, vivían en el declive de la montaña” (9). Sin embargo, en su *Geografía médica y nosológica del departamento de Caldas*, Robledo afirma que la población era mucho menor, de alrededor de 1.057 en 1843 y de 2.811 en 1870 (1).

Los relatos sobre las condiciones socioambientales en el Marmato del siglo XIX describen algunos factores determinantes en salud: dificultades climáticas, pésimas vías de comunicación, malas condiciones de vivienda de los esclavos, hacinamiento, poca disponibilidad y deficiente calidad de los víveres, inadecuadas condiciones en el interior de las minas, problemas de salud perinatal, falta de aseo e higiene personal, además de violencia intrafamiliar (2).



Fuente: <https://godues.wordpress.com/2012/11/13/mapas-del-departamento-de-caldas-en-colombia/>

Figura 1. Departamento de Caldas, comienzos del siglo XX

La referencia a los determinantes de salud y a las enfermedades de esta población proviene de lo señalado por el inspector real y oidor Juan Antonio Mon y Velarde Cienfuegos y Valladares (llamado padre y “Regenerador de Antioquia”), quien visitó la zona en 1788 y publicó un documento que permite comprender las características sociales y sanitarias de la región (10).

Para ejemplificar las características malsanas del clima, durante el traslado de “la santa Imagen de la Reyna de los Angeles”, enviada como regalo por Felipe II, el cura Joaquín González de Santiago de Arma de Rionegro (1786) decía que el clima era tan malsano en la región, que,

“[...] apenas se puede conservar la Hostia, de un día a otro ... siendo de admirar que en tantos años como lleva de cura Esteban Leonín de Estrada, (hombre decrepito y maníaco) en el sitio de Arma Viejo, no hubiese observado la particularidad, de humedecerse y arrugarse la santa forma [...]” (10).

Con respecto a la infraestructura vial, el coronel John Potter Hamilton, agente confidencial de su majestad británica, quien viajó por el país entre 1824 y 1825, menciona que el obstáculo más serio para cualquier actividad explotadora en la región eran “Los pésimos, diré mejor horrorosos caminos de la región, pues entre Cartago y Antioquia (probablemente Arma) se gastan 6 días por la orilla de Cauca” (11).

También, era evidente el problema de la vivienda:

“[...] la mala distribución de las casas y la confusión de la familia, viviendo hijos, padres y extraños sin división alguna, es el funesto principio de anticiparse muchas veces la malicia, cometiéndose execrables torpezas [...]”;

refiriéndose a embarazos, enfermedades de transmisión sexual y al hacinamiento, que aumentaba el riesgo de enfermedades infectocontagiosas como la tuberculosis (común entre la población minera de la región) (10). De hecho, las normas policiales indicaban que en cada casa vivían dos o tres familias sin piezas o divisiones, “todos confundidos y desnudos” y pedía que vivieran separados, o con cuartos con división de sexos, edades y estados “todos como corresponde” (10). En los Reales de Minas existían las rancherías, conjunto de ranchos donde vivían los mineros sin separación de sexo o de familia, con otros espacios dedicados a la cocina, las herramientas y la herrería, otro para guardar la sal y los alimentos, y otro con un cepo para el castigo de los esclavos desobedientes (12). Desde la segunda década del siglo XIX, la ranchería de Marmato tuvo un rancho para atención de mineros enfermos, y el capataz y los lugartenientes vivían en construcciones separadas. A finales del siglo XVIII,

“[...] Marmato tenía alrededor de 3 o 4 mil habitantes, viviendo en casuchas muy pobres, dispersas en la cresta del farallón, sin orden, sin calles, sin agua corriente, y sin autoridades. No había escuela primaria ni capilla, y probablemente debido al abandono existente, tampoco había autoridades [...]” (2).

Ocasionalmente aparecía un sacerdote, procedente de la capilla de San Juan de Marmato, a confesar y repartir la comunión, así como comerciantes de hierro, víveres y lienzos. No obstante, los que tenían mayor contacto con los mineros eran los indígenas, lo cual era fundamental para su supervivencia, pues los abastecían especialmente de maíz.

Otro problema era la consecución de suministros y víveres, pues eran traídos desde Cartago, Mariquita y Antioquia e incluían “sal nitro” (nitrato de sodio) para preservar carnes, sal, panela, aguardiente, cerdos y ganado

vacuno (5). En épocas de buen tiempo, llegar a Marmato desde Cartago tomaba una semana, lo que dificultaba el abastecimiento y el mantenimiento nutricional de la población, como lo describe Mon y Velarde:

“[...] y los infelices mineros y demás pobres que se dedican a este penible ejercicio, o tienen que abandonar la mayor parte del año para hacer rozas y coger su fruto, o tienen que conducir los víveres más precisos a tan larga distancia y por caminos tan ásperos, que importa más su acarreto que el costo principal [...]” (10).

El Oidor insistía que esto se debía a lo “mal racionado de las cuadrillas”, el hambre, “el corto producto de las minas”, la pobreza que llevaba a “la ruina de los mineros, el atraso del comercio y el abandono de la agricultura” (10), queja esta que fue constante durante todo el siglo XIX.

Dadas las dificultades para la obtención y movilización de víveres, se esperaría que el contenido nutricional fuera deficiente, sin embargo, la relación entre las raciones suministradas en climas templados y cálidos en 1916 y las de 1941 (figura 2), evidencia un alto consumo de proteínas, indicador del tipo de trabajo realizado y de una mejor calidad de vida (13). La yuca se consumía más en las zonas mineras, por ser más resistente a la sequía y por su mayor rendimiento, lo cual era una ventaja para su distribución quincenal en las minas (5). Generalmente, los ancianos y los niños esclavos de las rancherías cultivaban yuca y plátano, y las esclavas ancianas cocinaban y asistían a los enfermos (12).

La condición de los esclavos no era diferente a la que la literatura refiere en el siglo XVIII, pues no recibían salarios, la alimentación era la que “Dios proveyera”, y la salud y la seguridad eran impensables. Así lo describía el Oidor:

“[...] los continuos recursos de quejas que he tenido, promovidos por varios esclavos, ya por el inhumano y bárbaro tratamiento que reciben de sus amos... y ya por la escases de la ración con que se les contribuye, tolerándoles por esta causa el trabajo en días festivos, con punible abandono del pasto espiritual [...]”;

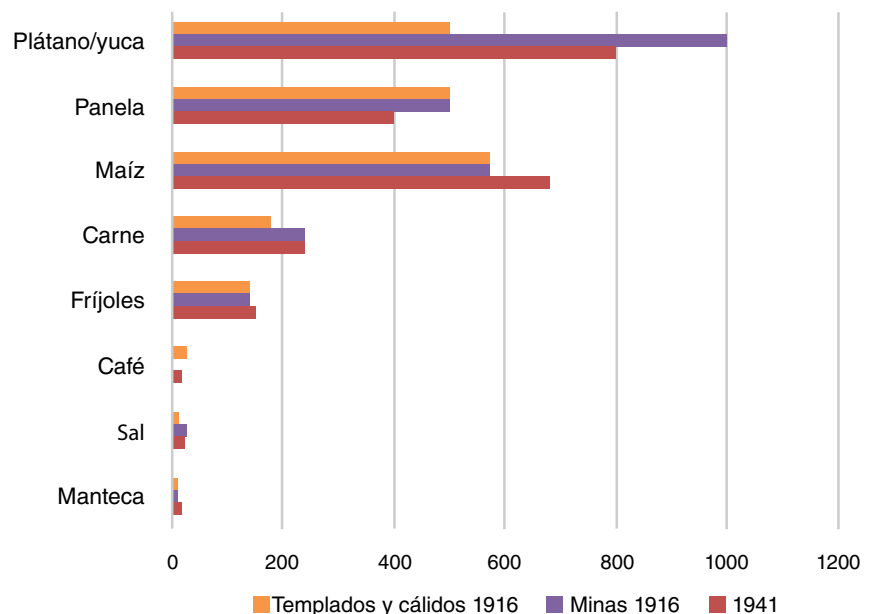


Figura 2. Comparación entre las raciones alimentarias de los mineros y las personas de climas templados y cálidos en 1916 y 1941

y proponía a los Cabildos varias soluciones (10): establecer horas y sitios de trabajo; determinar la ración de comida, diferenciando entre casados y solteros; definir el tipo de vestuario, la periodicidad de cambio y su calidad, y consolidar los castigos que debían imponerse, con lo que debía aumentar la productividad y disminuirse las “alteraciones sociales” asociadas:

“[...] Lo poco útil que será un esclavo mal comido, peor dormido y desnudo, se disminuye su fuerza, incluyendo su capacidad reproductiva con menor descendencia y con predisposición a robar y a asesinar a su amo, o a escaparse [...]” (10).

Frente a las condiciones perinatales, el Oidor informa sobre: “los muchos infanticidios y repetidos abortos que se experimentan por querer muchas por este punible medio ocultar su fragilidad a los ojos del mundo” (14). Era común encontrar madres solteras en las zonas mineras y una esclava podía ser la madre de niños de diferentes padres, incluidos indígenas, blancos y esclavos; sin embargo, era más frecuente el nacimiento de zambos, por cruce entre negros esclavos e indígenas. La mujer era el eje del funcionamiento de las rancharías y las labores diarias. Un siglo después, Ferdinand von Schenck habla de la gran cantidad de negras que trabajaban en las minas y que se amarraban los cortos vestidos a manera de pantalones; a pesar de su tosco físico, eran preferidas por los empleadores de las minas porque superaban en rendimiento a los hombres en los duros trabajos de la minería (15).

La violencia intrafamiliar era frecuente; en Santa Bárbara (Antioquia), por ejemplo, en 1788 se “había notado la relajación de costumbres en que se vive, así por el mal trato que dan los maridos a las mujeres, de que han sido muchas y lastimosas las quejas que se han oído...” (10). La violencia era constante en las zonas mineras y siempre se señaló que

“[...] estas regiones atraen a muchas gentes sin ocupación ni destino, vagantes y muy nocivas a la sociedad pública, como dispuestas a todo género de vicios, fomentando juegos, riñas y embriagueces [...]” (16).

Los hombres morían dentro y fuera de los socavones por muchas causas: explosiones de pólvora, derrumbes en los túneles, desprendimientos de rocas en taludes, silicosis por polvos, cáncer pulmonar, sífilis, cuchilladas en riñas (por mujeres o por oro robado), viruela, tuberculosis, diarrea, dengue grave (conocido como “vómito negro”), *delirium tremens*, quemaduras con fuego, hepatitis causada por el consumo de agua sucia, mordeduras de víboras, rodaduras a precipicios, accidentes con picas o zapas y envenenamiento por comidas descompuestas (2). Las condiciones de trabajo en la minería eran siempre penosas y peligrosas, y muy comunes los problemas de espalda por cargar el mineral, además de las enfermedades respiratorias propiciadas por las temperaturas altas (17).

Según las descripciones de visitantes de la zona minera, las condiciones de salud pública tampoco eran óptimas en el siglo XIX. En este sentido, en un informe del Boletín de Medicina de la Sociedad Médica de Manizales de principios del siglo XX (18), se refiere que las “enfermedades reinantes en nuestros mineros son: paludismo, nefritis, tuberculosis, cirrosis atroficas y anemia” y se insiste en tener mayor rigor científico para su identificación y tratamiento (18).

Enfermedades frecuentes

En 1546 se reportó la primera epidemia de

“[...] pestilencia que abatió la tercera parte de estas grandes provincias y que originaba dolor de cabeza con accidente recio de calentura, pasábase el dolor al oído izquierdo, agravándose de tal suerte, que en dos o tres días pasaban sin remedio de esta vida a los apestados [...]” (6).

Posteriormente, aparecieron la viruela, el tifo exantemático, la fiebre tifoidea, el sarampión y las paperas. Entre 1702 y 1703, se describe una “epidemia en todos los reales de minas desta jurisdicción a donde se han muerto mucho número de negros” (19), precedida por otras dos que originaron una gran mortalidad entre indígenas y esclavos (19). En 1792, se reportó en Medellín una epidemia de tabardillo (tifus exantemático) y, entre 1795 y 1796 otra de sarampión, en la cual murieron “muchos niños y gentes mayores” (20).

Las enfermedades más comunes en los habitantes del Nuevo Reino de Granada referenciadas por Mutis en 1801 fueron las “dos plagas endémicas” de escrófulas (cotos) y de bubas, seguidas de las “llagas y demás vicios” relacionados con el mal gálico (sífilis)... “ciertamente original del propio clima”. También, era frecuente la lepra “judaica y caratosa”. Por otra parte, en el informe “epidemias anuales” se mencionan la viruela, el sarampión y las disenterías, todas ellas por “desórdenes en el comer, el beber y, en general, todas aquellas debidas a un mal régimen” (21).

A principios del siglo XIX, solo existían en la zona los caseríos de Arma y Anserma, casi arruinados, y el Cantón de Supía, que incluía las minas de Marmato. En esta época, los escasos indígenas que quedaban en la zona de la Vega de Supía sufrían los mismos males que durante la Conquista y la Colonia; los accidentes de guerra y de trabajo, las enfermedades infecciosas como la viruela, el tabardillo y la tuberculosis, junto con la picadura de insectos y las mordeduras de serpientes, eran la principal causa de muerte. Se presentaban, además, bubas, sarna y carate, en tanto que la picadura de niguas, garrapatas, chinches y otros insectos, plagas ya endémicas desde el siglo XVI, causaban úlceras (22).

Durante el siglo XIX, en Marmato, las enfermedades infecciosas fueron frecuentes. Robledo afirma que, dadas las condiciones en que vivían, los habitantes tenían mayor predisposición a la anemia tropical (por parásitos intestinales) e insiste en que, siendo

“[...] mineros por nacimiento y por necesidad, pues en este municipio apenas se conoce otra manera de ganar el sustento que con el laboreo de las minas, los habitantes viven permanente en inminencia de contagio [...]” (1).

Asegura también que la tuberculosis, especialmente en su forma de “pleuresía serofibrinosa,” y el paludismo eran endémicos, sobre todo en los trabajadores de las minas. Al igual que Mon Velarde, un siglo y medio antes, insiste en los problemas de piel, especialmente el carate (1). Las enfermedades en Marmato entre 1914 y 1915 eran las mismas de la zona minera en el siglo XIX: bronquitis, parásitos intestinales, neumonía, tuberculosis, paludismo y diarrea (1).

El carate y la sarna estaban presentes desde la conquista y persistieron, junto con la anemia tropical por uncinariasis, como las enfermedades más frecuentes en la región durante los siglos siguientes. El carate o “la caratea”,

denominación que se daba a la “dermatomicosis”, especialmente de la especie llamada “azul” o “asperigulus”, se consideraba la más común entre mineros y se describía como una decoloración parcial o mancha constitucional del cutis que predominaba principalmente en los negros, mulatos y cuarterones (23). Los granos, el carate y las gomas constituían el 42 % de las enfermedades de las zonas mineras en el estado soberano del Cauca (24).

Bajo el nombre de la enfermedad de las bubas, se referían a diversas entidades que se confundían con la sífilis y con el carate, las cuales eran endémicas en la región, aunque dicha denominación se relaciona más con la frambesia tropical, o pian, otra enfermedad propia de las tierras tropicales húmedas y bajas producida por *Treponema pertenuae*. Se considera que fue una enfermedad que las mujeres indígenas contrajeron transmitida por los españoles que acompañaron a Colón (25). La disentería, otra enfermedad común en la zona durante el siglo XIX, conllevaba una gran mortalidad infantil, en tanto que la fiebre tifoidea estaba asociada con consumo de agua contaminada, ausencia de saneamiento público, pésimos hábitos higiénicos y malas condiciones ambientales, especialmente el no disponer de sanitarios (24).

La tuberculosis se relacionaba con las malas condiciones de la vivienda, las malísimas condiciones higiénicas y el hacinamiento, lo que determinaba que los pobladores “mantienen un aire rumiado” (1). Por otra parte, las pleuresías inflamatorias las originaba “el dormir desabrigo, y exponerse estando acalorados a un viento frío y desnudo el pecho” (26). Los problemas respiratorios representaban el 7 % de las enfermedades en las zonas mineras del Estado Soberano del Cauca (24). Cabe agregar que, por lo regular, la prostitución iba de la mano de la tríada de flagelos sociales endémicos en las zonas mineras: alcoholismo, tuberculosis y sífilis (1).

La prostitución es una institución notablemente aceptada en Antioquia y Caldas, puesto que se sabe que cada aldea o población de la región tiene su “barrio de tolerancia”. Se menciona que no se concibe zona minera sin presencia de sífilis o “avería”, como la denominaban los médicos, dados sus efectos a largo plazo (2). Entre las enfermedades de transmisión sexual, la sífilis se consideraba una enfermedad hereditaria que producía la degeneración de la “raza” y causaba despoblación, ya que los hombres la transmitían a la esposa y a los hijos, convirtiéndolos en criaturas débiles (27). Es evidente que la prostitución fue tolerada en las minas de Marmato; según la historia, las meretrices nunca fueron confinadas oficialmente en “casas de tolerancia”, como sucedía en Medellín. En cuanto a la blenorragia (uretritis gonocócica), se consideraba que afectaba a las mujeres de manera peculiar, pues se infectaban más fácilmente que los hombres y podían permanecer asintomáticas mucho tiempo, especialmente si eran prostitutas (27).

El paludismo, denominado “fríos y fiebres”, otra enfermedad endémica en todas las regiones de Colombia ubicadas debajo de los 1.500 msnm fue especialmente virulenta en las hoyas de los grandes valles. En la región bañada por el río Cauca, especialmente en la zona de Maibá (municipio de Supía), era muy común, y se ha reportado que se observaban “formas de carácter pernicioso” (1).

La anemia tropical por uncinariasis, también denominada “tun-tun”, anemia verminosa o anemia de mineros, era frecuente en la zona minera de Supía (28). Al igual que en la antigua China, también en Marmato la palidez amarillenta o palidez de los mineros de las minas de oro se atribuía al contacto con el metal, y se acompañaba de falta de energía e incapacidad para

trabajar (29). Se ha estimado que, entonces, el 95 % de la población rural de Colombia andaba descalza y estaba infestada de uncinarias, siendo las zonas interdigitales el sitio de entrada al cuerpo de “candelillas o mazamoras” (5).

No hay evidencia de la existencia de lepra en Marmato durante el siglo XIX. El primer caso en la zona se reportó en Salamina, en individuos venidos de Sonsón, en 1841. Una norma publicada el 8 septiembre de 1785 por el oidor Mon y Velarde ordenaba que todos los leprosos de Antioquia fueran llevados a la ciudad de Cartagena (14). Sin embargo, la lepra era muy frecuente en el país, especialmente entre negros y mulatos; en un informe de 1883 sobre las impresiones de su viaje al departamento de Antioquia, el Oidor mencionaba la gran frecuencia de “la desastrosa lepra, que las clases bajas creían que se originaba por el exagerado consumo de pescado” (15). En el extenso informe del doctor Robledo sobre la lepra en el departamento de Caldas, se señala que el único caso en la región del alto occidente a principios del siglo XX había sido importado de Pácora, de donde el paciente se había trasladado al municipio de Supía (1). Pácora se consideró el principal foco de propagación de esta enfermedad durante la segunda mitad del siglo XIX y, a finales de siglo, contaba con un leprosario en las afueras del pueblo (18).

La fiebre pútrida, llamada vulgarmente tabardillo (tifus exantemático), se atribuía

“[...] al desaseo, las malas habitaciones, la inacción, e indolencia de semejantes gentes, sus malos alimentos, sus desarreglos, y particularmente por mojarse y permanecer con los vestidos húmedos [...]” (25).

La epidemia más conocida en el país por sus devastadoras consecuencias fue la de la viruela en 1782, con un grave rebrote en Popayán en 1787 y otro entre 1801 y 1802 (30). Después de estos rebrotes, en el cantón de Supía se referencia una epidemia de viruela entre 1840 y 1841, la cual originó la muerte, no solo de la población, sino de soldados que participaban en la llamada Guerra de los Supremos, entre caucanos y antioqueños (7). En 1857, hubo otra epidemia de viruela en la región y, aunque la información es poca, es probable que también se presentaran brotes de sarampión, como sucedió en el sur de Antioquia (28). Hacia 1896, se construyó un hospital para virolentos en Titiribí en un lapso de solo cuatro días, financiado por la empresa de minas El Zancudo, por la presencia de un minero enfermo procedente de las minas de Marmato (13). Debido a la falta de conocimiento y de médicos que las trataran, para enfrentar estas pestes “los habitantes solo contaban con la ayuda de Nuestra Señora de las Mercedes y de San Roque, el santo de las Llagas” (30).

Las epidemias de sarampión y paperas en la región de la Vega de Supía y en otras zonas mineras tuvieron diversas presentaciones clínicas, desde “formas simples de tumefacción glandular hasta el caso agudo con altas temperaturas, complicación testicular, deformidad y mal estado general” (13).

Para las mordeduras de serpiente se utilizaba la cabeza desecada del animal, la cual se trituraba y se diluía en agua para ser bebida por la persona mordida. Si no se lograba capturar el animal, se les administraba la mezcla de tres yerbas, *Mikania guaco*, bejuco o hierba de serpiente, que fue estudiada por el sabio Mutis en Mariquita durante la Expedición Botánica, la contracapitana y la pareira. Al igual que las parteras, y dada la frecuencia de mordeduras, los esclavos “curanderos de picaduras de víboras” eran tenidos en gran estima por los amos de las minas para la atención de la población

del establecimiento minero (12). Para tratar las picaduras de gusanos, le sacaban las tripas al animal y se las untaban en la herida, lo que evitaba manifestaciones sistémicas tóxicas (6).

Las mutilaciones por accidentes de trabajo eran frecuentes. En un informe notarial de las minas del Cauca a comienzos del siglo XVIII, se hace una relación de 10 % de mancos, 13 % de quebrados, 4 % de cojos y 6 % de bubosos. Las lesiones incluían hernias discales y fracturas, denominadas en la época “quebrado de la rabadilla”, “quebrado del ombligo” y “quebrado de las ingles” (24).

Otro problema de la zona eran las tormentas eléctricas y los relámpagos, lo cual se conocía desde tiempo atrás, pues, como decía don Francisco Guillén Chaparro:

“[...] en el propio Cartago; el cielo de aquel pueblo, es que hay muchos serenos y lleve mucho y caen muchos rayos y hai grandes truenos y relámpagos i han muerto gentes [...]” (31).

Estos fenómenos se consideraban como una causa de muerte en la región, especialmente en las zonas altas de la montaña en los municipios del occidente caldense (1). Existe una historia en Marmato sobre un inglés administrador y pagador de un establecimiento minero en 1863, quien patrocinaba orgías con negros; durante una de sus báquicas fiestas, un rayo cayó en un algarrobo que se derrumbó y lo mató (32).

Cabría la pregunta de por qué en el alto occidente no había “coto” (bocio), una enfermedad endémica en el país durante el siglo XIX. El coto fue una de las enfermedades más frecuentes durante el siglo XIX en la Nueva Granada, pero no era frecuente en la zona, ya que las salinas abundantes en la región eran todas yodíferas y prevenían su desarrollo; además, fueron reguladas al finalizar el siglo XVIII por el visitador Mon y Velarde, pues eran explotadas al capricho de quien las descubría sin representar ningún ingreso para el fisco (14). Posteriormente, Boussingault estudió las causas del coto en las cordilleras de Colombia y explicó su poca frecuencia mediante el análisis químico de las salinas de las minas de la vega de Supía, mencionando que no encontró coto en los indios de tez bronceada (1).

Conclusiones

Las condiciones de salubridad y sus factores determinantes en la población minera de la zona de Marmato, región emblemática de la riqueza del suelo de la Nueva Granada, configuraron una situación de desequilibrio social, cultural, económico y político que impidió el desarrollo armónico de la población nativa. Las dramáticas condiciones de salubridad en la zona predisponían especialmente a enfermedades tropicales infecciosas, frecuentes desde tiempos inmemoriales, las cuales persistieron durante todo el siglo XIX en la región.

Referencias

1. Robledo E. Geografía médica y nosológica del departamento de Caldas, precedida de una noticia histórica sobre el descubrimiento y conquista del mismo. Manizales: Imprenta Departamental de Caldas; 1916. p. 185-95.
2. Poveda-Ramos G. Ingenieros y científicos inmigrantes a Colombia 1760-1950. Fecha de consulta: 15 de junio de 2020. Disponible en: https://issuu.com/gabriel_poveda/docs/inenieros_y_cientificos_inmigrantes_a_colombia

3. Restrepo V. Estudio sobre las minas de oro y plata de Colombia. 2ª edición. Bogotá: Imprenta de Silvestre y Compañía; 1888. p. 100-48.
4. Valencia-Llano A. Gobernación de Caldas. Caldas cien años: historia y cultura 1905-2005. 1ª edición. Manizales: Editorial La Patria; 1994. p. 24-5.
5. Parsons JJ. La colonización antioqueña en el occidente de Colombia. Versión española, prólogo y notas. 2ª edición. Bogotá: Banco de la República; 1961. p. 224-68.
6. Robledo E. La Medicina en los departamentos antioqueños. Medellín: Órgano de la Academia Antioqueña de Historia; 1924. p. 137-42.
7. Gartner A. Guerras civiles en el antiguo cantón de Supía. Relatos de episodios armados acaecidos entre el siglo XVI y el XIX. Luchas por las tierras del oro. Manizales: Editorial Universidad de Caldas; 2006. p. 57-75.
8. Eastman RD. Los Eastman: fuerza, linaje y coraje. Medellín: Medellín Artes y Letras. 2006. p. 197-205.
9. Boussingault JB. Memorias. Bogotá: Banco de la República; 1994. p. 231-42.
10. Robledo E. Bosquejo biográfico del señor oidor Juan Antonio Mon y Velarde Visitador de Antioquia 1785-1788. Tomo 1. Bogotá: Banco de la República; 1954. p. 83-90.
11. Hamilton JP. Viajes por el interior de las Provincias de Colombia. Bogotá: Banco de la República; 1955. p. 33-48.
12. Rodríguez P, Borja JH. La vida cotidiana en las minas coloniales. Bogotá: Editorial Norma; 1996. p. 59-78.
13. Gallo-Vélez O. Modelos sanitarios, prácticas médicas y movimiento sindical en la minería antioqueña. El caso de la empresa minera el Zancudo 1865-1948. Tesis maestría en Historia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2010. p. 88-146.
<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3618.0009>
14. Robledo E. Bosquejo biográfico del señor oidor Juan Antonio Mon y Velarde Visitador de Antioquia 1785-1788. Tomo 2. Bogotá: Banco de la República; 1954. p. 83-90
15. von Schenck F. Viaje por Antioquia 1880. Fecha de consulta: 8 de junio de 2020. Disponible en: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/172/1/ViajesAntioquia1880.pdf>
16. Colmenares G, Valencia A. Visitas de Moreno y Escandón y Campuzano. Indios y mestizos en la Nueva Granada, (1770-1779). Bogotá: Banco Popular; 1985. p. 107-8.
17. Morales-Benítez O. Marmato en la perspectiva de la historia nacional. Fecha de consulta: 8 de junio de 2020. Disponible en: <http://miblogcomencom.blogspot.com/2011/>
18. Mejía-Rivera O. Historia de la medicina en el eje cafetero 1865-1965. 1ª edición. Manizales: Editorial Universidad de Caldas; 2016. p. 187-222.
19. Peláez-Marín P. Peláez Marín, Piedad, El cuerpo, la salud y la enfermedad en los esclavos del Nuevo Reino de Granada, siglo XVIII. *Historia Crítica*. 2012;46:154-77.
20. Latorre-Mendoza L. Historia e historias de Medellín Siglos XVII-XVIII-XIX. Medellín: Imprenta oficial; 1934. p. 89-99.
21. Mutis JC. Estado sobre la medicina y de la cirugía en el Nuevo Reino de Granada en el siglo XVIII y medios para remediar su lamentable atraso. Santafé, 3 de junio de 1801. Bogotá: Instituto Colombiano de Cultura Hispánica; 1983;2:33-62.
22. Fernández de Oviedo G. Sumario de la natural historia de las indias. Ciudad de México: Fondo de Cultura Económica; 1950. p. 110-33.
23. André E. América equinoccial. En: Wiener C, Crevaux J, Charnay, D, André E. América pintoresca. Barcelona: Montaner y Simón Editores; 1884. p. 687-98.
24. Rodríguez P. Aspectos del comercio y la vida de los esclavos. Popayán 1780-1850. *Bol Antropol*. 2020;7:11-26.
25. González-López F. Conjuros y hospitales. Historia social de la medicina en Caldas. Manizales: Gráficas Tizán. 2005. p. 273-98.
26. Anónimo. Reflexiones sobre el origen de las comunes enfermedades que despueblan este Reyno. Las epidemias de Santafé de 1782. Bogotá: Shering. Fascículo 6; 1987. p. 1-12.
27. Obregón D. Médicos, prostitución y enfermedades venéreas en Colombia (1886-1951). *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*. 2002;9:161-86.
<https://doi.org/10.1590/S0104-59702002000400008>

28. Uribe-Ángel M. Geografía general y compendio histórico del Estado de Antioquia, en Colombia. Medellín: Imprenta de Víctor Goupi y Jourdan; 1885. p. 457-67.
29. Sarasti H. La anemia tropical en Colombia. Fecha de consulta: 8 de julio de 2020. Disponible en: https://www.academia.edu/14655572/ANEMIA_TROPICAL_EN_COLOMBIA
30. Quevedo E, Pérez GE, Miranda N, Eslava JC, Hernández M, Bustos-Lisa, *et al.* Medicina Ilustrada y crisis de autoridad (1782-1802). Bogotá: Tecnoquímicas; 2007. p. 2-10.
31. Otero-D`Costa E. Don Francisco Guillén Chaparro. Memoria de los pueblos de la Gobernación de Popayán y cosas y constelaciones que hay en ellos (Santafé 17 de febrero de 1583). Manizales: Imprenta Departamental de Caldas; 1919. p. 488-93.
32. Gartner A. Los místeres de las minas. Crónica de la colonia europea más grande de Colombia en el siglo XIX, surgida alrededor de las minas de Marmato, Supía y Riosucio. Manizales: Editorial Universidad de Caldas; 2005. p. 166-93.

Original article

Knowledge, attitudes, and practices related to COVID-19 among patients at *Hospital Universitario de Caracas* triage tent: A cross-sectional study

Fabián R. Chacón¹, Juan M. Doval¹, Verónica I. Rodríguez¹, Adriana Quintero¹, Daniela L. Mendoza¹, Mario D. Mejía¹, Óscar D. Omaña¹, Mariana B. Contreras¹, Sebastián Gasparini¹, Carmen J. González¹, Natasha A. Camejo-Ávila², Sinibaldo R. Romero³, David M. Flora-Noda⁴, Andrea L. Maricuto⁴, Viledy L. Velásquez⁴, Rafael N. Guevara⁴, Martín Carballo⁴, Jocays Caldera⁴, María C. Redondo⁴, María E. Landaeta⁴, Fhabían S. Carrión-Nessi², David A. Forero-Peña^{2,4}

¹ Escuela de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Distrito Capital, Venezuela

² Instituto de Investigación Biomédica y Vacunas Terapéuticas, Ciudad Bolívar, Venezuela

³ Medical Scientist Training Program (MD/PhD), University of Minnesota Medical School, Minneapolis, Minnesota, United States

⁴ Departamento de Enfermedades Infecciosas del Adulto, Hospital Universitario de Caracas, Caracas, Distrito Capital, Venezuela

Introduction: The studies on knowledge, attitudes, and practices (KAP) regarding COVID-19 help to identify erroneous concepts and inadequate practices related to the disease. This baseline information is essential to design effective strategies and improve adherence to prevention measures.

Objective: To identify the COVID-19-related KAP in Venezuelan patients screened at the *Hospital Universitario de Caracas* triage tent.

Materials and methods: We conducted a cross-sectional study among 215 patients between April 25th and May 25th, 2020, with in-person interviews using a KAP survey.

Results: Most surveyed patients (53.5%) were asymptomatic. Most of them, both from the symptomatic and the asymptomatic groups, had adequate knowledge about the symptoms and transmission of the disease and the majority said they were practicing quarantine, frequent handwashing, and the use of face masks in public areas. However, the daily replacement of cloth face masks was more frequent in the asymptomatic group whereas replacement every three days was more frequent in the symptomatic group. Finally, more than half of the participants admitted having been in crowded places, a common practice among the symptomatic compared to the asymptomatic patients.

Conclusions: This is the first KAP study in Venezuela about COVID-19. Knowledge and practices among Venezuelans could be improved by strengthening education and training programs. This information from the early phase of the pandemic in Venezuela may contribute to the design of COVID-19 promotion and prevention strategies.

Keywords: coronavirus infections; health knowledge, attitudes, practice; health promotion; Venezuela.

Conocimientos, actitudes y prácticas relacionadas con la Covid-19 en pacientes atendidos en la carpa de triaje del Hospital Universitario de Caracas: un estudio transversal

Introducción. Los estudios de conocimientos, actitudes y prácticas (CAP) relacionados con la Covid-19 permiten establecer los conceptos erróneos y las prácticas inadecuadas en torno a esta enfermedad, información fundamental para diseñar estrategias eficaces y mejorar el cumplimiento de las medidas de prevención.

Objetivo. Establecer los conocimientos, actitudes y prácticas relacionadas con la Covid-19 en pacientes venezolanos cribados en la carpa de triaje del Hospital Universitario de Caracas.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio transversal en 215 pacientes entre el 25 de abril y el 25 de mayo de 2020, mediante entrevistas personales y utilizando una encuesta sobre conocimientos, actitudes y prácticas.

Resultados. La mayoría (53,5 %) de los pacientes encuestados se encontraba asintomática; los encuestados tenían un conocimiento adecuado sobre los síntomas y la transmisión de la enfermedad, sin distinción entre sintomáticos y asintomáticos. La mayoría de ellos indicó estar respetando las prácticas de cuarentena, lavado de manos frecuente y uso de tapabocas en público; sin embargo, el reemplazo diario de los tapabocas de tela fue más frecuente en el grupo de los asintomáticos, en tanto que el reemplazo cada tres días fue más común entre los sintomáticos. Por último, más de la mitad de los participantes admitió haber estado en lugares concurridos, siendo esta práctica más frecuente entre los sintomáticos que entre los asintomáticos.

Received: 13/10/2020

Accepted: 16/04/2021

Published: 21/04/2021

Citation:

Chacón FR, Doval JM, Rodríguez VI, Quintero A, Mendoza DL, Mejía MD, *et al.* Knowledge, attitudes, and practices related to COVID-19 among patients at *Hospital Universitario de Caracas* triage tent: A cross-sectional study. *Biomédica*. 2021;41:48-61. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5808>

Corresponding author:

David Alberto Forero-Peña, Departamento de Enfermedades Infecciosas del Adulto, Hospital Universitario de Caracas, parroquia San Pedro, municipio Libertador, Caracas, Distrito Capital, Venezuela

Telephone: +58 (424) 954-8706
vacter.cv@gmail.com

Author contributions:

Rafael N. Guevara, Martín Carballo, Jocays Caldera, María C. Redondo, María E. Landaeta, Fhabían S. Carrión-Nessi, David A. Forero-Peña: study and survey design

Daniela L. Mendoza, Mario D. Mejía, Óscar D. Omaña, Mariana B. Contreras, Sebastián Gasparini, Carmen J. González Rodríguez, Natasha A. Camejo-Ávila, Sinibaldo R. Romero: data collection and analysis, statistical analysis

David M. Flora-Noda, Andrea L. Maricuto, Viledy L. Velásquez, Fhabían S. Carrión-Nessi, David A. Forero-Peña: data analysis

Fabián R. Chacón, Juan M. Doval, Verónica I. Rodríguez, Adriana Quintero: participated in all stages of the study and shared joint first authorship. All authors participated in review and editing.

Funding:

This research did not receive any specific grant funding from public, commercial, or non-profit institutions.

Conflicts of interest:

The authors declare no conflict of interest.

Nota: es importante señalar que los autores Fabián R. Chacón, Juan M. Doval, Verónica I. Rodríguez, Adriana Quintero y Fhabían S. Carrión-Nessi contribuyeron en partes iguales y comparten la primera autoría.

Conclusiones. Este es el primer estudio de conocimientos, actitudes y prácticas sobre la Covid-19 en Venezuela. El conocimiento y las prácticas de los venezolanos podrían mejorar mediante el fortalecimiento de los programas de educación y capacitación. Esta información, obtenida durante la fase inicial de la pandemia en Venezuela, podría contribuir al diseño de estrategias de promoción y prevención de la Covid-19.

Palabras clave: infecciones por coronavirus; conocimientos, actitudes y práctica en salud; promoción de la salud; Venezuela.

The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) causes the now called coronavirus disease 2019 (COVID-19) first reported in December 2019, in Wuhan, China (1). The World Health Organization (WHO) declared COVID-19 to be an international pandemic on March 11th, 2020 (2). Currently, the disease has spread to more than 190 countries with 126,372,442 cases and 2,769,696 deaths around the world (3). Despite efforts to mitigate it, the number of cases continues to rise in Latin America and the Caribbean (4). Throughout the American continent, every country has reported cases of COVID-19 with Brazil, the United States, Perú, Argentina, Mexico, and Colombia as the most affected ones. In Venezuela, by the time this study was made (May 25th, 2020), the number of cases was 1,211, and deaths summed up to 10. Until March 21st, 2021 (5), more than a year after the confinement, the number of cases was 149,145 and deaths amounted to 1,475 according to WHO (3) while the country's Ministry of Health had reported 155,663 cases and 1,555 deaths until March 29th, 2021.

By March 24th, 2021, three SARS-CoV-2 variants of concern, classified by WHO as B.1.1.7, B.1.351, and B.1.1.28, had been identified possibly increasing transmissibility, virulence, or a detrimental change in COVID-19 epidemiology or clinical presentation. In the region, variants of interest have also been reported in Argentina, Chile, México, Saint Maarten, the United States, Uruguay, and Venezuela, among them, the Brazilian variant P.2 whose proportion increased in this country from 0.7% to 45% between September 2020 and February 2021 (6).

On March 11th, 2020, a 41-year-old female was admitted to *Hospital Universitario de Caracas* (HUC) with a three-day story of fever, headache, and runny nose. She had traveled to Spain and Italy. The patient's nasopharyngeal swab tested positive for SARS-CoV-2 by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), thus confirming the first COVID-19 case in Venezuela (unpublished data). Immediately, the HUC installed a triage tent attached to the Infectious Diseases Department to evaluate suspected cases of COVID-19. Healthcare authorities and the Venezuelan Ministry of Health declared the HUC as the main satellite hospital for the screening and management of SARS-CoV-2 infection.

On March 13th, 2020, the state of national emergency was decreed in Venezuela, and measures of social distancing and the mandatory use of masks in public spaces were established and three days after, a national quarantine was declared (7). Despite these efforts, COVID-19 rapidly spread throughout the country. To maintain the number of cases at a minimum, it is essential that the public adheres to the sanitary control measures established by national and international authorities. The knowledge, attitudes, and practices (KAP) related to COVID-19 identify the willingness of the population to accept the behavioral changes implicit in the measures (8). KAP surveys measure individuals' knowledge and describe their attitudes and practices. Nevertheless, knowledge does not necessarily translate into the adoption of good practices. Which affects the population's adherence to the control

measures required to contain the spread of COVID-19.

KAP studies related to COVID-19 provide baseline information and direct insight about the disease, and contribute to the development of interventions targeting misconceptions and inadequate practices, as well as identifying strategies to improve the attitude of the population towards the pandemic control. In Latin America, there are few KAP studies about COVID-19 (10,11) and to the best of our knowledge, there are none in Venezuela. In this context, we conducted a cross-sectional study to identify KAP related to COVID-19 among Venezuelan patients screened at the HUC triage tent.

Materials and methods

Study design and population

A cross-sectional survey was conducted among patients screened at the triage tent attached to the HUC Infectious Diseases Department between April 25th and May 25th, 2020. Patients were included regardless of their consultation motive, or the presence of symptoms, or epidemiological link. The questionnaire required five minutes to be completed. The sample size was calculated using the population formula (12) and taking into account the number of individuals evaluated in the triage tent the previous month. A minimal sample size of 208 respondents was obtained with a 95% confidence interval and a 5% margin of error. Consecutive patients were invited to participate; we explained the objectives of the study and upon their acceptance, we asked them to answer a survey applied in a face-to-face interview by trained researchers at the HUC.

Measures

The survey was designed based on WHO recommendations and previous KAP studies in other countries (13-15). A group of clinicians with expertise in infectious diseases and epidemiology assessed the survey instrument and provided insight on its relevance and accuracy, as well as on the instrument simplicity keeping in mind the study population. The questionnaire was pre-tested on 30 participants in a pilot study. The data generated from this initial study was excluded from the final analyses.

The survey had a total of 34 questions: eight on socio-demographic characteristics including identification, gender, age, place of origin, address, occupation, education, and ethnic identity; two related to symptoms and epidemiological link; nine about previous knowledge on COVID-19 symptoms, transmission, and prevention; four about attitudes towards COVID-19 control and prevention, and eight questions about practices such as handwashing, social distancing, and wearing face masks, among others. In addition, three questions were included for occupation, educational level, and ethnicity.

Statistical analysis

The data analysis included descriptions of the characteristics of the sample studied using central tendency and variability measures (average, standard deviation) for the age variable, which had a normal distribution (Kolmogorov-Smirnov). The other variables were analyzed using Pearson's chi-square test, chi-square test with Yates' correction, and Fisher's exact test as appropriate. A *p*-value < 0.05 was considered significant. The data were processed using SPSS v.25.0. Binomial and multinomial logistic regression analyses were performed to determine the relationships between

sociodemographic characteristics, the presence or absence of symptoms, and KAP; the variables included were age, sex, occupation, education, the reason for consultation, and the presence or absence of symptoms.

Ethical considerations

The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (WMA, 2013). The protocol was reviewed and approved by the *Centro Nacional de Bioética* (CENABI), Caracas, Venezuela. The participation in the survey was anonymous, consensual, and voluntary, with informed consent given by all respondents.

Results

We surveyed 215 patients screened at the HUC triage tent. Most of them (53.5%) were asymptomatic while 100 (46.5%) were symptomatic. Only 7.9% of the patients had an epidemiological link (travel history to a high transmission area or exposure to a suspected or confirmed COVID-19 case). All patients evaluated in the study had a negative RT-PCR. Table 1 shows additional detailed socio-demographic characteristics of the sample.

Table 1. Socio-demographic characteristics of the patients

Characteristics	Total n = 215 (100%)	Symptomatic n = 100 (46.5%)	Asymptomatic n = 115 (53.5%)	p-value
Age, years (mean)	40 (15)	41 (15)	39 (16)	0.258*
Sex				
Male	111 (51.6)	56 (56)	55 (47.8)	0.232†
Female	104 (48.4)	44 (44)	60 (52.2)	
Occupation (sector)				
Merchant	35 (16.3)	17 (17)	18 (15.7)	0.062‡
Student	28 (13)	10 (10)	18 (15.7)	
Health care worker	23 (10.7)	12 (12)	11 (9.6)	
Administrative worker	19 (8.8)	10 (10)	9 (7.8)	
Stay at home spouse	18 (8.4)	10 (10)	8 (7)	
Food sector	10 (4.7)	5 (5)	5 (4.3)	
Workman/Maintenance	15 (7)	8 (8)	7 (6.1)	
Telephone operator	6 (2.8)	0 (0)	6 (5.2)	
Other	26 (12.1)	9 (9)	17 (14.8)	
Security guard/Military/Policeman	19 (8.8)	14 (14)	5 (4.3)	
Transportation	8 (3.7)	1(1)	7 (6.1)	
Educational level				
Primary education	49 (22.8)	28 (28)	21 (18.3)	0.109‡
Secondary education	89 (41.4)	40 (40)	49 (42.6)	
University/Technical	75 (34.9)	30 (30)	45 (39.1)	
None	2 (0.9)	2 (2)	-	
Main consultation motive				
I need the screening test to travel.	66 (30.7)	3 (3)	63 (54.8)	0.000 ^{§§}
I think I have the symptoms of COVID-19.	52 (24.2)	51 (51)	1 (0.9)	
I had contact with a confirmed or suspected COVID-19 case.	52 (24.2)	51 (51)	1 (0.9)	
My family/doctor/employer told me to come to take the test to rule out	74 (34.4)	33 (33)	41 (35.7)	
I have a comorbidity.	2 (0.9)	1 (1)	1 (0.9)	
I am afraid of COVID-19.	8 (3.7)	6 (6)	2 (1.7)	
I live with vulnerable people such as elders or people with comorbidities.	3 (1.4)	3 (3)	0 (0)	

* t-Student

† Chi² Pearson

‡ Exact Fisher test

§ Post-hoc analysis only significant for asymptomatic and "I think I have the symptoms of COVID-19" (standardized residues: 5.5) and "I need the screening test to travel" (standardized residues: 4.7)

§ Post-hoc analysis only significant for symptomatic and "The doctor told me to come to rule out coronavirus" (standardized residues: 2.5)

¶ Post-hoc analysis only significant for asymptomatic and "Trip to other state or country" (standardized residues: 4.7)

Regarding patients' knowledge, fever, cough, and dyspnea were identified as the first symptoms detected in COVID-19 patients by both symptomatic and asymptomatic groups (figure 1). The most frequently recognized transmission mechanism was by droplets and secretions (75.3%) followed by physical contact (56.7%). The most frequent preventive measures known by patients were wearing face masks in public areas (79.5%), frequent handwashing practices (66.5%), and self-quarantine (50.7%) with no differences between the two groups (table 2). More than half of the interviewees (53%) believed that Venezuela lacks enough resources to control the COVID-19 infection. Almost all the interviewees (96.7%) agreed that quarantine compliance could decrease the number of cases and most said (83.3%) that the national quarantine should continue in Venezuela. Finally, most patients (83.3%) felt that doctors should not work without personal protection equipment.

As for practices, most interviewees said that they observed preventive measures including frequent handwashing, wearing a face mask in public areas, and respecting quarantine guidelines; no differences were observed between asymptomatic and symptomatic groups (figure 2). Other less commonly preferred preventive practices are shown in table 3. More than half of the interviewees admitted to having been in a crowded place, a practice which was more frequent in the symptomatic than the asymptomatic group (68% vs. 46.1%; $p = 0.001$). In most cases (29.8%), the presence in crowded places was attributed to grocery shopping. Cloth (62.3%) and surgical type of face masks (34.9%) were the most used by the interviewees; the least frequently used (2.8%) was the N95 model. Daily mask replacement was less frequent in symptomatic patients compared to asymptomatic ones (34% vs. 56.5%; $p = 0.002$). Mask replacement every three days was more frequent among symptomatic than asymptomatic patients (46% vs. 26.1%; $p = 0.002$). Most of the interviewees (68.8%) washed their hands with soap more than five times a day (table 4).

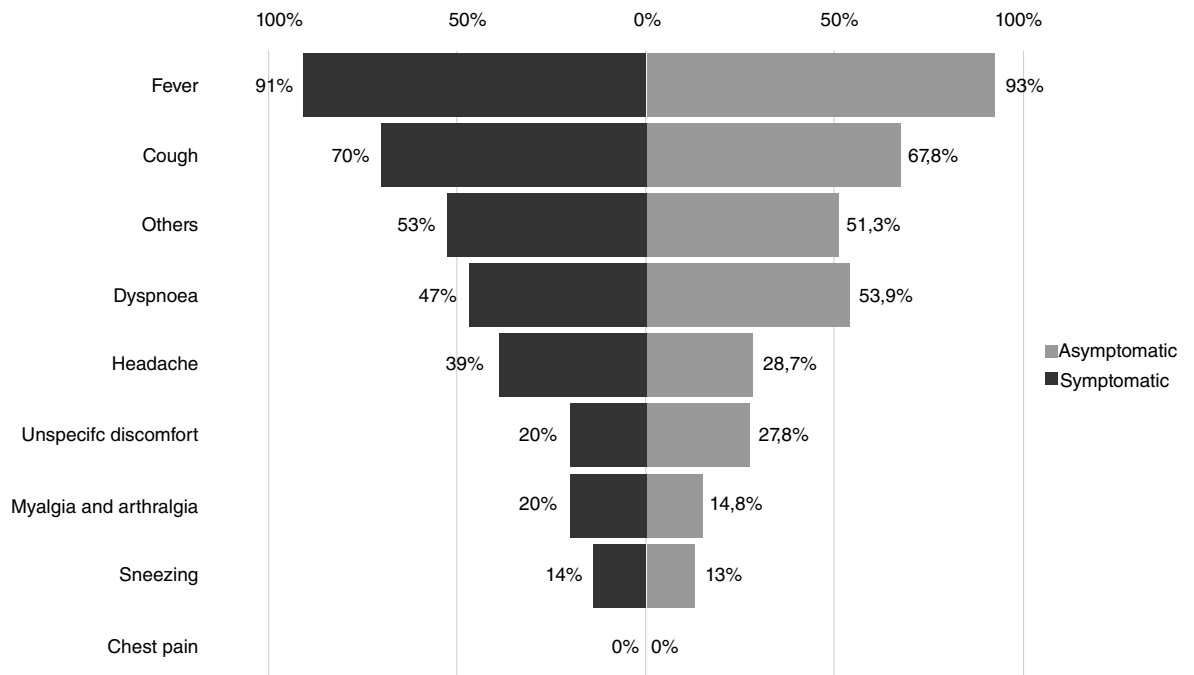


Figure 1. Knowledge about COVID-19 symptoms
 $p > 0.05$ (Chi² Pearson)
 Others include sore throat, runny nose, nasal congestion, diarrhea.

Table 2. Knowledge about COVID-19 in symptomatic and asymptomatic patients screened at the triage tent

Knowledge	Total n = 215 (100%)	Symptomatic n = 100 (46.5%)	Asymptomatic n = 115 (53.5%)	p-value
How does COVID-19 spread?				
By contacting with droplets and secretions from an infected person	162 (75.3)	72 (72.0)	90 (78.3)	0.288*
By maintaining physical contact with an infected person	122 (56.7)	53 (53.0)	69 (60.0)	0.301*
By entering a contaminated space from an infected person	98 (45.6)	47 (47.0)	51 (44.3)	0.697*
Other	36 (16.7)	22 (22.0)	14 (12.2)	0.054*
By maintaining sexual intercourse with an infected person	1 (0.5)	-	1 (0.9)	0.350†
Didn't know/Didn't answer	1 (0.5)	-	1 (0.9)	0.350†
How can COVID-19 be prevented?				
Wearing a face mask in public areas	171 (79.5)	82 (82.0)	89 (77.4)	0.403*
Hand washing frequently	143 (66.5)	69 (69.0)	74 (64.3)	0.562*
Respecting quarantine	109 (50.7)	47 (47.0)	62 (53.9)	0.340*
Wearing gloves in public areas	78 (36.3)	31 (31.0)	47 (40.9)	0.156*
Disinfecting and keeping the house clean	60 (27.9)	27 (27.0)	33 (28.7)	0.879*
Practicing social distancing	52 (24.2)	24 (24.0)	28 (24.3)	0.953*
Other	35 (16.3)	14 (14.0)	21 (18.3)	0.461*
What is the first thing a person should do when COVID-19 symptoms begin to show?				
Go to a doctor to have the screening test done	181 (84.2)	85 (85.0)	96 (83.5)	0.016†
Stay home to prevent contagion to other people	23 (10.7)	7 (7.0)	16 (13.9)	
Other (Call a doctor without leaving the house)	8 (3.7)	7 (7.0)	1 (0.9)	
Didn't know/Didn't answer	2 (0.9)	0 (0.0)	2 (1.7)	
Take a home remedy, plant infusions, or self-medicate	1 (0.5)	1 (1.0)	-	
Can asymptomatic people infected with COVID-19 transmit the disease?				
Yes	177 (82.3)	79 (79.0)	98 (85.2)	0.044*
No	24 (11.2)	10 (10.0)	14 (12.2)	
Didn't know/Didn't answer	14 (6.5)	11 (11.0)	3 (2.6)	
Can COVID-19 be transmitted by pets?				
Yes	47 (21.9)	22 (22.0)	25 (21.7)	0.832*
No	143 (66.5)	65 (65.0)	78 (67.8)	
Didn't know/Didn't answer	25 (11.6)	13 (13.0)	12 (10.4)	
Does COVID-19 only complicate in elders or people with comorbidities?				
Yes	90 (41.9)	45 (45.0)	45 (39.1)	0.703†
No	123 (57.2)	54 (54.0)	69 (60.0)	
Didn't know/Didn't answer	2 (0.9)	1 (1.0)	1 (0.9)	
Does a cure for COVID-19 already exist?				
Yes	21 (9.8)	14 (14.0)	7 (6.1)	0.011*
No	177 (82.3)	74 (74.0)	103 (89.6)	
Didn't know/Didn't answer	17 (7.9)	12 (12.0)	5 (4.3)	
How or who did you learn from what you know about COVID-19?				
Traditional media sources (television, radio, posters and flyers)	159 (74.0)	77 (77.0)	82 (71.3)	‡
Television	155 (97.48)	75 (97.40)	80 (97.56)	
Radio	41 (25.79)	21 (27.27)	20 (24.39)	
Posters and flyers	5 (3.14)	4 (5.19)	1 (1.22)	
Social media (Facebook®, Instagram®, Twitter®, WhatsApp®)	102 (47.7)	44 (44.4)	58 (50.4)	
Facebook®	58 (56.86)	31 (70.45)	27 (46.55)	
Instagram®	51 (50)	20 (90.90)	31 (53.45)	
Twitter®	33 (32.35)	13 (29.54)	20 (34.48)	
WhatsApp®	48 (47.06)	25 (56.81)	23 (39.66)	
Healthcare workers	35 (16.3)	16 (16.0)	19 (16.5)	
Friends or neighbors	18 (8.4)	9 (9.0)	9 (7.8)	
Family	10 (4.7)	8 (8.0)	2 (1.7)	

* Chi² Pearson

† Exact Fisher test

‡ Chi² Yates correction

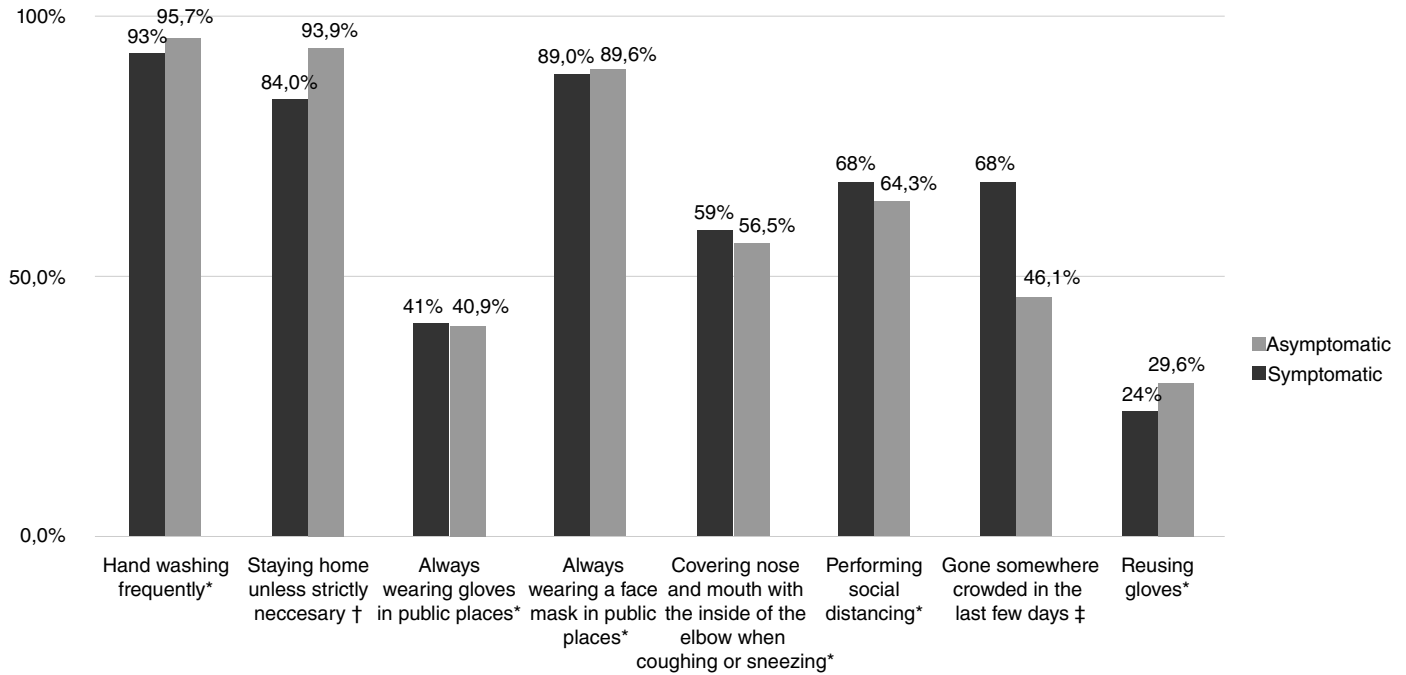


Figure 2. Preventive practices that the surveyed patients refer to perform

* $p > 0.05$ (Chi² Pearson)

† $p: 0.019$ (Chi² Pearson)

‡ $p: 0.001$ (Chi² Pearson)

Table 3. Attitudes regarding COVID-19 in symptomatic and asymptomatic patients screened at the triage tent

Attitudes	Total n = 215 (100%)	Symptomatic n = 100 (46.5%)	Asymptomatic n = 115 (53.5%)	p-value
Do you think Venezuela is well prepared to control the coronavirus?				
Yes	92 (42.8)	47 (47.0)	45 (39.1)	0.446*
No	114 (53.0)	50 (50.0)	64 (55.7)	
I don't know	9 (4.2)	3 (3.0)	6 (5.2)	
Do you believe that if people respect quarantine the number of cases can lower?				
Yes	208 (96.7)	95 (95.0)	113 (98.3)	0.338†
No	7 (3.3)	5 (5.0)	2 (1.7)	
I don't know	-	-	-	
Do you think that quarantine should continue?				
Yes	179 (83.3)	90 (90.0)	89 (77.4)	0.019*
No	33 (15.3)	10 (10.0)	23 (20.0)	
I don't know	3 (1.4)	-	3 (2.6)	
In a crisis situation, do you think that doctors should take care of patients without personal protection equipment?				
Yes	34 (15.8)	19 (19.0)	15 (13.0)	0.141*
No	179 (83.3)	79 (79.0)	100 (87.0)	
I don't know	2 (0.9)	2 (2.0)	-	

* Exact Fisher test

† Chi² Yates correction

Table 4. Practices related to COVID-19 in symptomatic and asymptomatic patients screened at the triage tent

Practices	Total n = 215 (100%)	Symptomatic n = 100 (46.5%)	Asymptomatic n = 115 (53.5%)	p-value
Face mask wear				
Which type of face mask do you wear?				0.151 [†]
Fabric	134 (62.3)	69 (69.0)	6 (56.5)	
Surgical	75 (34.9)	29 (29.0)	46 (40.0)	
N95	6 (2.8)	2 (2.0)	4 (3.5)	
How often do you replace your face mask?				0.002 [†]
Twice a day	8 (3.7)	2 (2.0)	6 (5.2)	
Daily	99 (46.0)	34 (34.0)	65 (56.5)	
Every two days	32 (14.9)	18 (18)	14 (12.2)	
Every 3 days or longer	76 (35.3)	46 (46.0)	30 (26.1)	
Hand washing				
How many times a day do you wash your hands with soap and water?				0.268 [†]
1-2 times	14 (6.5)	9 (9.0)	5 (4.3)	
3-4 times	52 (24.2)	21 (21.0)	31 (27.0)	
5 times or more	148 (68.8)	69 (69.0)	79 (68.7)	
Never	1 (0.5)	1 (1.0)	-	
How many times a day do you clean your hands with alcohol gel?				0.065 [*]
1-2 times	25 (11.6)	11 (11.0)	14 (12.2)	
3-4 times	30 (14.0)	9 (9.0)	21 (18.3)	
5 times or more	71 (33.0)	30 (30.0)	41 (35.7)	
Never	89 (41.4)	50 (50.0)	39 (33.9)	

* Chi² Pearson

† Exact Fisher test

As regards knowledge, we determined that disease transmission “by contact with droplets and secretions” ($p = 0.021$; adjusted Pearson: 0.307; Nagelkerke pseudo-R: 0.162) was related to the variable of educational level ($p = 0.002$) and found that patients with primary education were more likely to respond that COVID-19 is transmitted by droplets than those with other educational levels (B: 1.752; $p = 0.004$; OR: 5.765; 95% CI: 1.722-19.304). Likewise, regarding the origin of knowledge about COVID-19, the model ($p < 0.001$; adjusted Pearson: 0.644; Nagelkerke pseudo-R: 0.344) evidenced a relation ($p = 0.038$) between the occupation as lawyers, administrative workers, food sector workers, merchants, students, maintenance workers, and healthcare workers and obtaining the information from traditional sources while there was no relation between primary education level and obtaining information from traditional sources (table 5). Besides, we found a relationship between obtaining information from social networks ($p < 0.001$; adjusted Pearson: 0.106; Nagelkerke pseudo-R: 0.290) and age ($p = 0.010$). The younger the participant, the greater the probability that he/she obtained their knowledge from social networks while patients with only primary education ($p < 0.001$) were more likely to obtain their knowledge from social networks than those with other education levels. Regarding attitudes, the model ($p = 0.006$; adjusted Pearson: 0.996; Nagelkerke pseudo-R: 0.291) found a relationship between age and the belief that Venezuela is ready to control the virus ($p = 0.037$), with younger respondents being more likely to believe that this is possible (table 5).

Regarding practices, we found that frequent handwashing ($p = 0.004$; adjusted Pearson: 0.978; Nagelkerke pseudo-R: 0.539) was related to the educational level ($p < 0.001$), and in its turn, this was related to social distancing ($p = 0.014$; adjusted Pearson: 0.231; Nagelkerke pseudo-R: 0.237), as well as to the presence or absence of symptoms ($p = 0.016$) with asymptomatic patients being more likely to maintain social distance than symptomatic ones. The model was also valid in relating the frequency of changing the mask ($p = 0.012$; adjusted Pearson: 0.996; Nagelkerke

pseudo-R: 0.409) with occupation ($p = 0.049$), as well as with the presence or absence of symptoms ($p < 0.001$). Patients working in the healthcare sector were less likely to change masks every two days, as well as merchants, while asymptomatic patients were more likely to change it daily (table 5).

Table 5. Socio-demographic characteristics and presence or absence of symptoms and their relationship with KAP

KAP	Beta	p-value	OR	95% confidence interval for OR	
Knowledge					
Transmission of the disease by contact with droplets and secretions from an infected person					
Educational level	1,752	0,004	5,765	1,722	19,304
Source of information about COVID-19					
Traditional media					
Occupation					
Lawyer	17,843	<0,001	56123332,1	7166647,9	
Administrative worker	17,536	<0,001	41277816,0	7708881,1	439512089,4
Food sector worker	18,380	<0,001	96014877,9	15354225,0	221025342,2
Merchant	17,752	<0,001	51231102,7	11274644,3	600411728,0
Student	18,850	<0,001	153622214,2	32676461,0	232790126,3
Maintenance	17,674	<0,001	47403428,4	7068080,3	72225846,1
Health care worker	18,669	<0,001	128179393,1	27088562,3	317920128,9
Primary schooling	-1,332	0,043	0,264	0,073	606527457,40,959
Social media networks					
Age	-0,034	0,035	0,967	0,937	0,998
Primary schooling	2,291	0,000	9,887	3,145	31,077
Attitudes					
Do you think Venezuela is prepared to control the virus (COVID-19)?	-0,033	0,012	0,967	0,942	0,993
Age					
Practices					
Frequent handwashing and primary schooling	2,444	0,048	11,57	11,02	129,37
Social distancing	2,036	<0,001	7,659	2,532	23,173
Primary schooling	1,194	0,019	3,3	1,217	8,959
Asymptomatic					
How frequently do you change your face mask?					
Occupation					
Healthcare worker (every 2 days)	-3,56	0,030	0,028	0,001	0,713
Merchant (every 2 days)	-2,97	0,033	0,051	0,003	0,781
Asymptomatic (daily)	1,96	0,001	7,1	2,3	21,9

Discussion

We evaluated here the KAP towards COVID-19 in a sample of the Venezuelan population after the identification of the first case and before the beginning of the exponential increase of cases (16). Our results serve as a baseline report of the knowledge and practices of Venezuelan patients and suggest that patients who were screened in the HUC triage tent during the study period had adequate knowledge regarding COVID-19 symptoms, transmission, and preventive measures.

Unlike most KAP studies in other countries, which conducted online surveys through social networks (8,14,17-21), the data for this study was collected through face-to-face interviews with patients attending the HUC COVID-19 screening tent. This allowed us to collect a robust dataset about clinical symptoms and patients' reasons for consultation. Interestingly, the majority of the surveyed patient population was asymptomatic and consulted to request a COVID-19 test (a rapid test) or a "no suspicion of COVID-19" report. This may be because Venezuela initiated quarantine protocols very quickly (four days after the first case) (7). National transit was rapidly restricted and international borders were temporarily closed, thus limiting local and national travel. Travelers and essential workers were required to report the results of screening tests to travel or return to work. However, this "immunological passport" could have

given false security about not being infected because rapid tests have low sensitivity to detect infection in asymptomatic people or in the initial phase of the disease (22,23). This could have had consequences in patient behavior during the pandemic in the country.

Regarding the knowledge of COVID-19 symptoms, in other similar studies (14,18-20,24), most interviewees recognized fever, dry cough, and dyspnea as the main symptoms of a sick person. As in most countries, our results showed that the majority of interviewees considered using barrier methods (masks and gloves, handwashing, and social distancing) as the main preventive measures to avoid contagion (14,24). The participants obtained information on SARS-CoV-2 from several sources, television being the most prevalent (97.5%) followed by social networks (47.7%) such as Instagram® (50%), and instant messaging services such as WhatsApp® (47%). These results are consistent with other international studies (21). However, a preliminary systematic review of KAPs towards COVID-19 pandemic in America reviewing 13 articles from different areas of the American continent including eight from the United States, two from Brazil, one from Colombia, one from Paraguay, and one from Ecuador, found that people who used official government sites to get news and clarifications were associated with better knowledge about COVID-19 and were more likely to adhere to national health guidelines and show a positive attitude and correct behaviors. On the other hand, people who preferred information from social networks, besides having obvious knowledge gaps, were more prone to dangerous behaviors (25).

Concerning patients' attitudes, the belief that the Venezuelan government could effectively control the virus (42.8%) was greater than in Perú (23.1%) (11); however, it was much less than in China (97.1%) and Tanzania (96%) (14,19), significantly inferior to other countries of the area, such as Colombia (51,3%), Paraguay (66%), and Ecuador (63%) (26-28), and similar to Brazil (41%) (29). Such results would suggest discontent and a high sense of risk among the surveyed population and be decisive for the development and application of public health measures to face the epidemic in the region. They would also explain why most surveyed patients agreed that quarantine protocols should continue in Venezuela.

Most participants practiced frequent handwashing (94.4%) and the use of face masks in public places (89.3%), even more frequently than reported in other countries such as Pakistan (88.1% and 85.8%, respectively), Malaysia (87.8% and 51.2%, respectively) (8,24), and Paraguay where only 74% reported using masks in public places (27). Our findings are similar to those reported in Colombia (94% and 89,3%, respectively) (26), probably due to the government's campaign to broadcast information related to the disease and special measures like the mandatory use of face masks by citizens (7). However, both China and Ecuador report a broader use of face masks in public places (98% and 93%, respectively) (14,28). Most countries report individuals avoiding crowded places (96.4% in China, 93.7% in Australia, 90.4% in Iran, 90.3% in Nigeria, 89% in Ecuador, 97% in Colombia, 88% in Paraguay, among others) (14,21,26-28,30,31). While many of the surveyed participants frequently visited crowded places (56.3%), most of them had previously answered that they were respecting the quarantine (89.3%). This situation was also reported in Nigeria (21), where 27.5% of the population reported visits to crowded places during the period of the survey. This can be explained by the difficulty of local governments to implement strict prevention and control measures including the total closure of popular food markets, social distancing, and the mandatory use of face masks.

Additionally, most Venezuelan citizens rely on menial jobs for their daily survival, even during quarantine. The palliative measures provided by the government seemed to have been insufficient during the time of the survey. A similar situation was reported in Nairobi, Kenya, where most participants breached quarantine by returning to work due to dwindled income and food shortages (18). Finally, the economic crisis in Venezuela and the concomitant low salary make it more difficult for individuals to afford cleaning products or masks. This might explain the low frequency of alcohol-based gel solutions used for handwashing (41.4%) and the frequent use of face masks made from cloth (62.3%). Another factor that has to be taken under consideration is that although the population has good theoretical knowledge, this does not necessarily reflect in their behavior, as is the case of Brazil. A study in 4,436 individuals from different Brazilian regions showed that the population, in general, had satisfactory knowledge of COVID-19; however, the practice of social distancing in this country is still unsatisfactory, agglomeration cases are recurrent, and, although efficient, preventive measures do not show significant adherence by the population. Thus, there is a gap between theoretical knowledge and satisfactory practice (29).

Our multivariate analysis demonstrated that patients with primary education had more knowledge about SARS-CoV-2 transmission than other education levels. According to other studies on COVID-19, knowledge about the disease can increase among individuals from lower schooling levels when educational health programs are implemented (14), which could be related to our results. As in other studies (20, 21), knowledge in younger adults and patients with only primary education was probably acquired through social media, a popular new method reported worldwide. In contrast with results from another study (32), we found that among younger people positive attitudes associated with the belief that Venezuela is prepared for controlling the virus predominated, which could respond to the fact that young people are more optimistic about this matter. Regarding practices, the asymptomatic patients tended to be more inclined to wash their hands and avoid crowded places, with the exception of potential exposure at their workplaces, and handwashing with sanitizer was the most frequently used method, as was evidenced in other countries (33). In general, people with higher education levels tend to have better protection practices and asymptomatic patients tend to change their masks or disinfect them more frequently (at least every two days).

Although we provided key insight on patients' KAPs about COVID-19 in Venezuela, our study has some limitations. First, the questionnaire was not previously validated for KAPs regarding COVID-19; however, the questions used were based on WHO recommendations and previous KAP studies validated in other countries (13-15), and second, we evaluated KAPs regarding COVID-19 in a single diagnostic center, so more studies are required to examine knowledge gaps and practices by patients treated at different satellite centers in the country. Notwithstanding these limitations, this is the first study evaluating KAPs regarding COVID-19 in Venezuela and our results can be used to promote healthy practices and enhance patient care through educational and preventive strategies at the national level. They could also be useful for public healthcare authorities from other countries in the American continent.

The study found adequate knowledge regarding the SARS-CoV-2 infection symptoms, transmission, and prevention among patients screened at the HUC triage tent, as well as high demand for the test by asymptomatic

patients wanting to travel to other states or countries, or returning to work. The information was obtained during the early phase of the pandemic in Venezuela and could contribute to design COVID-19 prevention strategies, foster optimistic attitudes, and promote safe practices.

Acknowledgments

We would like to thank all the volunteers and patients who participated in the study.

References

1. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Geneva: WHO, 2020. Date of access: May 22, 2020. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
2. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): situation report, 51. Geneva: WHO, 2020. Date of access: May 22, 2020. Available from: www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports
3. World Health Organization. COVID-19 Weekly Epidemiological Update. Geneva: WHO, 2021. Date of access: March 30, 2021. Available from: www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports
4. Rodríguez-Morales AJ, Gallego V, Escalera-Antezana JP, Méndez CA, Zambrano LI, Franco-Paredes C, *et al.* COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Med Infect Dis.* 2020;35:101613. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101613>
5. Ministerio del Poder Popular para la Salud. Reporte Estadístico del COVID-19 en Venezuela. Date of access: March 29th, 2021. Available from: <https://covid19.patria.org.ve/estadisticas-venezuela/>
6. Pan American Health Organization/World Health Organization. Epidemiological Update: Variants of SARS-CoV-2 in the Americas. Washington, D.C.: PAHO/WHO; 2021.
7. Servicio Autónomo Imprenta Nacional y Gaceta Oficial. Gaceta Oficial Extraordinaria N°6.519: Se decreta el Estado de Alarma en todo el Territorio Nacional, por epidemia del coronavirus (COVID-19). Marzo, 2020. Date of access: May 22, 2020. Available from: <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ven194367.pdf>
8. Azlan AA, Hamzah MR, Sern TJ, Ayub SH, Mohamad E. Public knowledge, attitudes and practices towards COVID-19: A cross-sectional study in Malaysia. *Plos ONE.* 2020;15:e0233668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233668>
9. Goutille, F. Knowledge, Attitudes and Practices for Risk Education: How to Implement KAP Surveys: Guideline for KAP Survey Manager. *Handicap Int.* 2009. Date of access: May 22, 2020. Available from: https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/Landmines_How_to_implement_KAP_Surveys.pdf
10. del Valle A, Briggs H, Chang B, Chew A, Medina B, Muñoz G, *et al.* COVID-19-related knowledge, attitudes, and practices among decision makers of indigenous municipalities in Guatemala: Study description. *Population Council* 2020. Date of access: May 22, 2020. Available from: <https://doi.org/10.31899/pgy14.1011>
11. Zegarra-Valdivia J, Chino-Vilca B, Ames-Guerrero R. Knowledge, perception and attitudes in regard to COVID-19 Pandemic in Peruvian Population. *PsyArXiv Preprints.* 2020. Date of access: May 22, 2020. Available from: <https://doi.org/10.31234/osf.io/kr9ya>
12. Kadam P, Bhalerao S. Sample size calculation. *Int J Ayurveda Res.* 2010;1:55-7. <https://doi.org/10.4103/0974-7788.59946>
13. World Health Organization. Risk Communication and Community Engagement (RCCE) Action Plan Guidance COVID-19 Preparedness and Response. Geneva, Switzerland: WHO, 2020. Date of access: May 22, 2020. Available from: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/covid19-rcce-guidance-final-brand.pdf>
14. Zhong BL, Luo W, Li HM, Zhang QQ, Liu XG, Li WT, *et al.* Knowledge, attitudes, and practices towards COVID-19 among Chinese residents during the rapid rise period of the COVID-19 outbreak: A quick online cross-sectional survey. *Int J Biol Sci.* 2020;16:1745-52. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45221>

15. Geldsetzer P. Knowledge and perceptions of COVID-19 among the general public in the United States and the United Kingdom: A cross-sectional online survey. *Ann Intern Med.* 2020;M20-0912. <https://doi.org/10.7326/M20-0912>
16. Paniz-Mondolfi AE, Sordillo EM, Márquez-Colmenarez MC, Delgado-Noguera LA, Rodríguez-Morales AJ. The arrival of SARS-CoV-2 in Venezuela. *Lancet.* 2020;395:e85-e86. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31053-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31053-9)
17. Acharya R, Gundi M, Ngo T, Pandey N, Patel S, Pinchoff J, *et al.* COVID-19-related knowledge, attitudes, and practices among adolescents and young people in Bihar and Uttar Pradesh, India: Study description. Population Council. 2020. Date of access: May 29, 2020. Available from: https://knowledgecommons.popcouncil.org/cgi/viewcontent.cgi?article=2007&context=departments_sbsr-pgy
18. Austrian K, Pinchoff J, Tidwell JB, White C, Abuya T, Kangwana B, *et al.* COVID-19 related knowledge, attitudes, practices and needs of households in informal settlements in Nairobi, Kenya. *Bull World Health Organ.* 2020. <https://doi.org/10.2471/BLT.20.260281>
19. Byanaku A, Ibrahim M. Knowledge, attitudes, and practices (KAP) towards COVID-19: A quick online cross-sectional survey among Tanzanian residents. *MedRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.26.20080820>
20. Abdelhafiz AS, Mohammed Z, Ibrahim ME, Ziady HH, Alorabi M, Ayyad M, *et al.* Knowledge, perceptions, and attitude of Egyptians towards the novel coronavirus disease (COVID-19). *J Community Health.* 2020;45:881-90. <https://doi.org/10.1007/s10900-020-00827-7>
21. Reuben RC, Danladi MMA, Saleh DA, Ejembi PE. Knowledge, Attitudes and Practices towards COVID-19: An epidemiological survey in North-Central Nigeria. *J Community Health.* 2020. <https://doi.org/10.1007/s10900-020-00881-1>
22. Long Q, Tang X, Shi Q, Li Q, Deng H, Yuan J, *et al.* Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020;26:1200-4. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
23. Arévalo-Rodríguez I, Buitrago-García D, Simancas-Racines D, Zambrano-Achig P, del Campo R, Ciapponi A, *et al.* False-negative results of initial RT-PCR assays for COVID-19: A systematic review. *medRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20066787>
24. Hayat K, Rosenthal M, Xu S, Arshed M, Li P, Zhai P, *et al.* View of Pakistani residents toward coronavirus disease (covid-19) during a rapid outbreak: A rapid online survey. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17:3347. <https://doi.org/10.3390%2Fijerph17103347>
25. Sarria-Guzmán Y, Fusaro C, Bernal J, Mosso-González C, González-Jiménez F, Serrano-Silva N. Knowledge, attitude and practices (KAP) towards COVID-19 pandemic in America: A preliminary systematic review. *J Infect Dev Ctries.* 2021;15:9-21. <https://doi.org/10.3855/jidc.14388>
26. Bates BR, Villegas A, Grijalva MJ. Knowledge, attitudes, and practices towards COVID-19 among Colombians during the outbreak: An online cross-sectional survey. *J Community Health.* 2020;13:262-70. <https://doi.org/10.1080/17538068.2020.1842843>
27. Ríos-González C. Knowledge, attitudes, and practices towards COVID-19 in Paraguayans during outbreak: A quick online survey. *Nat Univ Caaguazú.* 2020. <https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.149>
28. Bates BR, Moncayo AL, Costales JA, Herrera-Cespedes CA, Grijalva MJ. Knowledge, attitudes, and practices towards COVID-19 among Ecuadorians during the outbreak: An online cross-sectional survey. *J Community Health.* 2020;45:1158-67. <https://doi.org/10.1007/s10900-020-00916-7>
29. Guimarães VHA, de Oliveira-Leandro M, Cassiano C, Marques ALP, Motta C, Freitas-Silva AL, *et al.* Knowledge about COVID-19 in Brazil: Cross-sectional web-based study. *JMIR Public Health Surveill.* 2021;7:e24756. <https://doi.org/10.2196/24756>
30. Ali M, Uddin Z, Banik P, Hegazy F, Zaman S, Ambia A, *et al.* Knowledge, attitude, practice and fear of COVID-19: A cross-cultural study. *medRxiv.* 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.05.26.20113233>
31. Erfani A, Shahriarirad R, Ranjbar K, Mirahmadizadeh A, Moghadami M. Knowledge, attitude and practice toward the novel coronavirus (COVID-19) outbreak: A population-based survey in Iran. *Bull World Health Organ.* 2020. Date of access: June 20, 2020. Available from: https://www.who.int/bulletin/online_first/20-256651.pdf

32. Azlan AA, Hamzah MR, Sern TJ, Ayub SH, Mohamad E. Public knowledge, attitudes and practices towards COVID-19: A cross-sectional study in Malaysia. PLoS ONE. 2020;15:e0233668. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233668>
33. Lau LL, Hung N, Go DJ, Ferma J, Choi M, Dodd W, *et al.* Knowledge, attitudes and practices of COVID-19 among income-poor households in the Philippines: A cross-sectional study. J Glob Health. 2020;10:011007. <https://doi.org/10.7189/jogh.10.011007>

Original article

Sentinel surveillance for bacterial pneumonia and meningitis in children under the age of 5 in a tertiary pediatric hospital in Colombia - 2016

Germán Camacho-Moreno¹, Carolina Duarte², Diego García³, Viviana Calderón⁴, Luz Yanet Maldonado⁵, Liliana Castellar¹, Jaime Moreno², Jacqueline Palacios³, Ángela Gallego⁴, Orlando Castillo², Olga Sanabria², Ivy Talavera⁴, Rubén Montoya¹

¹ HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia

² Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ Dirección de Promoción y Prevención, Subdirección de Enfermedades Transmisibles, Grupo de Inmunoprevenibles PAI, Ministerio de Salud y Protección Social, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Promoción de la Salud y Curso de Vida, Organización Panamericana de la Salud, Bogotá, D.C., Colombia

⁵ Laboratorio de Salud Pública, Secretaría Distrital de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

Introduction: Bacterial pneumonia and meningitis are vaccine-preventable diseases. Sentinel surveillance provides relevant information about their behavior.

Objective: To present the data from sentinel surveillance carried out at the *Fundación HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia* in 2016.

Materials and methods: We conducted a descriptive study from January 1 to December 31, 2016, on the daily surveillance of patients under 5 years of age diagnosed with pneumonia or bacterial meningitis according to PAHO's definitions. We identified the microorganisms using the automated VITEK™ 2 system. Bacterial isolates were sent to the Microbiology Group at the Colombian *Instituto Nacional de Salud* for confirmation, serotyping, phenotypic, and genotypic characterization. Antimicrobial susceptibility profiles were established.

Results: From 1,343 suspected cases of bacterial pneumonia, 654 (48.7%) were probable, 84% had complete Hib vaccination schedules, and 87% had complete pneumococcal vaccination schedules for age. Blood culture was taken in 619 (94.6%) and 41 (6.6%) were positive while *S. pneumoniae* was isolated in 17 (41%) of them. The most frequent serotype was 19A in five cases (29.4%), and four 19A serotypes were associated with the reference isolate ST320. The incidence rate of probable bacterial pneumonia was 7.3 cases/100 hospitalized patients, and lethality was 2.1%. As for bacterial meningitis, 22 suspected cases were reported, 12 (54%) were probable, four (33%) were confirmed: two by *Escherichia coli* and two by group *C. N. meningitidis*. The incidence of probable bacterial meningitis was 0.14 cases/100 hospitalized patients.

Conclusion: *Streptococcus pneumoniae* serotypes 19A and 3 were the most frequent cause of pneumonia. Spn19A is related to the multi-resistant clone ST320. Strengthening and continuing this strategy will allow understanding the impact of vaccination.

Key words: Sentinel surveillance; pneumonia; meningitis; *Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae*.

Vigilancia centinela de neumonías y meningitis bacterianas en menores de 5 años en un hospital pediátrico de tercer nivel en Colombia - 2016

Introducción. La neumonía y la meningitis bacterianas son enfermedades inmunoprevenibles; la vigilancia centinela aporta información relevante acerca de su comportamiento.

Objetivo. Presentar los resultados de la vigilancia centinela de neumonía y meningitis llevada a cabo en la HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo entre el 1 de enero y el 31 diciembre del 2016, de la vigilancia diaria de pacientes menores de 5 años con diagnóstico de neumonía o meningitis bacteriana, según las definiciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Los microorganismos fueron identificados usando el sistema automatizado VITEK™2. Los aislamientos se enviaron al grupo de microbiología del Instituto Nacional de Salud para confirmación, serotipificación, y caracterización genotípica y fenotípica. Asimismo, se establecieron los perfiles de sensibilidad antimicrobiana.

Resultados. De 1.343 casos sospechosos de neumonía bacteriana, 654 (48,7 %) fueron probables, el 84 % tenía el esquema de vacunación completo para la edad contra *Haemophilus influenzae* de tipo b, y el 87 %, contra neumococo. En 619 (94,6 %) pacientes se hizo hemocultivo y 41 (6,6 %) fueron positivos. *S. pneumoniae* se aisló en 17 (41 %) casos. El serotipo más frecuente fue el 19A, en cinco pacientes (29,4 %), en tanto que cuatro aislamientos de spn19A fueron relacionados con el clon ST320. La tasa de incidencia de

Received: 01/09/2020
Accepted: 11/05/2021
Published: 28/05/2021

Citation:

Camacho-Moreno G, Duarte C, García D, Calderón V, Maldonado LY, Castellar L, et al. Sentinel surveillance for bacterial pneumonia and meningitis in children under the age of 5 in a tertiary pediatric hospital in Colombia - 2016. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):62-75. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5658>

Corresponding author:

Germán Camacho-Moreno, Avenida Carrera 36 N° 23-76, torre B5, apartamento 208, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (321) 391 5750
gcamachom@unal.edu.co

Author contributions:

Germán Camacho, Diego García, Viviana Calderón, Jacqueline Palacios and Ángela Gallego: Formal analysis and methodology
Luz Yanet Maldonado, Liliana Castellar, Jaime Moreno and Olga Sanabria: Processing and analysis of laboratory samples
Orlando Castillo: Methodology
Carolina Duarte participated in all the stages of the study.
All authors participated in the idea, conception and the writing, reviewing, and editing of the final manuscript

Funding:

The sentinel surveillance hospital received financial support in 2016 from the Pan American Health Organization (PAHO), the *Instituto Nacional de Salud*, the *Secretaría Distrital de Salud de Bogotá* and the *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia*

Conflicts of interest:

Germán Camacho-Moreno has received support for participation in congresses and conference payments from Pfizer, Sanofi and Merck Sharp and Dohme (MSD), has participated on the MSD and Sanofi advisory board and has received support from Pfizer and MSD for other research.

The other authors of this paper declare that they have no conflicts of interest.

neumonía bacteriana probable fue de 7,3 casos/100 pacientes hospitalizados. La letalidad fue de 2,1 %. Hubo 22 casos sospechosos de meningitis bacteriana, 12 (54 %) probables, y cuatro (33 %) confirmados: dos por *Escherichia coli* y dos por *Neisseria meningitidis* del grupo C. La incidencia de meningitis bacteriana probable fue de 0,14/100 pacientes hospitalizados.

Conclusión. Los serotipos 19A y 3 de *S. pneumoniae* fueron la causa más frecuente de neumonía. El Spn19A se relacionó con el clon ST320 multirresistente. El fortalecimiento continuo de la vigilancia centinela permitirá entender el impacto de la vacunación.

Palabras clave: vigilancia de guardia; neumonía; meningitis; *Streptococcus pneumoniae*; *Haemophilus influenzae*.

Pneumonia is one of the most common causes of hospital admissions and death in children under five years of age. In developed countries, viruses are considered the leading cause of pneumonia while the bacterial etiology is proportionally higher in developing countries. The most common causative agents are *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* type b, *Moraxella catarrhalis*, and *Staphylococcus aureus* (1-4).

Bacterial meningitis, although not as common as pneumonia, is a severe disease with high mortality rates and risk of sequelae. The most frequent agents are *S. pneumoniae*, *H. influenzae* type b, and *Neisseria meningitidis* (2,5). In Colombia, bacterial meningitis is a notifiable disease, and pneumonia is targeted for collective surveillance (6,7). In this context, sentinel surveillance of bacterial pneumonia and meningitis contributes to generating standardized and timely data to characterize the epidemiological behavior of these diseases in children under five years of age. Moreover, it provides data to measure vaccination status and the impact of vaccines on morbidity and mortality (8,9).

To initiate the epidemiological surveillance of bacterial pneumonia and meningitis, measure disease burden and the impact of pneumococcal conjugate vaccine (PCV) introduction, and to determine the circulation of serotypes and changes in the susceptibility to antibiotics, the World Health Organization implemented the Global Invasive Bacterial Vaccine-Preventable Diseases (IB-VPD) Laboratory Network. The objective of this work is to present the data from sentinel surveillance carried out at the *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia*.

Materials and methods

Case definitions

From January 1 to December 31, 2016, daily surveillance was performed on patients under five years of age admitted to the institution with a diagnosis of pneumonia (International Classification of Diseases Code ICD -10 J10 - J18) or bacterial meningitis (International Classification of Diseases Code ICD -10 A321, A390, G000, G001, G002, G003, G008, G009, G01X, G028, G038, G039). For epidemiological surveillance of acute bacterial pneumonia (ABP), we considered the following definitions established by the Pan American Health Organization (PAHO):

- a. Suspected case of pneumonia: Every patient under the age of 5 hospitalized with a diagnosis of community-acquired pneumonia. A hospitalized patient is any patient that requires inpatient treatment.
- b. Probable case of bacterial pneumonia: Any suspected case with a chest x-ray showing a radiological pattern compatible with bacterial pneumonia.
- c. Confirmed case of bacterial pneumonia: Any probable bacterial pneumonia case in which *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, or other bacteria were identified or cultured in blood or pleural fluid.

- d. Discarded case of bacterial pneumonia: Any suspected case with no chest X-ray showing a radiological pattern compatible with bacterial pneumonia.
- e. Inadequately investigated case of pneumonia: Any suspected case without a chest x-ray.

We reviewed patients' records every day. Chest x-rays were performed to screen suspected cases, two peripheral blood cultures were taken from probable cases and, in the presence of pleural effusion, a culture of the pleural fluid was taken. Pediatric radiologists interpreted chest X-rays according to the World Health Organization (WHO) manual of diagnostic imaging (10).

We considered all children under five years of age hospitalized with a medical diagnosis of meningitis as a suspected case of meningitis; these patients underwent lumbar puncture and blood cultures. The case was considered as probable if the cerebrospinal fluid (CSF) had any of the following characteristics: Turbidity, increased leukocytes ($> 100/\text{mm}^3$), or leukocytes between $10\text{-}100/\text{mm}^3$, and elevated protein ($> 100 \text{ mg/dL}$), or low glucose levels ($< 40 \text{ mg/dl}$). All suspected cases with a bacterium recognized for causing meningitis in blood or CSF were considered as confirmed cases. Discarded cases included those suspected with CSF cytochemical values not compatible with meningitis and negative cultures. Finally, any suspected case without a CSF sample was considered inadequately investigated.

We collected the clinical data for all patients included in the surveillance, as well as the information from their vaccination cards, and when they did not have them, we systematically searched for the records in the Expanded Immunization Program (PAI) website (web <https://paiweb.gov.co>) and Bogota's web page ([www.saludcapital.gov.co /Pai/publico/busqueda.aspx](http://www.saludcapital.gov.co/Pai/publico/busqueda.aspx)).

Identification of microorganisms

The sentinel institution identified the microorganisms isolated in cultures using the automated VITEK™ 2 system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) while bacterial isolates were sent to the Microbiology Group at the *Instituto Nacional de Salud* by Bogotá's public health laboratory for confirmation, and phenotypic and genotypic characterization. The pneumococcal isolates were serotyping by Quellung reaction, serogroup of *N. meningitidis*, and the serotype of *H. influenzae* was determined by the slide agglutination assay using commercial antisera (DIFCO, Becton Dickinson). We determined the antimicrobial susceptibility profiles using the disk diffusion test (Kirby-Bauer) and microdilution in broth to determine resistance to penicillin (PEN), ampicillin (AMP) ceftriaxone (CRO), trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT), chloramphenicol (CHL), tetracycline (TET), erythromycin (ERY), and rifampicin (RIF). Results were interpreted based on the criteria of the Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 2016 standards (11). Multidrug resistance (MDR) was defined as resistance to three or more antibiotic families.

We conducted additional studies to those suggested in the protocol for a better characterization of the isolated agents. For the genotypic characterization, we used pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) according to the protocol by Vela, *et al.* (12) and the R6 strain as a control. We used the Spain^{9V}-ST156, Colombia^{23F}-ST338, and Netherlands³-ST180 clones, as well as the representative isolates of ST199, ST276, ST320, ST460, and ST473 sequence types, as electrophoretic reference standards. We analyzed PFGE patterns with GelCompar II version 4.0 using the unweighted

pair group method with arithmetic mean (UPGMA) and the Dice coefficient with optimization and tolerance of 1.5% to generate a genetic similarity dendrogram. PFGE patterns with similarity over 75% were grouped as a clonal group and designated with capital letters.

Sentinel center

The *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia* is a private tertiary referral hospital located in Bogotá, which treats children with bacterial pneumonia and bacterial meningitis. Between 2011 and 2015, 206 cases of invasive pneumococcal disease (IPD) in children under five years of age were reported in Bogotá, 48 (23%) of them by *Fundación HOMI* (13). In 2016, the Ministry of Health and Social Protection chose the hospital to be the sentinel surveillance center for bacterial pneumonia and bacterial meningitis, as it meets the inclusion criteria to be part of the network and has the capacity to respond at the care, epidemiological, and laboratory levels. To date, it is the only of its kind in the country (14).

Selection bias

We identified the risk of selection bias in the study since it was conducted in a tertiary care hospital where patients with more severe diseases are admitted. We also acknowledged the probability of bias in the analysis of the chest X-rays. There was also the possibility of bias risk due to the loss of microbiological isolates during the process for which we developed a protocol for sending the samples and verifying their viability upon arrival at their destination.

Statistical analysis

This was a descriptive study. We collected the data in an Excel database, performed frequency analyses of the variables, and estimated the average length of stay in the intensive care unit (ICU) and the incidence of pneumonia and meningitis per 100 hospital admissions.

Ethical considerations

This was a risk-free study since the patients did not undergo any intervention, procedure, or test besides those indicated for the diseases. It was approved by the Ethics and Research Committee at the *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia*.

Results

During the study period, 1,343 suspected cases of bacterial pneumonia were captured; 654 (48.7%) met the probable case criteria, 380 (58%) were children under 2 years of age, 358 (55%) were male, and 296 (45%), female. Table 1 shows the general characteristics of patients with pneumonia. The most frequent symptoms and signs in probable cases were fever (94%), cough (92%), respiratory distress (82%), subcostal retractions (51%), cyanosis (28%), and vomiting (25%). Thirty-seven cases (5.6%) received antibiotic treatment the week before hospitalization.

Among the 654 probable cases, there were 13 children under the age of 2 months; of the 641 patients older than 2 months, 539 cases (84%) had complete Hib vaccination schedules for age (pentavalent vaccine), 61 (9.5%) had incomplete schedules, and 41 (6.4%) had no vaccination records. Finally, 559 cases (87%) had complete pneumococcal vaccination schedules for

age, 41 (6.4%) had incomplete schedules, and 41 (6.4%) had no vaccination records. All patients vaccinated against pneumococcus received PCV10.

Table 2 shows the serotype and the doses of pneumococcal and *H. influenzae* type b vaccine administered to the confirmed cases. Most of the patients with pneumococcal isolation had received at least 2 doses of the vaccine, while three with serotypes 14, 3, and 19A had received 3 doses of PCV10. It was not possible to obtain vaccination data for the only case with *H. influenzae* type b isolate. Among the probable cases (n=654), the most frequent radiological findings were consolidation (54.5%), other alveolar opacities (40.2%), pleural effusion (3.2%), and interstitial opacities (1.9%). Of these cases, 185 (28.2%) were admitted to the intensive care unit (ICU) with an average stay of five days.

Table 1. Sociodemographic characteristics of probable pneumonia cases (N=654)

Variable	n (%)
Sex	
Male	358 (55)
Female	296 (45)
Age (months)	
<2	13 (2)
2 - 11	181 (27.6)
12 - 23	184 (28.1)
24 - 59	276 (42.2)
Number of probable cases with blood culture	619 (94.6)
Number of confirmed cases	41 (6.6)
Mortality	14 (2.1)

Table 2. List of confirmed cases of bacterial pneumonia due to *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* and vaccination status

Confirmed case	Age in months	# of Hib vaccine doses	# of PCV10 vaccine doses	Serotyping
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	29	3	3	19A
	40	3	3	19A
	35	3	3	19A
	7	2	2	19A
	31	ND	ND	19A
	22	3	3	3
	11	3	2	3
	10	3	2	3
	18	3	3	3
	30	3	3	14
	41	3	3	14
	38	3	3	14
	41	3	2	14
	11	3	2	9N
	8	3	2	9N
21	3	3	6A	
40	3	3	15A	
<i>Haemophilus influenzae</i>	3	1	1	NT
	3	1	1	NT
	42	3	2	NT
	59	ND	ND	NT
	55	ND	ND	NT
	4	ND	ND	B
	36	3	3	A
2	1	1	ND	
<i>Neisseria meningitidis</i>	4	1	1	Group C

*ND: No data; NT: Non-typeable

Blood culture was done in 619 (94.6%) probable cases, 41 (6.6%) of which were positive; *S. pneumoniae* was isolated in 17 (41%) of them (table 3). All *S. pneumoniae* isolates were serotyped; the most frequent serotype was 19A with 5 (29.4%) cases, followed by serotypes 3 and 14 with 4 (23.5%) cases, respectively. Isolates with type 19A capsules were resistant to PEN, CRO, STX, ERY, and TET; serotype 14 was resistant to PEN, CRO, and STX while isolates with serotypes 3, 6A, 9N, and 15A were susceptible to all antibiotics tested (table 4). The 16 isolates analyzed by PFGE were grouped into three electrophoretic groups (A, B and C) (table 4, figure 1). Group A, consisting of four serotype 14 and one 19A isolates was related to the Spain9V-ST156 clone; group B grouped four serotype 19A isolates and the reference isolate ST320, and group C consisted of the capsular type 3 isolates and the Netherlands3-ST180 clone. The remaining isolates were not electrophoretically related.

Table 3. Microorganisms most frequently isolated with bacterial pneumonia

Microorganism	n	%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	17	41.5
<i>Haemophilus influenzae</i>	8	19.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	9.8
<i>Escherichia coli</i>	3	7.3
<i>Moraxella catharralis</i>	1	2.4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	2.4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2.4
<i>Neisseria meningitidis</i>	1	2.4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	2.4
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	2.4
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2.4
<i>Serratia marcescens</i>	1	2.4
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	2.4
Total confirmed cases	41	100.0

Table 4. Phenotypic and genotypic characteristics of *Streptococcus pneumoniae* isolates recovered from children with pneumonia

Isolate	Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$)							Serotype	PFGE pattern	Clone
	PEN	CRO	CHL	SXT	ERY	VAN	TET			
GMR-Spn7854	4	1	2	>4	>1	0.50	>8	19A	B	ST320
GMR-Spn7895	4	2	4	4	>1	0.50	4	19A	B	ST320
GMR-Spn7896	4	2	4	4	>1	0.50	>8	19A	B	ST320
GMR-Spn8083	4	2	4	4	>1	0.50	>8	19A	A	ST156
GMR-Spn8210	8	2	4	>4	>1	0.50	>8	19A	B	ST320
GMR-Spn7852	0.03	0.016	2	0.125	0.06	0.50	0.25	3	C	ST180
GMR-Spn7855	0.03	0.03	2	0.125	0.06	0.5	0.25	3	C	ST180
GMR-Spn7983	0.03	0.016	2	0.125	0.06	0.5	0.25	3	C	ST180
GMR-Spn8114	0.03	0.03	2	0.125	0.03	0.5	0.25	3	C	ST180
GMR-Spn7930	2	1	2	>4	0.06	0.5	0.5	14	A	ST156
GMR-Spn7976	4	2	4	4	0.06	0.5	0.5	14	A	ST156
GMR-Spn8154	4	2	4	>4	0.06	0.5	0.5	14	A	ST156
GMR-Spn8266	4	2	4	4	0.06	0.5	1	14	A	ST156
GMR-Spn7997	0.03	0.03	2	0.25	0.06	0.5	0.25	9N	NR	
GMR-Spn7998	0.03	0.03	2	0.25	0.06	0.5	0.25	9N	NR	
GMR-Spn7941	0.25	0.06	4	0.125	0.06	0.5	0.25	6A	NR	
GMR-Spn7917	0.06	0.06	4	0.25	0.06	0.5	0.25	15A	NR	
Antibiotic	CLSI 2016: Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$)							Susceptible	Intermediate	Resistant
Penicillin (PEN) No meningitis								≤ 2.0	4.0	≥ 8
Ceftriaxone (CRO) No meningitis								≤ 1.0	2.0	≥ 4
Chloramphenicol (CHL)								≤ 4.0		≥ 8.0
Trimethoprim sulfa (SXT)								≤ 0.5	1.0 - 2.0	≥ 4
Erythromycin (ERY)								≤ 0.25	0.5	≥ 1.0
Vancomycin (VAN)								≤ 1.0		
Tetracycline (TET)								0.016 - 1	2	≥ 4

NR: Not related

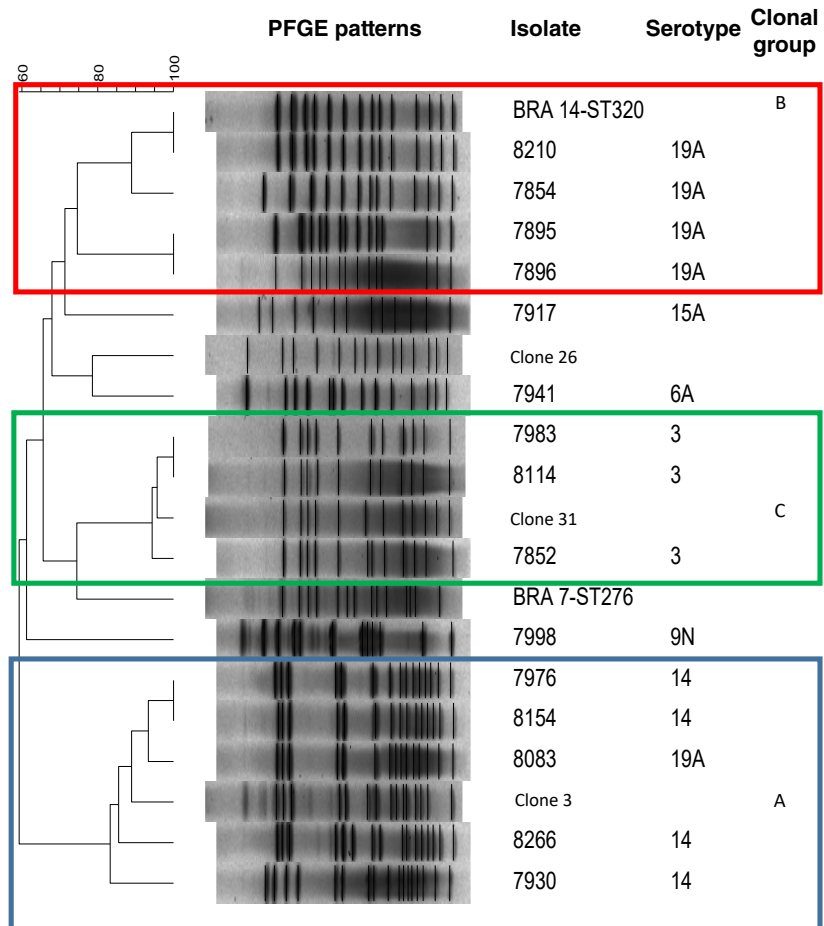


Figure 1. Dendrogram of the genetic relationship between *Streptococcus pneumoniae* isolates

Haemophilus influenzae was isolated in eight (19.5%) of the 41 patients with positive cultures; of them, five (62.5%) were non-typeable, one (12.5%) was serotype b, and one (12.5%) was serotype a while no serotype was obtained in one case (12.5%). All isolates were sensitive to AMP, CRO, SXT, RIF, CHL, and TET. *N. meningitis* serogroup C was found in a patient diagnosed with pneumonia and meningitis. There were three cases of empyema, *S. aureus* was documented in two of them, and the culture was negative in the third patient.

During the study period, 8,557 children under 5 years of age were hospitalized in the institution. The incidence rate of clinical pneumonia (suspected cases) was 15.2 cases per 100 hospitalized patients while the incidence rate of probable bacterial pneumonia was 7.3 cases per 100 hospitalized patients. Finally, 14 (2.1%) of the 654 probable cases died; *S. pneumoniae* serotype 3 was isolated in two of these patients and the remaining 12 patients had negative cultures.

As for bacterial meningitis, 22 suspected cases were reported, of which 17 (77%) were under 2 years of age. Of the suspected cases, 12 (54%) were probable and 7 (75%) were patients under 2 years of age. Of the 12 probable cases, four (33%) were confirmed: two by *E. coli* and two by group C *N. meningitidis*. None of the cases had received meningococcal vaccination. The incidence of probable bacterial meningitis was 0.14 cases per 100 hospitalized patients.

Discussion

We present here the data from the first year of sentinel surveillance of meningitis and pneumonia in children under 5 years of age treated at the *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia*, essential to understand the epidemiological behavior of these two vaccine-preventable diseases and determine the prevalence of circulating pneumococcal serotypes in the period of study.

As of 2016, the Global Invasive Bacterial Vaccine-Preventable Diseases Laboratory Network has included 58 countries, among them Colombia, and 123 sentinel hospitals, such as the *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia*. The objectives of this network are to collect information to describe the epidemiology and burden of vaccine-preventable bacterial invasive diseases, implement a surveillance system to measure the impact of vaccine introduction (Hib or PCV), and detect and characterize circulating serotypes.

In 2006, Colombia introduced the vaccination against pneumococcus with PCV7 (15) for children under 2 years of age at high risk and with specific diseases. In 2008, Bogotá extended the strategy by including children weighing 2000 g or less at birth; in October that year, the vaccine was made universal in the city. Then, in 2009, coverage was extended to all children born on or after January 1 residing in the departments with the highest proportion of deaths from acute respiratory infection (16).

Later, in the period 2010-2011, due to the withdrawal of the heptavalent vaccine, the PCV13 vaccine was acquired to continue with the immunization of the target population, as well as to complete and finish schemes initiated with the heptavalent vaccine. In 2011, the PCV10 vaccine was universalized in the country and began to be administered in January 2012 to the population born on or after November 1, 2011, using a two-dose schedule and boosters at 2, 4, and 12 months of age. This vaccine is currently administered with 89% coverage including a booster administered in 2016.

Pneumonia is the leading cause of death from infectious diseases in children under 5 years worldwide and accounts for 15% of all deaths, mostly in developing countries (17). According to the literature, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *S. aureus*, and the influenza virus are the most frequent causes of pneumonia (1-4,18), which coincides with the findings of this study.

Furthermore, we found that 48.7% of the suspected cases met the diagnostic criteria of probable case. This percentage is higher than that reported in a previous study conducted by the *Saludcoop* hospital network in Bogotá, with 35.1% probably due to the inclusion of patients aged 0-36 months only, in whom the prevalence of viral cases is higher (19).

Regarding clinical findings, fever was the most common symptom similar to the reports of other studies (20); 82% of the patients showed signs of respiratory distress, which, together with hypoxia, have been considered sensitive clinical signs for the diagnosis of pneumonia (21).

The WHO pneumonia surveillance protocol is based on chest X-ray results (22) whose sensitivity in some studies has been 85% and 93% for the diagnosis of community-acquired pneumonia (23,24), while other studies show a lower sensitivity (34.3%) (25). To reduce interobserver variability for detecting alveolar consolidation and pleural effusion, for our study, we held a meeting with the radiology group to standardize these definitions (24,26-

28). Consequently, the most frequent radiological finding was consolidation, consistent with the findings of other studies (19,29).

The percentage of positive blood cultures (6.6%) was similar to that found by Lakhani, *et al.* (6.1%) and Jain, *et al.* (8%) (23,30), and higher than that in Benavides, *et al.* previous study in Bogotá (1.5%) (19), as well as that found by Shah, *et al.* (2.1%) (31), Obaro, *et al.* (3.1%) (32) and Davis, *et al.* (1.1%) (33). This is probably related to the implementation of appropriate incubation methods, such as the CO₂ chamber and the use of automated methods for the identification of microorganisms. The number of patients admitted to the ICU (28.2%) was similar to that reported by Tiewsoh, *et al.* (20.8%) (34) and by Jain, *et al.* (21%) (30) while mortality from pneumonia was lower (2.1%) than that reported by Tiewsoh, *et al.* (10.5%) (34) and higher than that reported by Jain *et al.* (<1%) (30,34).

The clinical pneumonia incidence rate was 15.2 cases per 100 hospitalized patients while probable bacterial pneumonia was 7.3 cases per 100 hospitalized patients. Between 2009 and 2015, 31% of hospitalizations of children under 5 years in Colombia were associated with acute respiratory infections (ARI) (J00-J22) including some codes (J00-J09 and J19-J22) that are not subject to sentinel surveillance (35).

A study conducted in Bogotá in healthcare delivery centers of the Saludcoop network before the systematic administration of the conjugate vaccine found an incidence of clinical pneumonia of 6,276 cases/100,000 patients under 36 months and confirmed pneumonia through imaging in 2,120 cases/100,000 patients under 36 months (19). Another study conducted in Brazil reported an incidence of clinical and radiologically confirmed pneumonia of 9,598/100,000 cases and 3,428/100,000 cases, respectively (36). Data from these two studies are not comparable with those of the present study as different denominators were used.

Mortality from ARI in Colombia decreased between 2007 and 2016 from 24 to 13.9 cases per 100,000 children under 5. In Bogotá, the trend has been similar with a decrease in ARI mortality from 6.1 to 4.3 per 100,000 children under 5 (35,37).

In our study, 53% of the *S. pneumoniae* isolates were resistant to one or more antibiotics and 29.5% were multidrug-resistant. Over the past two decades, *S. pneumoniae* has become increasingly resistant to several antibiotics including cephalosporins, macrolides, and fluoroquinolones, and estimates are that 20-30% of pneumococcal disease cases worldwide are multidrug-resistant (38).

Our results show that serotypes 3, 14, and 19A, which are genetically related to international *S. pneumoniae* clones, are a leading cause of pneumonia in children under 5 (39). Serotype 14 isolates, mostly associated with the Spain9VST156 clone in the pre-PCV era, have been considered the main cause of the invasive pneumococcal disease (39). In a study conducted in Bogotá before the introduction of the conjugate vaccine, the most frequent serotypes were 14, 19B, and 6B (19). The prevalence of serotype 14 in children under 5 has declined in recent years, from 29.1% in 2006 to 6.1% in 2016 (40) possibly as a result of the use of conjugate vaccines as reported in other countries (41).

As in Parra, *et al.*'s (39) study, we identified a 19A capsule variant, probably explained by an adaptive response to the selective pressure exerted by the conjugate vaccine. Isolates of multidrug-resistant *S. pneumoniae* serotype 19A associated with the spread of ST320, a variant of the international clone Taiwan19F14-ST236, have been reported worldwide and constitute one of the most frequent causes of pneumococcal disease (42).

A meta-analysis reaffirmed the predominant contribution of 19A to invasive pneumococcal disease in children from different regions in the world after the introduction of PCV7 as it was identified as the most common serotype in cases from the Americas, Europe, and Western Pacific regions (43). A multicenter study conducted in 10 hospitals in Bogotá reported an increase of serotype 19A among children under 5 from 4.7% in 2008-2011 to 36.8% in 2014-2017 (44). Furthermore, a time-series study using data on *S. pneumoniae* serotypes causing IPD in children under 5 from 1994 to 2016 published by the National Health Institute (40,45) found that the annual proportion of serotypes 6A, 19A, and 3 remained constant until 2012. Subsequently, a more than two-fold increase was observed. The time-series analysis exposed a relationship between the introduction of PCV10 and the increased proportion of 19A and 3 serotypes with coefficients of 20.92 ($p=0.00$, ARIMA (2,0,1)) and 6.32 ($p=0.00$, ARIMA (2,1,1)), respectively (40,45). These data differ from a recent systematic review including data up to 2015 (46). Significant reductions of 19A have been observed in the United States after 5 years of PCV13 use (43), findings also reported in the United Kingdom (47), Canada (48), Denmark (49), Israel (50), and France (51).

Serotype 3 isolates were associated with the Netherlands3-ST180 clone, which in turn is associated with 95% of invasive Colombian *S. pneumoniae* isolates carrying this capsular type (52). Phenotypically, this clone is susceptible to antimicrobials but penicillin and erythromycin-resistant isolates have also been reported (53).

As for bacterial meningitis, the proportion of probable cases compared to suspected ones was 54% higher than the reports by Ramachandran, *et al.* in India (12.5%) (54). Most cases were children under 2, similar to the findings from other studies (55). During the study period, 12 cases of probable meningitis were treated at the sentinel hospital. There were no cases of meningitis due to *S. pneumoniae* or *H. influenzae* type b while two cases of meningitis due to *N. meningitidis* were reported. In 2016, 19 cases of *S. pneumoniae*, 23 of *H. influenzae* type b, and 38 of *N. meningitidis* meningitis in children under 5 were reported to the national surveillance system (56).

One of the strengths of our study was the coordinated participation of all actors responsible for epidemiological surveillance: the Ministry of Health and Social Protection, the *Instituto Nacional de Salud*, the Pan American Health Organization (PAHO), and the *Secretaría Distrital de Salud de Bogotá*. Other strengths are the prospective collection of data and the characteristics of the sentinel hospital, which serves a significant number of the city's patients with IPD and has the infrastructure and epidemiological support to ensure good data quality. Study requirements were met, and patient recruitment and analysis complied with PAHO standards.

Regarding limitations, the study was conducted in a tertiary care hospital in Bogotá and the data may not be extrapolated to other populations. Another limitation was the difficulty in obtaining vaccination data for all patients because the information system (which is the source of the data) was not up

to date. There may also be biases derived from radiological interpretation. Finally, this study does not allow determining the impact of the vaccines as this requires sustained surveillance data for a 3 to 5 year period.

Streptococcus pneumoniae is the most common cause of pneumonia while the most frequent serotypes were those not included in PCV10 (Spn19A, Spn3). Serotypes 19A and 14 are multi-resistant. The second most common bacterium was non-typeable *H. influenzae* and one case of *H. influenzae* type b was reported. There were two cases of meningitis due to group C *N. meningitidis*. Epidemiological sentinel surveillance is a strategy that provides insight into the epidemiological behavior of vaccine-preventable diseases. Strengthening and continuing this strategy will allow a better understanding of vaccination impact.

Acknowledgements

To the Colombian Ministry of Health and Social Protection, the *Instituto Nacional de Salud* (INS), the Pan American Health Organization (PAHO), the *Secretaría Distrital de Salud de Bogotá*, and the *HOMI, Fundación Hospital Pediátrico La Misericordia*.

References

1. Jakhar SK, Pandey M, Shah D, Ramachandran VG, Saha R, Gupta GP. Etiology and risk factors determining poor outcome of severe pneumonia in under-five children. *Indian J Pediatr.* 2018;85:20-4. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2514-y>
2. Wahl B, O'Brien KL, Greenbaum A, Majumder A, Liu L, Chu Y, *et al.* Burden of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b disease in children in the era of conjugate vaccines: Global, regional, and national estimates for 2000-15. *Lancet Glob Health.* 2018;6:e744-57. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30247-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30247-X)
3. Nascimento-Carvalho AC, Ruuskanen O, Nascimento-Carvalho CM. Comparison of the frequency of bacterial and viral infections among children with community-acquired pneumonia hospitalized across distinct severity categories: A prospective cross-sectional study. *BMC Pediatr.* 2016;22:105. <https://doi.org/10.1186/s12887-016-0645-3>
4. Das A, Patgiri SJ, Saikia L, Dowerah P, Nath R. bacterial pathogens associated with community-acquired pneumonia in children aged below five years. *Indian Pediatr.* 2016;53:225-7. <https://doi.org/10.1007/s13312-016-0825-0>
5. Instituto Nacional de Salud. Informe de evento de meningitis bacteriana y enfermedad meningocócica. 2018. Accessed on: June 5, 2019. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/MENINGITIS%20BACTERIANA_2018.pdf
6. Instituto Nacional de Salud. Protocolo de vigilancia en salud pública: meningitis bacteriana y enfermedad meningocócica Código 535. Accessed on: June 5, 2019. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/Pro_Meningitis.pdf
7. Instituto Nacional de Salud. Protocolo de vigilancia en salud pública: infección respiratoria aguda IRA. Códigos 345,348, 591,995. Accessed on: May 10, 2018. Available from: <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/PRO-Infecci%C3%B3n-respiratoria-aguda.pdf>
8. World Health Organization. Estimating meningitis hospitalization rates for sentinel hospitals conducting surveillance of invasive bacterial vaccine preventable diseases. *Wkly Epidemiol Rec.* 2013;43:471-6.
9. Wysocki J, Sluzewski W, Gutterman E, Jouve S, Moscariello M, Balter I. Active hospital-based surveillance of invasive pneumococcal disease and clinical pneumonia in infants and young children in two Polish counties. *Arch Med Sci.* 2016;12:629-38. <https://doi.org/10.5114/aoms.2016.59936>
10. Ellis SM, Flowers C. The WHO manual of diagnostic imaging: Radiographic anatomy and interpretation of the chest and the pulmonary system 2006. Accessed on: November 14, 2018. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43293/1/9>

11. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-sixth Informational Supplement. CLSI document M100-S21. Wayne, PA: CLSI; 2016.
12. Vela MC, Fonseca N, Di Fabio JL, Castañeda E. Presence of international multiresistant clones of *Streptococcus pneumoniae* in Colombia. *Microb Drug Resist*. 2001;7:153-64. <https://doi.org/10.1089/10766290152045020>
13. Instituto Nacional de Salud. Informe Nacional SIREVA II Colombia 2006-2015. Accessed on: March 17, 2016. Available from: <http://www.ins.gov.co/tramites-y-servicios/examenes-de-inter%C3%A9s-en-salud-ublica/Microbiologa/Informe%20Web%20S%20%20pneumoniae%202006-2015.pdf>
14. World Health Organization. Invasive bacterial vaccine preventable disease sentinel hospital surveillance network: Summary of a strategic review and next steps, 2008-2014. *Wkly Epidemiol Rec*. 2014;89:545-60.
15. Acuerdo 366 del Consejo Nacional de Seguridad Social en Salud (CNSSS). Accessed on: November 14, 2018. Available from: <http://fapp.saludcapital.gov.co/estadisticos/pai/BASES/DOCUMENTOS%20PAI/STAND%20POLITICO-NORMATIVO/Acuerdos/Acuerdo%20366%20de%202007.pdf>
16. Ministerio de Salud de Colombia. Resolución 1736 del 20 de mayo de 2010. Accessed on: November 14, 2018. Available from: https://www.icbf.gov.co/cargues/avance/docs/resolucion_minproteccion_1736_2010.htm
17. Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, *et al*. Global, regional, and national causes of child mortality. *Lancet*. 2015;385:430-40. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61698-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61698-6)
18. Kim GL, Seon SH, Rhee Dk. Pneumonia and *Streptococcus pneumoniae* vaccine. *Arch Pharm Res*. 2017;40:885-93. <https://doi.org/10.1007/s12272-017-0933-y>
19. Benavides JA, Ovalle OO, Salvador GR, Gray S, Isaacman D, Rodgers GL. Population-based surveillance for invasive pneumococcal disease and pneumonia in infants and young children in Bogotá, Colombia. *Vaccine*. 2015;30:5886-92. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.03.054>
20. Pombo-March MDFB, Sant'Anna CC. Signs and symptoms indicative of community-acquired pneumonia in infants under six months. *Braz J Infect Dis*. 2005;9:150-5. <https://doi.org/10.1590/s1413-86702005000200005>
21. Shah SN, Bachur RG, Simel DL, Neuman MI. Does this child have pneumonia? The rational clinical examination systematic review. *JAMA*. 2017;318:462-71. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.9039>
22. Mahomed N, Madhi SA. Radiologic diagnosis of chest infection in children: WHO end-point consolidation. *Pediatr Radiol*. 2014;44:685-6. <https://doi.org/10.1007/s00247-014-2933-0>
23. Lakhani D, Muley P. The association of positive chest radiograph and laboratory parameters with community acquired pneumonia in children. *J Clin Diagn Res*. 2013;7:1629-31. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5132.3222>
24. Ferrero F, Torres F, Noguero E, González N, Lonegro L, Chiolo MJ, *et al*. Evaluation of two standardized methods for chest radiographs interpretation in children with pneumonia. *Arch Argent Pediatr*. 2008;106:510-4. <https://doi.org/10.1590/S0325-00752008000600007>
25. Wingerter SL, Bachur RG, Monuteaux MC, Neuman MI. Application of the World Health Organization criteria to predict radiographic pneumonia in a US-based pediatric emergency department. *Pediatr Infect Dis J*. 2012;31:561-4. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31824da716>
26. Cherian T, Mulholland EK, Carlin JB, Ostensen H, Amin R, De Campo M, *et al*. Standardized interpretation of paediatric chest radiographs for the diagnosis of pneumonia in epidemiological studies. *Bull World Health Organ*. 2005;83:353-9.
27. Fancourt N, Deloria-Knoll M, Barger-Kamate B, de Campo J, de Campo M, Diallo M, *et al*. Standardized interpretation of chest radiographs in cases of pediatric pneumonia from the PERCH Study. *Clin Infect Dis*. 2017;64(Suppl.3):S253-61. <https://doi.org/10.1093/cid/cix082>
28. Ben Shimol S, Dagan R, Givon-Lavi N, Tal A, Aviram M, Bar-Ziv J, *et al*. Evaluation of the World Health Organization criteria for chest radiographs for pneumonia diagnosis in children. *Eur J Pediatr*. 2012;171:369-74. <https://doi.org/10.1007/s00431-011-1543-1>

29. Fancourt N, Deloria Knoll M, Baggett HC, Brooks WA, Feikin DR, Hammitt LL, *et al.* Chest radiograph findings in childhood pneumonia cases from the multisite PERCH Study. *Clin Infect Dis.* 2017;64(Suppl.3):S262-70. <https://doi.org/10.1093/cid/cix089>
30. Jain S, Williams DJ, Arnold SR, Ampofo K, Bramley AM, Reed C, *et al.* Community-acquired pneumonia requiring hospitalization among U.S. children. *N Engl J Med.* 2015;372:835-45. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1405870>
31. Shah SS, Dugan MH, Bell LM, Grundmeier RW, Florin TA, Hines EM, *et al.* Blood culture in the emergency department evaluation of childhood pneumonia. *Ped Infect Dis J.* 2011;6:475-9. <https://doi.org/10.1097/INF.0b013e31820a5adb>
32. Obaro SK, Monteil MA, Henderson DC. The pneumococcal problem. *BMJ.* 1996;312:1521-55. <https://doi.org/10.1136/bmj.312.7045.1521>
33. Davis TR, Evans HR, Murtas J, Weisman A, Francis JL, Khan A. Utility of blood cultures in children admitted to hospital with community-acquired pneumonia. *J Paediatr Child Health.* 2017;53:232-6. <https://doi.org/10.1111/jpc.13376>
34. Tiewsoh K, Lodha R, Pandey RM, Broor S, Kalaivani M, Kabra SK. Factors determining the outcome of children hospitalized with severe pneumonia. *BMC Pediatr.* 2009;9:1-8. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-9-15>
35. Ministerio de Salud y Protección Social. Dirección de epidemiología y demografía. Análisis de la situación en salud Colombia 2017. Accessed on: September 5, 2019. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-nacional-2017.pdf>
36. Andrade AL, Oliveira R, Vieira MA, Minamisava R, Pessoa V, Brandileone MC, *et al.* Population-based surveillance for invasive pneumococcal disease and pneumonia in infants and young children in Goiânia, Brazil. *Vaccine.* 2012;30:1901-9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.12.012>
37. Secretaría de Salud de Bogotá. Infecciones respiratorias agudas menor 5 años. Accessed on: June 5, 2019. Available from: <https://saludata.saludcapital.gov.co/osb/index.php/datos-de-salud/enfermedades-trasmisibles/mortalidad-ira/>
38. Cilloniz C, Martin-Loeches I, García-Vidal C, San José A, Torres A. Microbial Etiology of pneumonia: Epidemiology, diagnosis and resistance patterns. *Int J Mol Sci.* 2016;17:2120. <https://doi.org/10.3390/ijms17122120>
39. Parra EL, Ramos V, Sanabria O, Moreno J. Serotype and genotype distribution among invasive *Streptococcus pneumoniae* isolates in Colombia, 2005-2010. *PLoS One.* 2014;9:e84993. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084993>
40. Instituto Nacional de Salud. *Streptococcus pneumoniae*. Distribución de los aislamientos invasores por año de vigilancia, departamento, grupos de edad, serotipos y sensibilidad antimicrobiana 2006-2016. Accessed on: November 14, 2018. Available from: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Informe%20Nacional%20SIREVA%20II%20S.%20pneumoniae%202006-2016.docx.pdf>
41. Mackenzie GA, Hill PC, Jeffries DJ, Hossain I, Uchendu U, Ameh DE, *et al.* Effect of the introduction of pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease in The Gambia: A population-based surveillance study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16:703-11. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00054-2)
42. Cassiolo AP, Almeida SCG, Andrade AL, Minamisava R, Brandileone MC. Expansion of the multidrug-resistant clonal complex 320 among invasive *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A after the introduction of a ten-valent pneumococcal conjugate vaccine in Brazil. *PLoS ONE.* 2018;13:e0208211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208211>
43. Balsells E, Guillot L, Nair H, Kyaw MH. Serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing invasive disease in children in the post-PCV era: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE.* 2017;12:e0177113. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177113>
44. Camacho G, Imbachi LF, Leal AI, Moreno VM, Patiño J, Gutiérrez I, *et al.* Emergence of *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A (Spn 19A) in the pediatric population in Bogotá, Colombia as the main cause of invasive pneumococcal disease after the introduction of PCV10. *Hum Vaccin Immunother.* 2020;16:2300-6. <https://doi.org/10.1080/21645515.2019.1710411>

45. Leal AL, Montanez AM, Buitrago G, Patiño J, Camacho G, Moreno V. Impact of ten-valent pneumococcal conjugate vaccine introduction on serotype distribution trends in Colombia: An interrupted time-series analysis. *Open Forum Infect Dis*. 2017;4(Suppl.1):S463. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofx163.1182>
46. Agudelo CI, De Antonio R, Castañeda E. *Streptococcus pneumoniae* serotype 19A in Latin America and the Caribbean 2010-2015: A systematic review and a time series analysis. *Vaccine*. 2018;36:4861-74. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.06.068>
47. Waight PA, Andrews NJ, Ladhani SN, Sheppard CL, Slack MPE, Miller E. Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: An observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2015;15:535-43. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)70044-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)70044-7)
48. Demczuk WHB, Martin I, Griffith A, Lefebvre B, McGeer A, Lovgren M, *et al*. Serotype distribution of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Canada after the introduction of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine, 2010-2012. *Can J Microbiol*. 2013;59:778-88. <https://doi.org/10.1139/cjm-2013-0614>
49. Harboe ZB, Dalby T, Weinberger DM, Benfield T, Molbak K, Slotved HC, *et al*. Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in invasive pneumococcal disease incidence and mortality. *Clin Infect Dis*. 2014;59:1066-73. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu524>
50. Ben-Shimol S, Greenberg D, Givon-Lavi N, Schlesinger Y, Somekh E, Aviner S, *et al*. Early impact of sequential introduction of 7-valent and 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on IPD in Israeli children <5 years: An active prospective nationwide surveillance. *Vaccine*. 2014;32:3452-9. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.03.065>
51. Lepoutre A, Varon E, Georges S, Dorléans F, Janoir C, Gutmann L, *et al*. Impact of the pneumococcal conjugate vaccines on invasive pneumococcal disease in France, 2001-2012. *Vaccine*. 2015;33:359-66. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.11.011>
52. Alarcón-Rodríguez ZK, Duarte C, Sanabria O, Moreno J. Genotipos de *Streptococcus pneumoniae* serotipo 3 en aislamientos invasivos en Colombia. *Biomédica*. 2021;41:338-46. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5407>
53. Isozumi R, Ito Y, Ishida T, Hirai T, Ito I, Maniwa K, *et al*. Molecular characteristics of serotype 3 *Streptococcus pneumoniae* isolates among community-acquired pneumonia patients in Japan. *J Infect Chemother*. 2008;14:258-61. <https://doi.org/10.1007/s10156-008-0600-9>
54. Ramachandran P, Fitzwater SP, Aneja S, Verghese VP, Kumar V, Neduchelian K, *et al*. Prospective multi-centre sentinel surveillance for *Haemophilus influenzae* type b & other bacterial meningitis in Indian children. *Indian J Med Res*. 2013;137:712-20.
55. Manoharan A, Manchanda V, Balasubramanian S, Lalwani S, Modak M, Bai S, *et al*. Invasive pneumococcal disease in children aged younger than 5 years in India: A surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2017;17:305-12. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30466-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30466-2)
56. Instituto Nacional de Salud. Informe del evento meningitis aguda bacteriana (MBA), hasta el periodo epidemiológico XIII, Colombia, 2016. Accessed on: November 10, 2018. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Meningitis_2016.pdf

Artículo original

HIV en mujeres mayores de 50 años. Análisis de datos administrativos en departamentos del Pacífico colombiano (2014-2018)

Juanita Camacho¹, Diana Moscote¹, Yoseth J. Ariza²

¹ Programa de Medicina, Universidad Icesi, Cali, Colombia

² Departamento de Salud Pública y Medicina Comunitaria, Universidad Icesi, Cali, Colombia

Introducción. El HIV es un problema de salud pública relevante en el Pacífico colombiano debido a la gran problemática social de la región y la exposición de las mujeres a más factores de riesgo.

Objetivo. Describir las diferencias por sexo y grupos de edad con respecto al código CIE-10 de HIV más frecuente en los cuatro departamentos de la Región Pacífica colombiana durante el periodo de 2014 a 2018.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio observacional descriptivo, retrospectivo y con unidades de análisis ecológicas (departamentos y municipios) obtenidas por agregación. La fuente de datos fue el SISPRO, una plataforma para el registro obligatorio de las prestaciones de servicios de salud en el país. Para cada grupo de edad y ente territorial, se estimaron las proporciones del código para mujeres y para hombres, y se calcularon las diferencias absolutas (la proporción femenina menos la proporción masculina).

Resultados. A nivel regional, en 9 de 22 grupos se observó el predominio de mujeres, con la mayor diferencia en el grupo de 25 a 29 años. Cinco de los nueve grupos de edad con mayor reporte en mujeres correspondían a mayores de 50 años. La mayor diferencia se encontró en el grupo de 50 a 54 años en Chocó y, la menor, en el grupo de 90 a 94 años en Nariño. En el análisis se identificaron dos patrones: antes de los 50 años, con predominio de los hombres, y después de los 50 años, con predominio de las mujeres.

Conclusiones. El análisis secundario de una base de datos de recolección rutinaria es útil. Dado que los datos evidenciaron una prevalencia de los adultos mayores, especialmente mujeres, es importante que se considere incluir esta población en las estrategias de promoción y prevención del programa de HIV.

Palabras clave: HIV; mujeres; anciano; epidemiología; prevalencia; medio social; prevención de enfermedades.

HIV in women over 50 years: An analysis of administrative data in the departments of the Colombian Pacific region (2014-2018)

Introduction: HIV is a public health problem that is relevant in the Colombian Pacific due to major social problems in the region where women are exposed to more risk factors.

Objective: To describe the differences by gender and age of the most frequent ICD-10 code related to HIV in four departments of the Colombian Pacific region during the period 2014 to 2018.

Materials and methods: We conducted a descriptive, retrospective observational study with ecological units of analysis (departments and municipalities) obtained by aggregation. The data source was SISPRO, a platform for the mandatory registration of health services in the country. For each age group and territorial entity, we estimated the proportions of each code for women and men, as well as the absolute differences (the female proportion minus the male proportion).

Results: At the regional level, there was a predominance of women in 9 of 22 groups evaluated. The largest absolute difference was in the 25-29 age group. Five of the nine age groups with a predominance of women represented ages over 50 years. The greatest difference was found in the 50-54 age group in Chocó, and the smallest difference was found in the 90-94 age group in Nariño. The analysis identified the following two patterns: before the age of 50 with a predominance of men and over the age of 50 with a predominance of women.

Conclusions: The secondary analysis of databases for routine information collection is useful. Given that the data showed a prevalence of older adults, especially women, it is important to consider including this population in the promotion and prevention strategies of the HIV program.

Keywords: HIV; women; aged; epidemiology; prevalence; social environment; disease prevention.

Recibido: 08/10/2020
Aceptado: 13/05/2021
Publicado: 28/05/2021

Citación:

Camacho J, Moscote D, Ariza YJ. HIV en mujeres mayores de 50 años. Análisis de datos administrativos en departamentos del Pacífico colombiano (2014-2018). *Biomédica*. 2021;41:76-85. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5697>

Correspondencia:

Yoseth J. Ariza-Araújo, Calle 18 N° 122-135, Edificio Fundación Valle del Lili, oficina 5020, Pance, Cali, Colombia
Teléfono: (318) 587 5364
yjariza@icesi.edu.co

Contribución de los autores:

Todos los autores participaron en la concepción y diseño del estudio, la adquisición, análisis e interpretación de los datos y la redacción del manuscrito.

Financiación:

No se recibió financiación para el estudio.

Conflicto de intereses:

Los autores no declaran ningún conflicto de intereses.

El HIV se considera un problema de salud pública a nivel mundial y nacional debido al gran impacto en la calidad de vida de las personas que lo padecen y sus familias, así como en la economía, ya que se clasifica como una condición de alto costo tanto para la población como para el sistema de salud del país. Se considera que las mujeres son especialmente vulnerables a la infección por HIV; según ONUSIDA, en 2016 de todos los infectados, 17,8 millones (IC95% 15,4-20,3 millones) eran mujeres mayores de 15 años (1). Según los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Estados Unidos, el 48 % de la población infectada con HIV en ese país es mayor de 50 años (2). En Colombia, el 20 % de la población diagnosticada con HIV corresponde a mujeres mayores de 15 años (1). La población femenina colombiana tiene una gran vulnerabilidad ante la infección de HIV debido a múltiples factores como la exclusión, la desigualdad, la marginalidad y, sobre todo, la pobreza, la cual es muy prevalente en el país, especialmente en la región del Pacífico colombiano (3,4).

En este estudio se propuso analizar la fuente administrativa de datos de mayor cobertura del país para describir las diferencias por sexo y grupos de edad del código CIE-10 relacionado con HIV más frecuente en los cuatro departamentos de la Región Pacífica colombiana durante el periodo de 2014 a 2018.

Materiales y métodos

Diseño del estudio y fuente de información

Se hizo un estudio observacional descriptivo, retrospectivo y con unidades de análisis ecológicas obtenidas por agregación de información individual. La fuente de datos fue el Sistema Integrado de Información de la Protección Social (SISPRO), plataforma que ofrece un servicio digital para atender necesidades de información de los ciudadanos y grupos de interés (5). La cobertura del sistema es nacional y su uso es de carácter obligatorio para el registro de las prestaciones de servicios de salud. Puesto que el SISPRO da acceso a todos los datos del país, no fue necesario el muestreo. Para las consultas y la descarga de los archivos, se siguieron las recomendaciones presentadas en la capacitación ofrecida por el grupo administrador de la plataforma.

Procesamiento de los datos

A partir de la consulta en el SISPRO, se generó la base de datos, la cual incluyó los siguientes campos para cada paciente: identificación, edad, sexo, departamento y municipio de residencia, municipio donde fue proporcionado el servicio, identificación del proveedor, diagnóstico primario, fecha de servicio, tipo de servicio (de procedimiento o farmacológico) y tipo de instalación (hospital, atención ambulatoria, de emergencia). Dado que cada paciente puede usar los servicios de salud más de una vez al año, o recibir más de un servicio en cada visita (como paciente ambulatorio u hospitalizado), los datos se agruparon por identificación para obtener el número de pacientes por año y período. Los códigos de diagnóstico seleccionados correspondieron todos al HIV (6): B24, R75, Z114, Z206, Z21, Z717 y Z830. Los grupos de edad se organizaron así: los menores de 25 años se agruparon con base en la propuesta del Ministerio de Salud y Protección Social presentada en la guía de prevención de HIV para jóvenes en contextos de vulnerabilidad en Colombia (7), y los mayores de 25 años, en grupos quinquenales, es decir, que en el rango de 0 a 99 años resultaron 22 grupos de edad. En una tabla de Microsoft Excel® se estimaron las proporciones de interés “población total

femenina” y “población total masculina”, así: número de mujeres que tuvieron ese diagnóstico en cada grupo de edad sobre el total de mujeres con ese diagnóstico en todas las edades, y de la misma forma se procedió para el sexo masculino. Además, se calculó la diferencia absoluta y la relativa de estas dos poblaciones, siendo la primera la resta entre la proporción femenina y la masculina ya calculadas, y la segunda, la división entre estos dos mismos valores. Dichas operaciones se hicieron con el fin de que los datos estuvieran dispuestos de igual forma que en la propuesta del 2016 hecha por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para fortalecer los sistemas nacionales de monitoreo y evaluación del HIV y la salud sexual y reproductiva sensible al género (8). En consecuencia, en el presente estudio, el número de mujeres fue el numerador de la división y el minuendo de la diferencia para hacer referencia al grupo poblacional que ha sido sistemáticamente más vulnerable. El número de hombres fue el denominador y el sustraendo para los indicadores descritos. En la figura 1 se ilustra el flujograma del procesamiento de los datos.

Área de estudio

El análisis se restringió a los cuatro departamentos que constituyen la región geográfica del país con costas en el océano Pacífico (Cauca, Chocó, Nariño y Valle del Cauca) y que, además, comparten características demográficas, históricas y culturales, así como redes de prestación de servicios de salud.

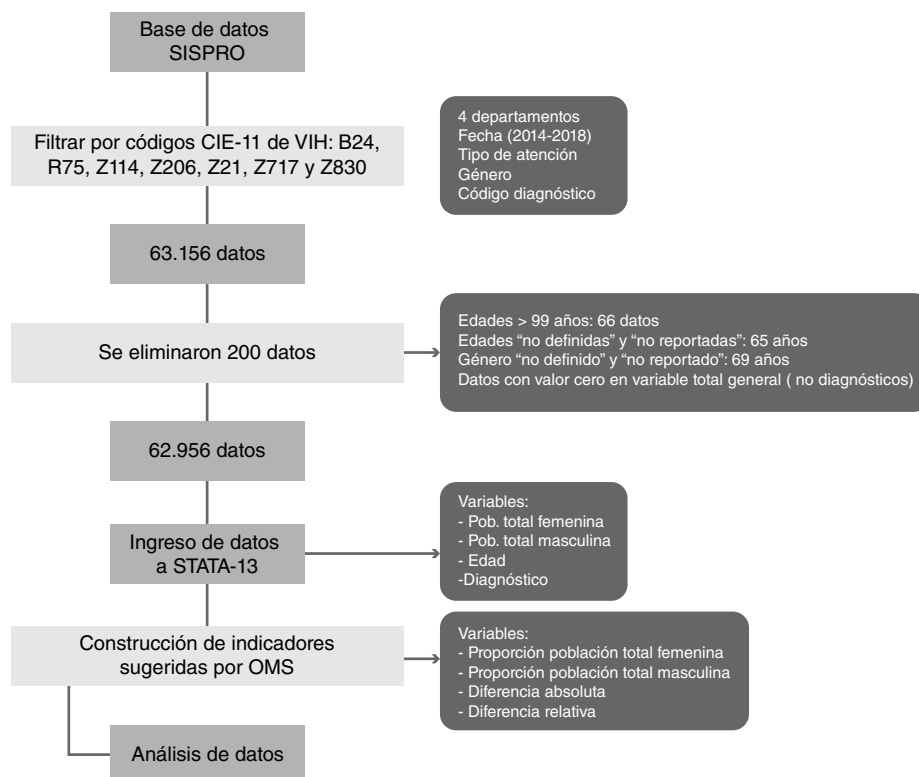


Figura 1. Flujograma del procesamiento de los datos

Análisis estadístico

Las unidades de análisis fueron ecológicas y correspondieron a los departamentos (entes territoriales equivalentes a estados) y los municipios (entes territoriales que conforman los departamentos) de residencia de los pacientes. El periodo de estudio se extendió entre enero del 2014 y diciembre del 2018. Las variables de los municipios y departamentos se obtuvieron por agregación (suma aritmética) de los datos individuales. Para complementar la descripción del nivel departamental, se elaboraron tablas agrupando los municipios según el tipo de distribución poblacional y considerándolos dispersos o concentrados según el punto de corte del 75 % de la población residente en la cabecera municipal con base en lo reportado en las proyecciones censales del Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) (9). Este análisis estratificado de agregación de municipios de los cuatro departamentos se usó como una estrategia para obtener información sobre los territorios rurales con datos insuficientes en las escalas temporal y espacial usadas habitualmente.

Consideraciones éticas

El estudio se ajustó a las disposiciones nacionales determinadas por la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia. El protocolo fue revisado y aprobado por el comité de ética en investigación de la Universidad Icesi.

Resultados

El diagnóstico que presentó la mayor agregación de población de forma persistente en los municipios y departamentos fue el B24 "Enfermedad por VIH", por lo cual el análisis se restringió a este código. Los valores obtenidos del cálculo de la diferencia relativa no se tuvieron en cuenta, dado que para muchos de ellos no había datos o no eran calculables porque el denominador (hombres) era cero. Dado lo anterior, los resultados se basaron únicamente en la diferencia absoluta.

En el cuadro 1, se presentan las diferencias absolutas para cada grupo de edad en los cuatro departamentos. Se observó que las mujeres predominaron en 9 de los 22 grupos de edad. La mayor diferencia se encontró en el grupo de 25 a 29 años (1,4) y, la menor, en el de 20 a 24 años (0,05). Cinco de los nueve grupos de edad con mayor reporte en mujeres correspondieron a mayores de 50 años.

En la parte A de la figura 2 se muestra el comportamiento de las diferencias en los cuatro departamentos para los grupos de edad por debajo de los 50 años y, en la parte B, los grupos de edad de más de 50 años. De los 22 grupos de edad, en 13 se observó predominio de las mujeres. La mayor diferencia se encontró en el grupo de 30 a 34 años del departamento de Chocó (4,5) y, la menor, en el de 21 a 24 años en el departamento de Nariño (0,01) y el de 90 a 94 años en el departamento del Valle (0,01). Se evidenció que, en la primera etapa de la vida, es decir, entre los grupos de edad menores de un año y hasta los 4 años, hubo predominio de las mujeres. Posteriormente, durante la niñez tardía y la adolescencia, el predominio femenino descendió y se centró en los hombres. Más adelante, se apreció nuevamente un mayor reporte en las mujeres del grupo de 21 a 24 años en los cuatro departamentos, tendencia que permaneció hasta el grupo de 35 a 39 años y después descendió nuevamente, evidenciando predominio de los hombres. Otro pico en las mujeres se observó en el grupo de 50 a 54 años, patrón que se mantuvo hasta el grupo de 80 a 84 años.

Cuadro 1. Diferencia absoluta por región y grupo etario

Edad (años)	Cauca	Chocó	Nariño	Valle del Cauca
< 1	0,19	0,79	-0,09	0,38
1-4	0,35	0,69	-1,07	-0,01
5-9	-0,64	-2,17	-0,77	0,04
10-13	1,26	-0,86	-0,99	-0,57
14-16	-0,21	-0,55	-0,67	-0,03
17-20	-0,03	-2,34	-0,37	-0,76
21-24	0,81	0,10	0,01	0,38
25-29	-3,33	-3,24	1,63	1,93
30-34	-0,33	4,51	2,04	-0,49
35-39	-2,40	0,10	0,77	0,76
40-44	-0,96	-1,69	-0,24	-0,74
45-49	-1,37	0,98	-2,36	-0,27
50-54	3,40	3,96	1,68	0,51
55-59	1,18	0,31	0,08	-0,70
60-64	1,34	-0,60	-0,67	-0,88
65-69	-0,25	-2,55	0,67	-0,55
70-74	1,30	0,60	-1,58	-0,07
75-79	0,78	1,91	1,76	0,17
80-84	-0,03	0,45	0,82	0,25
85-89	-0,23	-0,88	-0,34	0,42
90-94	-0,84	0,48	-0,35	0,01
95-99	0,00	0,00	0,03	0,21

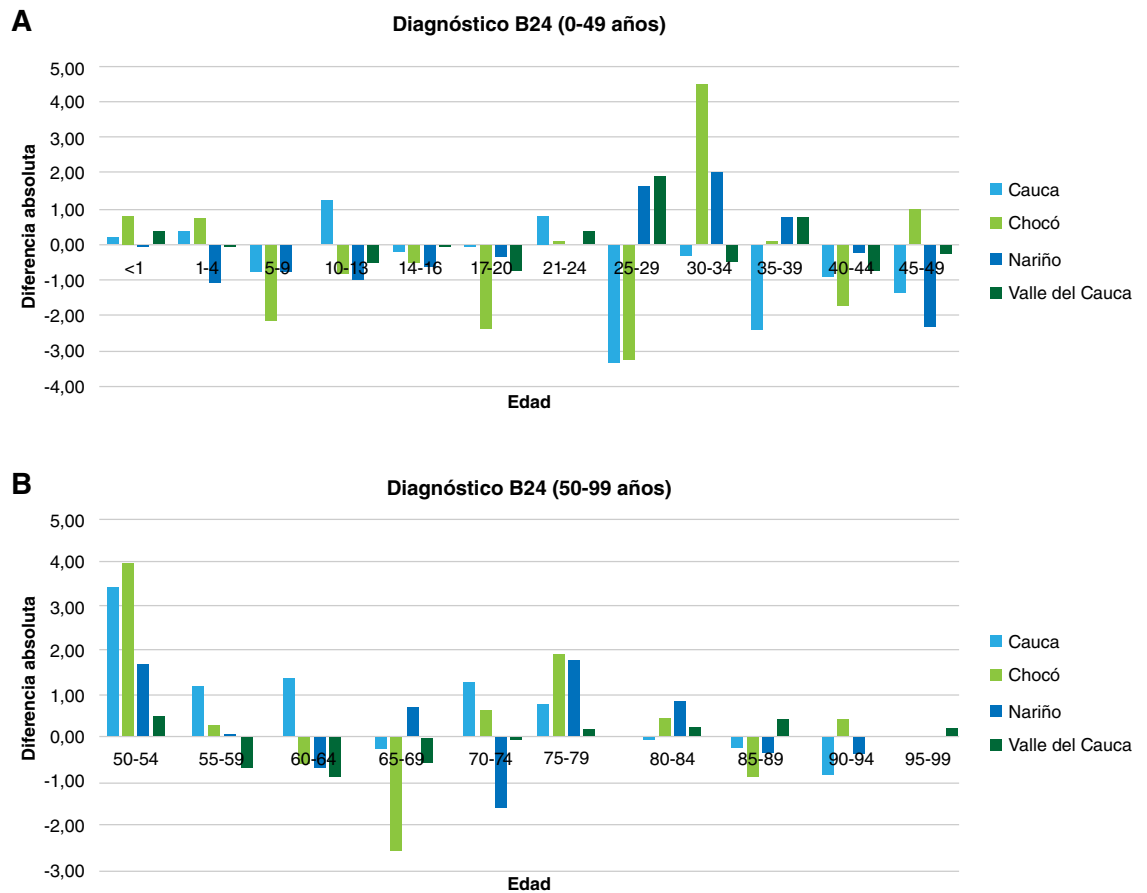


Figura 2. A. Diferencia absoluta frente al diagnóstico B24 por departamentos en menores de 50 años. **B.** Diferencia absoluta frente al diagnóstico B24 por departamentos en mayores de 50 años

La frecuencia de los grupos de edad con predominio de mujeres mayores de 50 años, se observó en todos los departamentos, por lo que los siguientes análisis se enfocaron en este grupo de edad. La mayor diferencia se encontró en el grupo de 50 a 54 años en el departamento de Chocó (3,9) y, la menor, en el de 90 a 94 años en el departamento de Nariño (0,03). La diferencia de mayor magnitud en todos los departamentos se detectó en el grupo de 50 a 54 años y, a partir de allí, fue descendiendo progresivamente hasta el grupo de 95 a 99 años, con la única excepción del grupo de edad entre los 60 y 69 años, en el cual se reportó predominio masculino. El número de grupos de edad con predominio de las mujeres fue similar en todos los departamentos, excepto en Cauca, donde la diferencia estuvo principalmente en los grupos de los adultos mayores con menor edad, así como en el departamento del Valle, donde lo estuvo entre los adultos mayores de edad más avanzada. El pico entre los 50 y los 54 años se observó de manera persistente en los cuatro departamentos.

Para completar la descripción del nivel departamental, se presentan las tablas en las que se agrupan los municipios según la proporción de población concentrada en la cabecera municipal (cuadro 2). Allí se observa la variación de un departamento a otro en cuanto a los rangos de edad en que las mujeres fueron la población en la que más se reportó este diagnóstico en comparación con los hombres. En el departamento del Cauca, el comportamiento de los municipios concentrados fue similar al de los dispersos, siendo más parecido en el rango de edad de 50 a 64 años, con un mayor riesgo de reporte de este diagnóstico entre las mujeres. En cuanto al Chocó, llamó la atención que la población femenina con este diagnóstico pertenecía principalmente a los grupos de jóvenes, en los municipios concentrados; sin embargo, en los municipios dispersos, las mayores diferencias se observaron en la población adulta mayor, llegando incluso hasta los 84 años. En el caso de Nariño, hubo intermitencia del predominio femenino en los grupos de edad, tanto en los municipios concentrados como en los dispersos, con una leve tendencia hacia los adultos mayores en los territorios rurales. Por último, en el departamento del Valle, se evidenció que en los municipios concentrados se reportó más el diagnóstico B24 en los extremos de la vida, en tanto que, en los municipios dispersos, se observó una concentración en los adultos jóvenes.

Cuadro 2. Distribución por municipios (disperso Vs. concentrado) en los cuatro departamentos estudiados, y diferencias mínimas y máximas según grupo etario

Departamento	Cauca	Choco	Nariño	Valle
Número de municipios	42	27	62	41
Municipios dispersos n (%)	39 (92,8 %)	25 (92,5 %)	60 (96,7 %)	30 (73,1 %)
Municipios dispersos				
Número de grupos etarios con predominio femenino				
0-14 años (5)	2/5	2/5	0	3/5
15-49 años (8)	3/8	2/8	3/8	5/8
≥50 años (9)	6/9	6/9	6/9	2/9
Diferencias absolutas por grupo etario (min-max)				
0-14 años (5)	(0,35-1,63)	(1,43)	0	(0,17-1,29)
15-49 años (8)	(0,04-0,92)	(2,39-7,28)	(0,95-2,11)	(0,19-2,84)
≥50 años (9)	(0,30-4,35)	(1,28-6,17)	(0,09-2,25)	(0,10-0,60)
Municipios concentrados				
Número de grupos etarios con predominio femenino				
0-14 años (5)	3/5	2/5	2/5	2/5
15-49 años (8)	4 (50 %)	4 (50 %)	4 (50 %)	3 (37,5 %)
≥50 años (9)	4 (44,4 %)	2 (25 %)	2 (25 %)	5 (55,5 %)
Diferencias absolutas por grupo etario (min-max)				
0-14 años (5)	(0,17-1,04)	(0,33-0,58)	(0,24-0,50)	(0,00-0,42)
15-49 años (8)	(0,19-1,51)	(0,50-5,63)	(1,08-2,61)	(0,41-2,05)
≥50 años (9)	(1,04-2,64)	(0,71)	(0,28-1,80)	(0,17-0,49)

Discusión

Los resultados indican que las diferencias observadas se pueden agrupar en tres segmentos del ciclo vital: al inicio de la vida, en que predominó el reporte en las mujeres; en la adolescencia y la etapa de adulto joven, con predominio de reporte en los hombres, y, por último, entre los adultos mayores, en quienes nuevamente predominó el reporte de mujeres.

El hallazgo más relevante en los cuatro departamentos estudiados señala que los valores más elevados de reporte en mujeres ocurrieron entre las edades de 21 a 24 y de 50 a 54 años, y que las proporciones en las edades de 50 a 54 años fueron mayores que en el primer grupo. Esto podría explicarse por el efecto de la cohorte de nacimiento, pues el grupo de mujeres mayores de 50 años tenía alrededor de 20 años en la década de los 80, momento histórico en el que aún no se habían constituido muchos de los programas de prevención y promoción que hoy están disponibles.

El análisis de las diferencias por grupos de edad permitió establecer dos comportamientos distintos: antes de los 50 años de edad, cuando el predominio y la concentración de reportes fue para los hombres, y después de los 50 años de edad, cuando las diferencias mostraron predominio de las mujeres. Esto podría corresponder al efecto poblacional que tiene la “generación X” en la presentación de la condición. Las personas nacidas entre 1965 y 1980, y las generaciones previas, muestran un comportamiento diferente a las cohortes de nacimiento posteriores a 1980. Además, hay que tener en cuenta que la terapia antirretroviral solo comenzó a emplearse en los años 90.

Al efecto de la cohorte de nacimiento se suma un componente estructural de nivel contextual que se relaciona con los servicios de salud. En el análisis también se evidenció la variabilidad por departamentos, con diferencias de mayor magnitud en Cauca y Chocó, entes territoriales con menor nivel organizativo y experiencia que el Valle del Cauca y Nariño, en cuanto al grado de consolidación de los programas de atención de HIV.

En Colombia, los mayores esfuerzos de prevención del HIV se han concentrado en los adolescentes, grupo de edad en que se inicia la vida sexual y se tiene mayor riesgo de transmisión. Sin embargo, los resultados de este análisis demuestran que es necesario incluir también en la agenda a los grupos de adultos mayores. Esta recomendación es coherente con el análisis de las tendencias mundiales y regionales entre personas de más de 50 años con HIV en el periodo de 2000 a 2020 (10), así como con los datos de encuestas poblacionales (11) y de incidencia obtenidos a partir de la vigilancia en salud pública (12).

El patrón observado es similar al reportado en otros países; por ejemplo, en Estados Unidos el 10 % de los casos nuevos de sida ocurre en personas mayores de 60 años y, en el 2015, más de la mitad de la población diagnosticada con HIV era mayor de 50 años (13). Según los CDC, en el 2018, el 17 % de los diagnósticos de nuevos casos de HIV en ese país se presentó en población mayor de 50 años y de estos, el 43 % se encontraba entre 50 y 54 años (2). En Europa Occidental, el 10 % de los casos nuevos ocurre en el grupo de personas mayores de 50 años, con 4,3 % en Europa Central y 0,7 % en Europa Oriental.

En España, casi el 7 % de los casos registrados se presenta en mayores de 50 años (14). En un estudio del 2004 en este país, se analizaron las

características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de una serie clínica de pacientes mayores de 50 años infectados con el HIV en el momento del diagnóstico. Se encontró que había habido un aumento de casos de infección en personas mayores de 50 años, y que el mecanismo de transmisión más frecuente era la vía sexual. De los 165 pacientes incluidos en el estudio, el promedio de edad en el momento del diagnóstico fue de 58,4 años y el 81 % había adquirido la infección por la vía sexual; la mayoría de los diagnósticos se hicieron ante la aparición de una enfermedad oportunista, y la mortalidad se situó en el 32,7 % (15). Además, en el documento de consenso sobre edad avanzada e infección por el HIV publicado en el 2015 por la Sociedad Española de Geriatria y Gerontología, se demostró que hay un número creciente de personas mayores de 50 años con HIV en el mundo actual, sobre todo en los países de ingresos bajos y medios donde hay pocas estrategias que atiendan esta fase de la epidemia (16).

Este pico de prevalencia poblacional puede deberse en gran medida a la disminución de la incidencia del HIV entre los adultos más jóvenes, con lo que la carga de morbilidad se desplaza a edades más avanzadas, y a la baja percepción del riesgo de la infección a estas edades, lo que hace que las personas mayores de 50 años practiquen conductas de riesgo, como no usar preservativos por considerarlos un método anticonceptivo y no de prevención de las infecciones de transmisión sexual. Además, la cultura machista que aún prevalece normaliza que los hombres, incluso a esa edad, mantengan relaciones sexuales por fuera de la relación de pareja, en tanto que para las mujeres mayores la sexualidad sigue siendo un tema tabú en los servicios sociales, la sociedad y entre ellas mismas, lo que las condiciona a creer que el sexo es una actividad inconveniente a partir de cierta edad (17). Por último, pero no menos importante, los cambios biológicos tienen un papel importante, pues después de la menopausia la pared vaginal se vuelve más delgada, con lo que aumentan las posibilidades de sufrir lesiones y desgarros, los cuales pueden ser la vía de entrada del virus durante las relaciones sexuales (16). Por otro lado, el uso de antirretrovirales aumenta las tasas de supervivencia en la población con HIV, lo que se traduce en una mayor prevalencia en la población mayor. Es el caso de España, donde se ha evidenciado que la población con HIV está envejeciendo gracias a la terapia antirretroviral, lo que aumenta tanto la supervivencia como los nuevos casos entre los adultos mayores, la mitad de los cuales viven con infección por HIV, en tanto que alrededor del 20 % de los nuevos casos corresponde a personas mayores de 50 años (18).

Es injustificable que no haya esfuerzos para generar programas orientados a este grupo poblacional, lo que puede deberse a que los signos de la enfermedad en estas edades se pueden confundir con los malestares y dolores del envejecimiento normal. Cada vez hay mayor evidencia en la literatura científica que sugiere que la población con infección por HIV experimenta cambios inmunológicos similares a los que provoca el envejecimiento en la población anciana sin infección (16). Por otro lado, las personas mayores tienen menos probabilidad de hacerse la prueba, ya que pueden sentir vergüenza o temor por el resultado, incluso muchos profesionales en medicina no consideran la tamización para HIV en este grupo poblacional (19).

Otra posible explicación es que los planificadores de políticas y servicios pueden considerar, erróneamente, que las personas de esa edad no tuvieron ni tienen relaciones sexuales, por lo tanto, no se invierte

en estudios o programas dirigidos especialmente a este grupo de alto riesgo. En 2006, el artículo titulado “El sida y las personas mayores” demostró que, para ese momento, la bibliografía internacional sobre HIV se concentraba principalmente en las poblaciones de 14 a 49 años, y señaló las características particulares por las cuales se requieren estudios orientados a la población adulta mayor: muchas personas de esta edad vuelven a estar solteras (divorciadas o viudas) y en sus relaciones de pareja no prestan atención a los mensajes de prevención; los investigadores y los servicios de salud no reconocen las necesidades sexuales de los mayores; además, existen barreras sociales para dialogar sobre su sexualidad y los profesionales de la salud no les preguntan sobre su orientación sexual o sus comportamientos sexuales de riesgo (14).

Entre las limitaciones del estudio pueden mencionarse los sesgos de selección, pues si bien la notificación al SISPRO es obligatoria, la oportunidad y exhaustividad de su diligenciamiento es diferente en los territorios urbanos y los rurales. Asimismo, podría considerarse la variabilidad interanual asociada al manejo de la plataforma, aunque se presume que para el 2014, primer año del periodo de estudio, los prestadores de servicios ya tenían cinco años de experiencia con el sistema.

Para concluir, el análisis secundario de una base de datos de recolección rutinaria de información es útil, especialmente cuando se dispone de un gran número de eventos, ya que, si el enfoque analítico es coherente, se pueden detectar patrones específicos. Este tipo de estudios posibilita el análisis en escalas territoriales subnacionales que habitualmente no se consideran en la investigación y la planeación de intervenciones en salud pública.

Para poder realizar un seguimiento adecuado y periódico de esta enfermedad, el código CIE-10 de mayor utilidad en Colombia es el B24 “Enfermedad por VIH”, ya que es el que los profesionales de salud más usan para la notificación.

Los datos analizados evidencian una representación poblacional significativa de adultos mayores, especialmente mujeres, entre las personas que consultaron por HIV en el periodo de estudio, por lo que es importante considerar la inclusión de estrategias de promoción y prevención acordes con las necesidades y características particulares de la población mayor de 50 años en el programa nacional de HIV.

Referencias

1. UNAIDS. Country fact sheets Colombia 2016. Fecha de consulta: 4 de mayo de 2018. Disponible en: <http://onusidalac.org/1/index.php/internas/item/2322-colombia-nre>
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). HIV and older Americans. Fecha de consulta: 4 de mayo de 2018. Disponible en: <https://www.cdc.gov/hiv/group/age/olderamericans/index.html>
3. UN Women. Facts and figures: HIV and AIDS. Fecha de consulta: 4 de mayo de 2018. Disponible en: <https://www.unwomen.org/en/what-we-do/hiv-and-aids/facts-and-figures>
4. Rincón L. Desigualdad económica y social en Colombia: las políticas públicas para la reducción de la pobreza. Bogotá: Universidad Católica de Colombia; 2014. p. 29-35.
5. Sistema Integrado de Información de la Protección social - SISPRO. ¿Qué es SISPRO? Fecha de consulta: 12 de octubre de 2019. Disponible en: <https://www.sispro.gov.co/>
6. Organización Mundial de la Salud (OMS). Clasificación internacional de enfermedades para estadísticas de mortalidad y morbilidad - CIE-10. Fecha de consulta: 12 de octubre de 2019. Disponible en: <http://ais.paho.org/classifications/Chapters/pdf/Volume1.pdf>

7. Ministerio de la Protección Social y Fondo de Población de las Naciones Unidas. Guía de Prevención VIH/SIDA jóvenes en contextos de vulnerabilidad. Bogotá, D.C.: Ministerio de la Protección Social; 2011. p. 57-9.
8. World Health Organization (WHO), UNAIDS. A tool for strengthening gender-sensitive national HIV and Sexual and Reproductive Health (SRH) monitoring and evaluation systems. Geneva: Jura Editorial Services; 2016. p. 59-60.
9. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Proyecciones y retroproyecciones de población nacional para el periodo 1950-2017 y 2018-2070 con base en el CNPV 2018. Información técnica. Fecha de consulta: 16 de abril de 2021. Disponible en: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/demografia-y-poblacion/proyecciones-de-poblacion>
10. Autenrieth CS, Beck EJ, Stelzle D, Mallouris C, Mahy M, Ghys P. Global and regional trends of people living with HIV aged 50 and over: Estimates and projections for 2000-2020. Plos ONE. 2018;13:1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207005>
11. Mahy M, Autenrieth CS, Stanecki K, Wynd, S. Increasing trends in HIV prevalence among people aged 50 years and older: Evidence from estimates and survey data. AIDS. 2014;28:1-7. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000479>
12. Tavoschi L, Gomes J, Pharris A. New HIV diagnoses among adults aged 50 years or older in 31 European countries, 2004-15: An analysis of surveillance data. Lancet HIV. 2017;4:514-21. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(17\)30155-8](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(17)30155-8)
13. High KP, Brennan-Ing M, Clifford DB, Cohen MH, Currier J, Deeks SG, *et al.* HIV and aging: State of knowledge and areas of critical need for research. A report to the NIH office of AIDS research by the HIV and aging working group. J Acquir Immune Defic Syndr. 2012;60(Suppl.1):1-33. <https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31825a3668>
14. Hanzeliková-Pogránýivá A. El sida y las personas mayores. Gerokomos. 2006;17:82-8. <https://doi.org/10.4321/s1134-928x2006000200004>
15. Antón E, Sala M, Mallolas J, Navarro G, Cervantes M, Gatell JM, *et al.* Estudio de una serie clínica de pacientes infectados por el VIH mayores de 50 años. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005;23:145-8. <https://doi.org/10.1157/13072164>
16. Grupo de Expertos de la Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida, Sociedad Española de Geriátría y Gerontología. Documento de consenso sobre edad avanzada e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. Madrid: Sociedad Española de Geriátría y Gerontología; 2015. p. 15-6.
17. Muñoz F, Espinosa JM. Envejecimiento activo y desigualdades de género. Aten Primaria. 2008;40:305-9. <https://doi.org/10.1157/13123684>
18. Subdirección General de Promoción, Prevención y Educación para la Salud. Envejecimiento y VIH. Madrid: Comunidad de Madrid; 2018. p. 4-5.
19. National Institute on Aging. El VIH, el SIDA y las personas mayores. Fecha de consulta: 12 de octubre de 2019. Disponible en: <https://www.nia.nih.gov/espanol/vih-sida-personas-mayores>

Original article

Immune characterization of a Colombian family cluster with SARS-CoV-2 infection

Wbeimar Aguilar-Jiménez¹, Lizdany Flórez-Álvarez¹, Daniel S. Rincón¹, Damariz Marín-Palma¹, Alexandra Sánchez-Martínez¹, Jahnyer Martínez^{1,2}, María Isabel Zapata¹, John D. Loaiza¹, Constanza Cárdenas³, Fanny Guzmán³, Paula A. Velilla¹, Natalia A. Taborda⁴, Wildeman Zapata^{1,5}, Juan C. Hernández^{1,5}, Francisco J. Díaz¹; María T. Rugeles¹

¹ Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

² Grupo de Salud y Comunidad, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

³ Núcleo de Biotecnología Curauma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Valparaíso, Chile

⁴ Grupo de Investigaciones Biomédicas Uniremington, Programa de Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, Corporación Universitaria Remington, Medellín, Colombia

⁵ Grupo Infettare, Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia

Introduction: Immunological markers have been described during COVID-19 and persist after recovery. These immune markers are associated with clinical features among SARS-CoV-2 infected individuals. Nevertheless, studies reporting a comprehensive analysis of the immune changes occurring during SARS-CoV-2 infection are still limited.

Objective: To evaluate the production of proinflammatory cytokines, the antibody response, and the phenotype and function of NK cells and T cells in a Colombian family cluster with SARS-CoV-2 infection.

Materials and methods: Proinflammatory cytokines were evaluated by RT-PCR and ELISA. The frequency, phenotype, and function of NK cells (cocultures with K562 cells) and T-cells (stimulated with spike/RdRp peptides) were assessed by flow cytometry. Anti-SARS-CoV-2 antibodies were determined using indirect immunofluorescence and plaque reduction neutralization assay.

Results: During COVID-19, we observed a high proinflammatory-cytokine production and a reduced CD56^{bright}-NK cell and cytotoxic response. Compared with healthy controls, infected individuals had a higher frequency of dysfunctional CD8⁺ T cells CD38⁺HLA-DR⁺. During the acute phase, CD8⁺ T cells stimulated with viral peptides exhibited a monofunctional response characterized by high IL-10 production. However, during recovery, we observed a bifunctional response characterized by the co-expression of CD107a and granzyme B or perforin.

Conclusion: Although the proinflammatory response is a hallmark of SARS-CoV-2 infection, other phenotypic and functional alterations in NK cells and CD8⁺ T cells could be associated with the outcome of COVID-19. However, additional studies are required to understand these alterations and to guide future immunotherapy strategies.

Keywords: Coronavirus infections; inflammation; killer cells, natural; T-lymphocytes; antibodies, neutralizing.

Caracterización inmunológica de un grupo familiar colombiano con infección por SARS-CoV-2

Introducción. Se han descrito diferentes marcadores inmunológicos durante la COVID-19, los cuales persisten incluso después de la convalecencia y se asocian con los estadios clínicos de la infección. Sin embargo, aún son pocos los estudios orientados al análisis exhaustivo de las alteraciones del sistema inmunológico en el curso de la infección.

Objetivo. Evaluar la producción de citocinas proinflamatorias, la reacción de anticuerpos, y el fenotipo y la función de las células NK y los linfocitos T en una familia colombiana con infección por SARS-CoV-2.

Materiales y métodos. Se evaluaron las citocinas proinflamatorias mediante RT-PCR y ELISA; la frecuencia, el fenotipo y la función de las células NK (en cocultivos con células K562) y linfocitos T CD8⁺ (estimulados con péptidos spike/RdRp) mediante citometría de flujo, y los anticuerpos anti-SARS-CoV-2, mediante inmunofluorescencia indirecta y prueba de neutralización por reducción de placa.

Resultados. Durante la COVID-19 hubo una producción elevada de citocinas proinflamatorias, con disminución de las células NK CD56^{bright} y reacción citotóxica. Comparados con los controles sanos, los individuos infectados presentaron con gran frecuencia linfocitos T CD8⁺ disfuncionales CD38⁺HLA-DR⁺. Además, en los linfocitos T CD8⁺ estimulados con péptidos virales, predominó una reacción monofuncional con gran producción de IL-10 durante la fase aguda y una reacción bifuncional caracterizada por la coexpresión de CD107a y granzima B o perforina durante la convalecencia.

Received: 24/02/2021

Accepted: 02/06/2021

Published: 09/06/2021

Citation:

Aguilar-Jiménez W, Flórez-Álvarez L, Rincón DS, Marín-Palma D, Sánchez-Martínez A, Martínez J, et al. Immune characterization of a Colombian family cluster with SARS-CoV-2 infection. *Biomédica*. 2021;41:86-102.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5976>

Corresponding author:

María T. Rugeles, Grupo de Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Calle 70 N° 52-21, Medellín, Colombia
Teléfono: (574) 219 6482
maria.rugeles@udea.edu.co

Author contributions:

Wbeimar Aguilar-Jiménez: Formal analysis
Lizdany Flórez-Álvarez, Daniel S. Rincón, Damariz Marín-Palma, María Isabel Zapata: Investigation and formal analysis
Alexandra Sánchez-Martínez: Investigation and software
Jahnyer Martínez: Investigation and visualization
John D. Loaiza: Investigation
Constanza Cárdenas and Fanny Guzmán: Resources
Paula A. Velilla and Juan C. Hernández: Formal analysis, conceptualization, and methodology
Natalia A. Taborda: Formal analysis and visualization
Wildeman Zapata: Formal analysis and conceptualization
Francisco J. Díaz: Methodology and supervision
María T. Rugeles: Conceptualization and project administration
All authors participated in the writing and review of the manuscript.

Funding:

This study was supported by *Universidad de Antioquia, Universidad Cooperativa de Colombia and Corporación Universitaria Remington*.

Conflicts of interest:

None of the authors has any potential financial conflict of interest related to this manuscript.

Conclusión. Aunque la reacción inflamatoria caracteriza la infección por SARS-CoV-2, hay otras alteraciones fenotípicas y funcionales en células NK y linfocitos T CD8+ que podrían asociarse con la progresión de la infección. Se requieren estudios adicionales para entender estas alteraciones y guiar futuras estrategias de inmunoterapia.

Palabras clave: infecciones por coronavirus; inflamación; células asesinas naturales; linfocitos T; anticuerpos neutralizantes.

COVID-19 is caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (1). Currently, more than 212 million people have been infected with the virus worldwide. In Colombia, since the first reported case (March 6, 2020), more than 4.8 million cases have been reported (by August 23, 2021).

SARS-CoV-2 is an enveloped, single-strand, positive-sense RNA virus (2). The infection begins with the interaction of the spike protein (S) with the cellular receptor ACE2, highly expressed on lower and upper respiratory tract cells, sites of viral transmission and severe disease development, respectively (3). Following infection, a strong inflammatory response is triggered including the high activity of macrophages and neutrophils and their products, reactive oxygen species (ROS), neutrophil extracellular traps (NETs), IL-6, type I IFN, monocyte chemoattractant protein (MCP-1), and human interferon-inducible protein (IP-10), among others (4,5). Systemic inflammation is a key feature, especially in those patients with severe clinical manifestations who exhibit increased levels of IL-6, TNF α , C reactive protein (CRP), and pro-coagulant factors (6,7).

NK cells are pivotal antiviral actors and can be rapidly recruited to different anatomical sites, such as the lungs, to assist the clearance of virus-infected cells. They are subdivided into several subpopulations according to CD56 expression with the differential capacity to produce cytokines or induce apoptosis of target cells (8). NK cells are important players in the immune responses in COVID-19 patients by direct elimination of virus-infected cells and the modulation of the systemic inflammatory response (9). In addition, some NK cells subpopulations have similar features to adaptive T lymphocytes. In this sense, NKG2C⁺ NK cells can effectively mediate antibody-dependent effector functions and produce antiviral cytokines after peptide stimulation (10,12). Although studies are still limited in this field, COVID-19 patients exhibit NKG2A overexpression while activation markers are reduced, which suggests NK exhaustion and reduction of their response capacity (13).

Subsequent adaptive responses involving B and T cells are observed in infected patients, although humoral response seems to be variable. Detectable IgM and IgG antibodies are produced within days to weeks of the onset of symptoms in most infected individuals without there being a clear association between antibody responses and clinical outcome (14). However, some authors have reported stronger antibody response in those patients with severe symptoms (15). Both SARS-CoV-2-specific CD8⁺ and CD4⁺ T cells have been reported in the convalescence phase. But lymphopenia is often reported in severe and fatal cases suggesting a key role of adaptive cellular immunity in the control and outcome of SARS-CoV-2 infection (16).

SARS-CoV-2-infected patients exhibit variable illness severity including asymptomatic infection, mild or severe disease, and, eventually, death. Although vaccination programs have been progressing adequately in many countries, in others coverage is still very limited. Thus, natural herd immunity should be considered as a potential mechanism against COVID-19, at least in particular community settings (i.e., small or country-side towns). Determining post-infection immunity has a key epidemiological and clinical value and

could also have implications in the evaluation of potential immunomodulatory therapies and vaccines. Here we provide a detailed functional and phenotypic characterization of immune parameters in a family cluster with SARS-CoV-2 infection: Two asymptomatic cases and one patient with mild COVID-19. Our findings have important implications for understanding the circumstances under which the immune response could be established during SARS-CoV-2 infection.

Materials and methods

Samples

The study on this family cluster (three individuals named JM, A, and JC) was approved by the institutional ethics board of *Universidad de Antioquia* (Colombia) and the informed consent was signed by all the family members in the study.

The clinical data were collected by phone during their follow-up. A nasopharyngeal aspirate from JM was taken on March 25 for SARS-CoV-2 detection by using the Luna® Universal Probe One-Step RT-qPCR Kit (New England Biolabs) and the CDC RT-PCR oligos and probes protocol (17). Furthermore, viral isolation was performed from the nasopharyngeal sample and the virus was amplified for the experiments (18).

Blood samples were obtained on March 25 (acute phase), April 14 (convalescent phase), and May 28 (recovery phase) from JM. Additionally, samples from A and JC were collected on May 28. Serum was obtained by centrifugation from anticoagulant-free and plasma from EDTA-blood and then stored at -80°C until their use for antibody testing by immunofluorescence and cytokine quantification by ELISA. Peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were isolated by EDTA blood centrifugation on a density gradient with Ficoll-Histopaque® (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and frozen in liquid nitrogen until immune assays. Also, fresh PBMC from three healthy donors age- and sex-matched with the family members were collected at the time of donors and included in some of the assays.

Quantification of inflammatory molecules by RT-PCR

Total RNA was isolated from PBMCs using the Direct-zol™ RNA Miniprep (Zymo Research., CA, USA), then quantified using a Multiskan SkyHigh Microplate Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Hanover, MD, USA), and cDNA synthesis was done with 150 ng of total RNA using the High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems™, CA, USA) following the manufacturers' recommendations. The expression of IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF α , as well as of the phosphoglycerate kinase (PGK) used as reference gene, was quantified by real-time RT-PCR using the Maxima SYBR® Green qPCR master mix (Thermo Fisher Scientific, Hanover, MD, USA), and a CFX-96 Real-Time thermal cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) as previously described (19). Oligos and thermal conditions are shown in supplementary material 1. Real-time RT-PCR analysis was conducted using the CFX Maestro 1.1 Software (Bio-Rad).

ELISA

Plasma levels of IL-1 β , IL-6, and IL-8 were quantified in duplicate by ELISA using commercial kits from eBioscience (Vienna, Austria), BD Biosciences (Franklin Lakes, NJ), and Biolegend (San Diego, CA, USA), respectively, following the manufacturers' instructions.

NK cells phenotype by flow cytometry

Briefly, 1×10^6 PBMCs were stained using monoclonal antibodies against CD45, CD56, CD3, CD57, and NKG2C for 25 minutes in the dark (antibody details are shown in supplementary material 2). Then, cells were washed twice with phosphate-buffered saline (PBS) (Lonza, Rockland, ME, USA), suspended in paraformaldehyde 2%, and acquired using LSR Fortessa™ (BD Biosciences, San Jose, CA, USA). The data were analyzed using FlowJo software, version 10.5.3 (FlowJo, LLC, Oregon, USA).

NK cytotoxicity assay

PBMCs were thawed and left in culture with RPMI (Sigma-Aldrich) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) (Sigma-Aldrich) for 24 h before the experiments. K562 cells were used as targets (20). Prior to culturing, 1×10^6 K562 cells were stained with 0.1 mM eFluor™ 670 (Thermo Fisher Scientific) in PBS for 10 min at 37°C. Then, PBMCs were co-cultured with K562 cells in round-bottomed tubes at a 10:1 ratio in 300 μ l of RPMI with 10% FBS for 4 h at 37°C and 5% CO₂.

After incubation, cells were stained with propidium iodide (PI) and DIOC-6 (both from Thermo Fisher Scientific) for 15 min in the dark. PI and DIOC-6 were used to evaluate the integrity of the cell and mitochondrial membranes, respectively. K562 cells cultured in the absence of PBMCs were used as spontaneous death control, which was conducted for every assay. Spontaneous death control had to be lower than 15% for the experiment to be valid. The cytotoxicity percentage was adjusted based on spontaneous death control.

Anti-SARS-CoV-2 antibodies

Indirect Immunofluorescence assay. Sera samples of all family members were subjected to indirect immunofluorescence assay (IFA) to determine the titer of specific antibodies against SARS-CoV-2.

Vero E6 monolayers grown in 75 cm² flasks were infected or not with a Colombian SARS-CoV-2 isolate (SARS-CoV-2/human/Medellin/UdeA1/2020) (20) at a multiplicity of infection (MOI) of 0.001 in 2 ml of DMEM supplemented with 2% FBS for 1 h; after virus adsorption, the inoculum was removed and replaced with fresh medium. Cells were detached with scrapper 48 h.p.i and resuspended in 3 ml PBS. The cell suspension was spotted in 10 well-immunofluorescence slides (20 μ l/well) and dried overnight. Afterward, the slides were fixed by immersion in acetone for 30 min and stored at 4°C until used.

Two-fold dilutions of sera in PBS (1:5 to 1:80) were added to infected and uninfected cells (20 μ l each) and incubated in a moist chamber at 37°C for 30 minutes, then washed twice by immersion in PBS for 5 min with slow shaking and then allowed to dry. After, 20 μ l of anti-human IgG-FITC (Sigma-Aldrich) diluted 1:16 in PBS were added to each well and incubated in a moist chamber at 37°C for 30 min followed by two washes. The slides were mounted with anti-fade reagent Fluosaver (Calbiochem) and coverslips and visualized in an Axio Vert.A1 (ZEISS, Oberkochen, Germany) fluorescent microscope at 400x magnification by three different researchers. Antibody titer was reported as the last dilution where fluorescence was clearly observed in infected cells but no so at the same dilution in non-infected cells. Experiments requiring virus handling were done in a biosafety level 3 laboratory.

Plaque reduction neutralization test. Neutralizing antibodies in the sera of infected individuals were tested using a 50% plaque reduction neutralization test (PRNT50) with Vero E6 cells. Briefly, Vero E6 cells (1.1×10^5 cells per well) were seeded into the 24-well tissue culture plates the day before infection. On the next day, 200 plaque-forming units of SARS-CoV-2 were incubated with or without serially diluted heat-inactivated sera (56°C , 30 min) in a total volume of 200 μl in microcentrifuge tubes for 60 min at 37°C and 5% CO_2 . Next, the mixtures were added to Vero E6 monolayers and incubated at 37°C for 60 min. Then, the inoculum was removed and 1 ml of the semisolid medium (containing 1.5% of carboxymethyl cellulose 2% fetal bovine serum, 1% streptomycin, and DMEM) was added and cultured at 37°C for 72 h. Afterwards, the semisolid media was removed and monolayers were washed twice with PBS. Finally, monolayers were fixed and stained with 1% crystal violet/4% formaldehyde for 30 min and washed twice with PBS. A 50% reduction in plaque count (PRNT50) in two independent assays conducted by two different researchers was used as the neutralizing endpoint. The inhibition percentage was calculated based on the number of plaques on infection control wells. To discard toxicity, a serum control in uninfected cells per individual was also included in the assays. Experiments requiring virus handling were done in a biosafety level 3 laboratory.

T cell basal activation phenotype. Phenotypic analysis of PBMCs was done from frozen samples. T cells percentages and basal CD4^+ and CD8^+ T cell activation levels were assessed by flow cytometry. Cells were incubated with monoclonal antibodies against surface molecules CD4 , CD8 , HLA-DR, CD69 , and CD38 for 25 min. Then, cells were permeabilized and fixed using the Foxp3/Transcription Factor Staining kit (Thermo Fisher Scientific), and intracellular staining for 25 min with antibodies against Ki-67 and CD3 was performed (see antibody details in supplementary material 2). At least 100,000 events were acquired on an LSR Fortessa™ (BD) and analyzed with the FlowJo (BD) software.

Peptide synthesis, purification, and characterization for functional evaluation of CD8^+ T cells

Spike and RdRp peptide pools are listed in supplementary material 3A and their location at the protein is visualized in a 3D model in supplementary material 3B-C. Spike and RdRp peptide pools are based on the PDB structures 6VSB and 6M71, respectively. The peptides in the spike peptide pool are located on the surface area (the exposed region) of the glycoprotein (21). The peptides in the RdRp are sites involved in the protein folding which is part of the interaction of the complex formed by nsp12-nsp7-nsp8 (22). During this analysis, we did not have information on the patient's HLA-I, therefore, PBMCs were stimulated with peptides located in different sites of the proteins.

Peptides were synthesized using a Liberty Blue™ automated microwave peptide synthesizer (CEM Corp., Matthews, NC, USA) following a standard 9-fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc)/tert-butyl (tBu) protocol as previously described (23). Peptides were hydrolyzed with TFA/TIS/Water/DOT (proportion 92.5:2.5:2.5:2.5) and purified by RP-HPLC; their purity and molecular weights were confirmed by electrospray mass spectrometry (ESI-MS), they were then lyophilized, reconstituted in sterile water (1 mg/ml), and stored at -20°C until used.

Peptide stimuli and flow cytometry analysis of CD8^+ T cells. Thawed PBMCs were cultured at a density of 4×10^6 cells/ml in RPMI-1640 medium

supplemented with 10% FBS, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml of streptomycin, and 2 mM L-glutamine (complete medium; all from Sigma-Aldrich). The cells were stimulated with 1 µg/ml of both anti-CD28 (clone: CD28.2, eBioscience™), and anti-CD49d (clone: 9F10, eBioscience™) functional grade antibodies plus 10 µg/ml peptide pools (spike and RdRp). Cells stimulated only with anti-CD28 and anti-CD49d antibodies were used as negative controls. Stimulation with 1 µg/ml of peptide pools of Staphylococcal enterotoxin B (SEB) (Sigma-Aldrich) was used as a positive control. All groups of cells were incubated for 12 h at 37°C in 5% CO₂ in the presence of 10 µg/ml Brefeldin A and 7µM Monensin (both from Thermo Fisher) (24).

After incubation, PBMCs were harvested, washed with PBS (Sigma-Aldrich), and stained with conjugated antibodies against surface molecules CD3 and CD8, and with Fixable Viability Dye eFluor™ 506 (Thermo Fisher Scientific) at 4°C for 30 min. Afterwards, the cells were fixed and permeabilized with Foxp3 Fixation/Permeabilization Buffer (Thermo Fisher Scientific). Then, the following antibodies were added: anti-IL-2, anti-granzyme B, anti-perforin, anti-IFN-γ, anti-TNF-α, and anti-IL-10, and incubated at 4°C for 30 minutes (antibody details are shown in supplementary material 2). Cells were acquired in an LSR Fortessa™ flow cytometer using the BD FACSDiva™ software v 8.0.1 (BD). At least 100,000 events of the CD3⁺ T cells were recorded. To evaluate the polyfunctional response, a Boolean gating strategy was performed to create a full array of possible expression combinations of effector molecules up to 64 response patterns from the CD8⁺ T-cell gate. The data was reported after background subtraction (subtraction of the negative control) and correction. Background correction was defined according to the number of functions. For subsets with one and two functions, a level of 0.05% was considered as the threshold for a positive response. For the subsets with three and four function responses, the threshold was defined as 0.005%. In the case of five and six function responses, the threshold was defined as 0.0005%. Subsequently, polyfunctionality was visually represented using the SPICE software v5.35 (25).

Ethics approval and consent to publication

All the necessary ethical considerations were observed. The study was approved by the ethics committee at *Universidad de Antioquia*. All research protocols adjusted to the principles of the Declaration of Helsinki. The donors gave their written informed consent for the obtention of the clinical information to be published.

Results

Cluster description

The mild COVID19 case corresponded to a 59-year-old man residing in Medellín (JM). He had comorbidities such as hypertension, diabetes mellitus, and hypercholesterolemia, all of which were treated and controlled at the time of infection. He had traveled to southwest Europe (Portugal and Spain) with his family (including his two sons, A and JC, 24 and 35 years old, respectively) and returned to Colombia on March 12, 2020. Four days later, JM showed the first symptoms including headache, high dorsal pain, sore pharynx, mild coughing, and fever (38.2°C). In the following days, JM developed drowsiness, anorexia, and anosmia. The dorsal pain was moving downward in his back and he was treated with paracetamol.

On March 19, nasopharyngeal aspirates were taken from all family members. The RT-PCR tests were positive for JM, A, and JC. On March 25, a blood sample was drawn from JM (JM-1) and an additional nasopharyngeal aspirate was taken for viral isolation (SARS-CoV-2/human/Medellin/UdeA1/2020). On this date, the SARS-CoV-2 RNA was detected at the cycle threshold (Ct) 19 in JM's nasopharyngeal aspirate indicating a high viral load even after nine days of the onset of the symptoms.

In the following days, JM had prolonged asthenia and poorly defined discomfort in his back, but no clinical complications were observed. On March 30, the RT-PCR for SARS-CoV-2 was negative for JM, A, and JC, and on April 14 a convalescent blood sample was taken for antibody and immune testing (JM-2). By April 19, JM was fully recovered (phone follow-up) and on May 28, blood samples from all family members (JM-3, A, and JC) were taken for immune characterization. The timeline is described in figure 1.

Increased inflammatory cytokines during the acute symptomatic phase of infection

Higher mRNA levels of inflammatory cytokines IL-1 β , IL-6, IL-8, and TNF- α were observed during early symptomatic infection (JM-1) compared to healthy controls. These cytokine levels decreased in the convalescent phase (second and third sampling time) except for IL-6, whose levels increased again in the third sampling time (figure 2A-D).

Regarding the asymptomatic but infected donors (A and JC), JC had a different profile and exhibited higher mRNA expression of IL-6 and IL-8 compared to A and JM-3 at the same point of infection. Finally, the expression of IL-1 β and IL-6 in the three family members remained higher than in the healthy controls even after two months of negative SARS-CoV-2 by RT-PCR.

ELISA quantification of IL-1 β , IL-6, and IL-8 in plasma was undetectable in JM-3, A, and JC, as well as in the healthy controls, but they were detected during the acute symptomatic infection in JM (JM-1) (figure 2E-G).

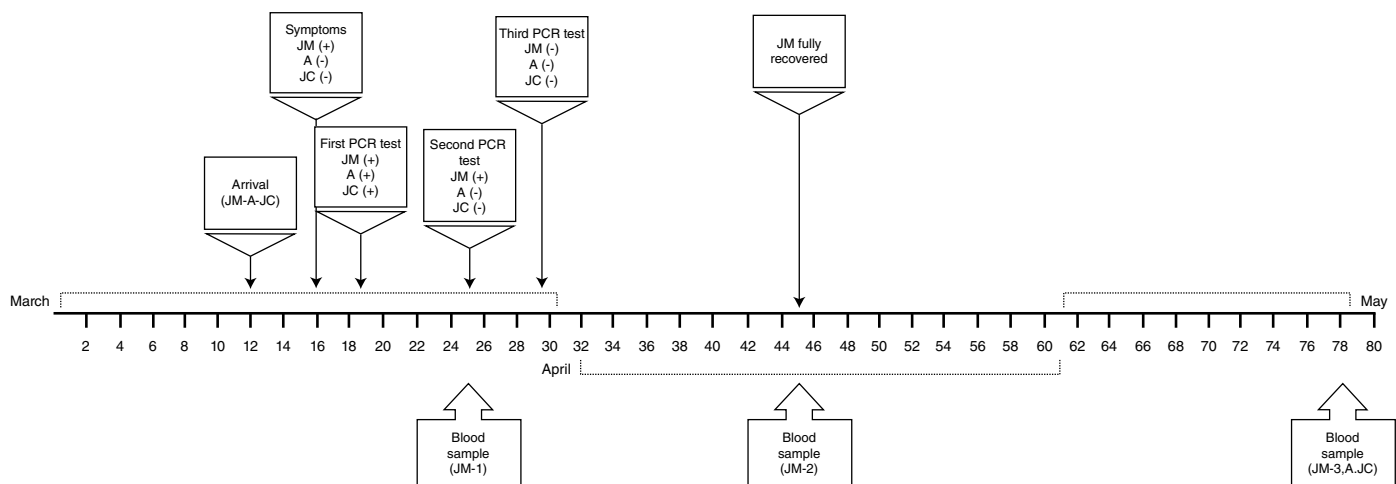


Figure 1. Timeline of clinical evolution and sampling of a family cluster with SARS-CoV-2 infection. The family, composed by JM, his wife (not infected), and his sons A and JC likely acquired the SARS-CoV-2 infection during a trip to southwest Europe, but only JM was symptomatic. The time points at which samples were taken from the family members are indicated in the figure.

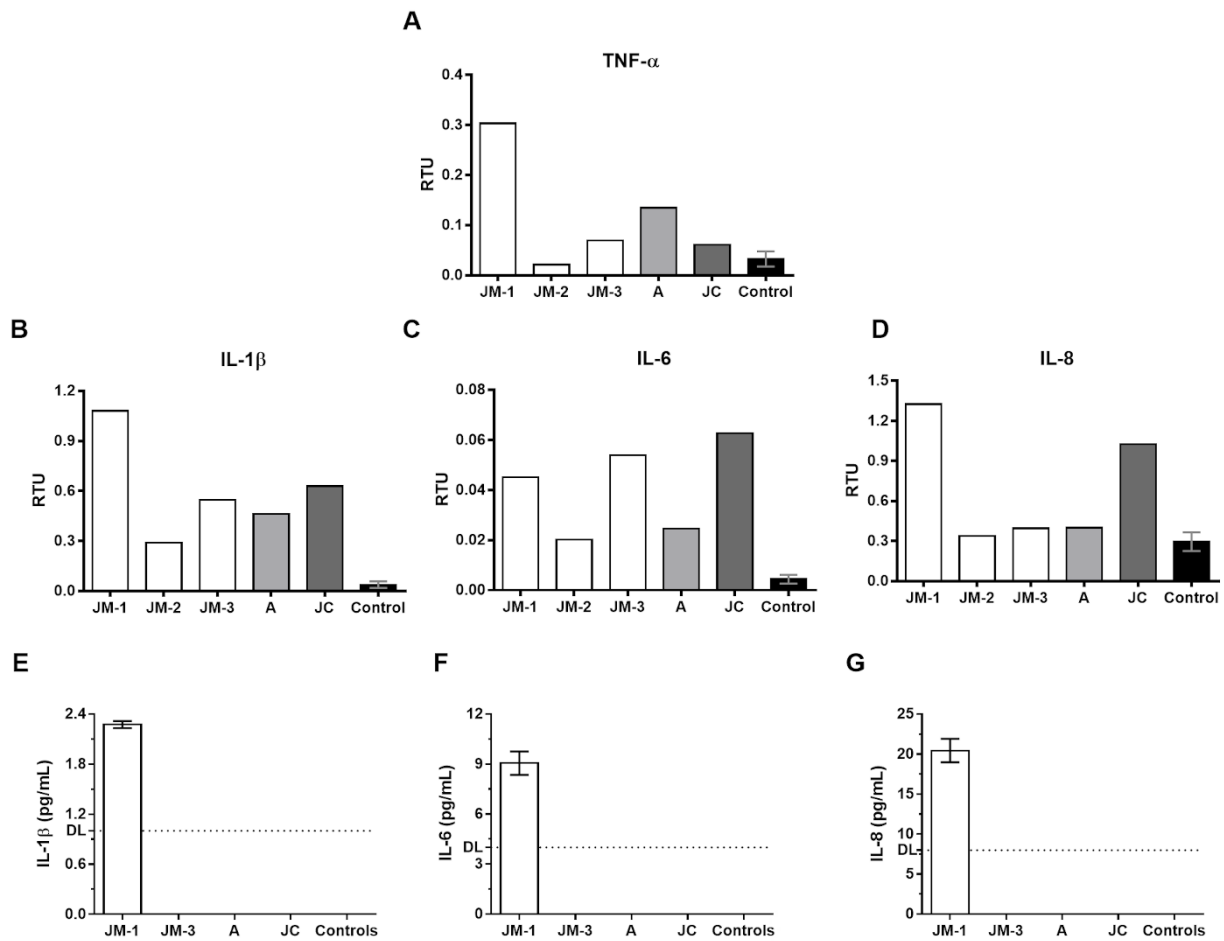


Figure 2. Proinflammatory cytokine expression. The mRNA expression of TNF- α (A), IL-1 β (B), IL-6 (C), and IL-8 (D) was evaluated by real time RT-PCR in PBMCs from the family members and healthy controls (n=3). The results are presented as relative transcripts units (RTU) normalized over the expression of the PGK reference gene. Protein levels of IL-1 β (E), IL-6 (F), and IL-8 (G) were evaluated by ELISA in plasma from the family members and healthy controls. DL: detection limit

NK cells phenotype

We evaluated the main two NK cell subpopulations, CD56^{bright} (representing the cytokine-producer subset, mainly IFN- γ), and CD56^{dim} (cytotoxic cells), as well as terminally differentiated NK cells identified by the expression of the maturation marker CD57. Adaptive NK cells, which are terminally differentiated memory-like NK cells with high expression of activating receptor NKG2C, were also included in the analysis. The percentage of CD56^{bright} NK cells increased over time in JM (figure 3A). The frequency of the other NK cell subsets in JM's samples did not differ considerably in any of the points in time (figure 3B-D). When the other family members were analyzed, a lower frequency of CD56^{bright} NK cells was observed in JC compared to JM-3 and A (figure 3A). Interestingly, the percentage of CD56^{dim}, CD57⁺, and NKG2C⁺ adaptive NK cells was lower in A and JC compared to JM at all evaluated times (figure 3D).

Decreased NK activity during the symptomatic SARS-CoV-2 infection

The cytotoxic capacity was evaluated by co-cultures of the K562 cell line with PBMCs from each donor. A representative scheme of the cytotoxicity assessment is shown in figure 3E. Compared with the controls, decreased

cytotoxic NK cells activity was observed in JM, with the lowest activity occurring during the symptomatic acute infection (JM-1) (figure 3F). Although NK cell activity seemed to increase in the convalescent phase (JM-2), it remained lower than the age- and sex-paired control (figure 3F). No differences were observed in asymptomatic subjects (A and JC) compared to their age- and sex-paired healthy controls.

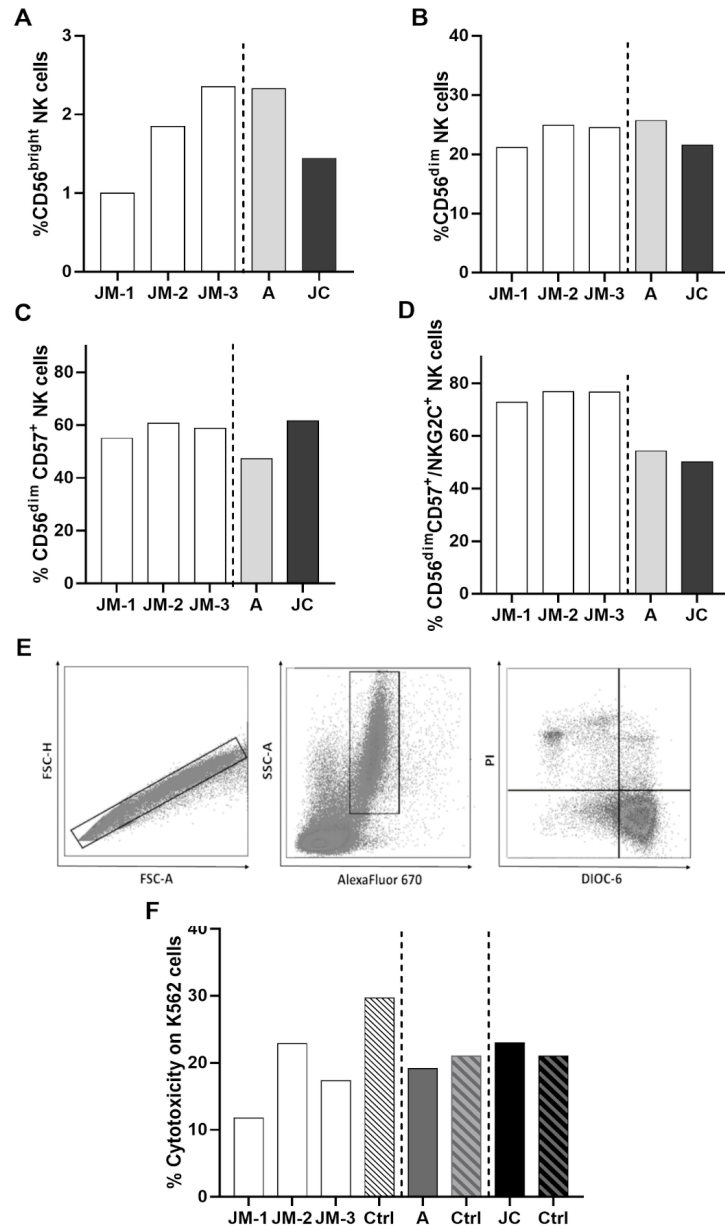


Figure 3. NK cell phenotype and cytotoxicity. Percentage of cytokine-producer CD56^{bright} (A), cytotoxic CD56^{dim} (B), mature CD56^{dim} CD57⁺(C), and adaptive CD56^{dim} CD57⁺ NKG2C⁺ (D) NK cells subsets in JM, A, and JC. JM-1, JM-2, JM-3 correspond to three different JM sampling times (see figure 1 for details on sampling times). The cytotoxicity was expressed as the percentage of K562 DIOC-6- PI⁺ cells: (E) Representative gate of target cells (K562) selected by eFluor670 expression. (F) Percentage of cytotoxicity for each subject compared with the respective age- and sex-paired control

Anti-SARS-CoV-2 antibodies

Indirect immunofluorescence. Specific antibodies against SARS-CoV-2 were detected in family members' sera by IFA with serum dilutions ranging from 1:5 to 1:80. JM showed titers of specific anti-SARS-CoV-2 antibodies of 1:5 at the first sample time and increased to 1:20 at the third sample time. A and JC's titers were 1:5 and 1:10, respectively.

Neutralizing antibodies. Once the specific anti-SARS-CoV-2 antibodies were detected in the family cluster sera, the titers of the neutralizing antibodies were established by PRNT50 at 1:20, 1:200, and 1:2000 serum dilutions on VeroE6 cells.

The second sample from JM (JM-2) showed a plaque reduction of 51.3% at 1:200 dilution while his third sample (JM-3) showed a slight decrease in the titer (40.4% at 1:200 dilution). A's titer was close to 1:200 (46.6% plaque reduction) while JC's was <1:20 (48.3% plaque reduction) (supplementary material 4).

T cells activation phenotype

The percentage of CD4⁺ and CD8⁺ T cells expressing HLA-DR, CD38, and CD69 activation markers, as well as the Ki-67 proliferation marker, was measured on PBMCs obtained from all family members.

We found a slight increase in the percentages of CD38⁺ HLA-DR⁻ CD4⁺ T cells in A (64.6%) and JC (56.4%) compared to JM-3 (42.3%) (figure 4A). In contrast, CD69⁺ CD4⁺ T cell frequency was similar for JM-3 (14.5%), A (15%), and JC (16%), but such percentages were higher compared to those observed in healthy controls (media ± SD; 7.6 ± 2.6%) (figure 4A).

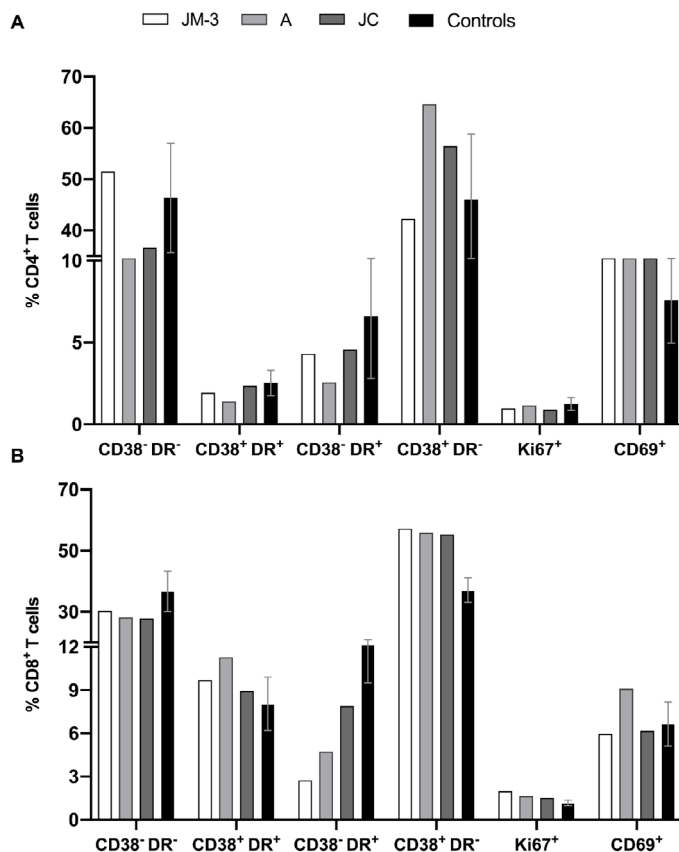


Figure 4. Activation phenotype of T cells. We explored the co-expression of CD38 and HLA-DR, as well as the percentages of the proliferation marker Ki-67 and the activation marker CD69 in CD4⁺ (A) and CD8⁺ (B) cells from the family members in the convalescent phase and healthy controls (n=3).

On the other hand, similar percentages of CD38⁺ HLA-DR⁻ CD8⁺ T cells were found for JM-3 (57.2%), A (55.9%), and JC (55.3%), which were higher compared to those observed in healthy controls (37.1 ± 4.0%) (figure 4B). On the contrary, the percentage of CD38⁻ HLA-DR⁺ CD8⁺ T cells was lower in family members during the recovery phase compared to healthy controls (15.2 ± 5.7%), and much lower in JM-3 (2.8%) compared to A (4.7%) and JC (7.9%) (figure 4B).

Regarding the Ki-67 proliferation marker, no differences were observed in CD4⁺ T cells nor CD8⁺ T cells between family members and healthy controls.

Frequency and functional profile of antigen-specific SARS-CoV-2 CD8⁺ T cells

The functional profile of antigen-specific SARS-CoV-2 CD8⁺ T cells was established through the evaluation of cytokine and cytotoxic molecule expression in response to spike and RdRp peptide pools (supplementary material 3). SARS-CoV-2 specific cytokine-producing CD8⁺ T cells in response to both peptide pools were observed mainly at the first follow-up point in time for JM when he was still symptomatic; lower or undetectable frequencies were observed at days 30 (JM-2) and 73 (JM-3) after the onset of the symptoms, as well as in asymptomatic individuals (A and JC) 73 days after diagnosis (figure 5A-D). While SARS-CoV-2 specific IL-10-producing CD8⁺ T cells were more frequent in JC than A and JM-3, A had a higher percentage of SARS-CoV-2 specific IFN- γ - and TNF- α -producing CD8⁺ T cells compared to A and JM-3, mainly in response to spike peptides (figure 5A-D).

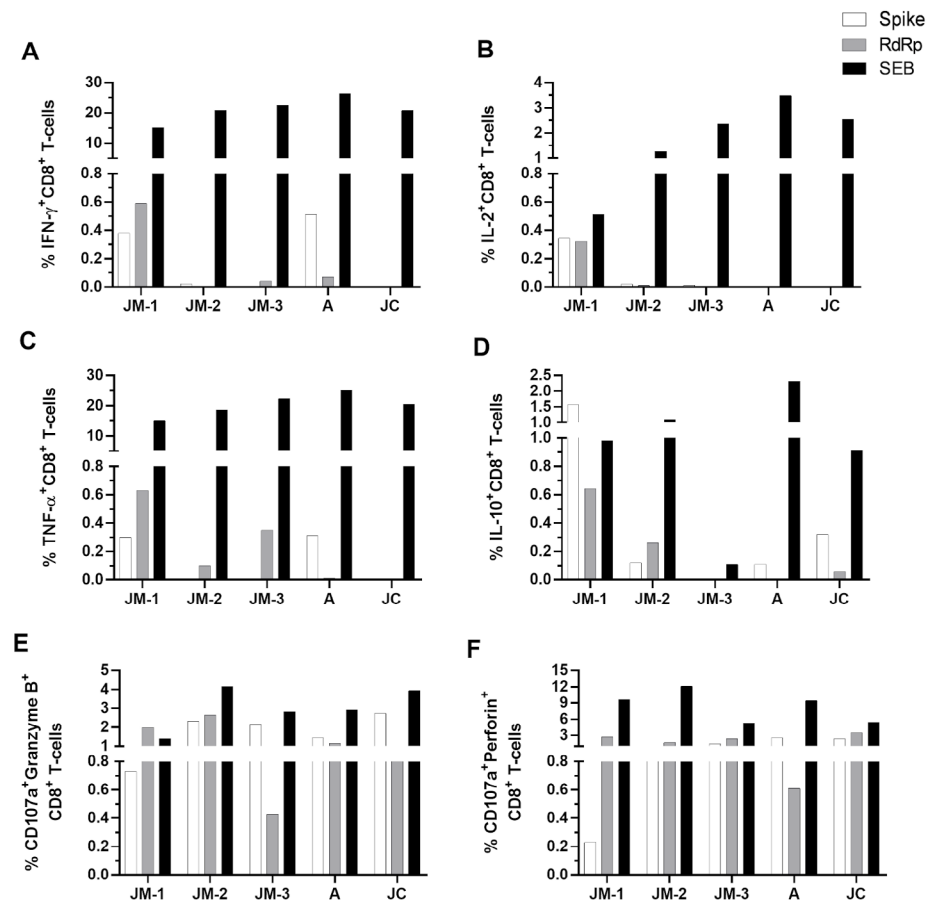


Figure 5. CD8⁺ T cell response to SARS-CoV-2 peptide pools. Frequency of CD8⁺ T cells positive for cytokines IFN- γ (A), IL-2 (B), TNF- α (C), and IL-10 (D), as well as degranulation marker CD107a along with granzyme B (E) and perforin (F). Each bar represents the CD8⁺ T cell response in an individual in response to spike (white bars), RdRp (gray bars) peptide pools or SEB (black bars) after subtraction of the negative control.

Regarding the capacity of CD8⁺T cells to produce *de novo* granzyme B and perforin (evaluated by the coexpression of CD107a with each cytotoxic molecule) in response to both peptide pools, CD107a⁺granzymeB⁺ and perforin⁺ CD8⁺T cells were detectable up to 73 days after the onset of symptoms with their highest at day 30 (figure 5E, F). Both asymptomatic individuals (A and JC) developed a cytotoxic response which remained for up to 73 days after diagnosis (figure 5E-F), but no differences were observed among the family members.

Additionally, we evaluated the quality of SARS-CoV-2-CD8⁺T cell response considering that the polyfunctionality of CD8⁺T cells has been associated with better control of viral infection. During JM's follow up, the response against spike peptides changed from a predominant monofunctional response, at the expense mainly of IL-10 (JM-1), to a higher proportion of bifunctional cells where CD107a⁺granzymeB⁺ and CD107a⁺perforin⁺ profile was dominant (JM-2 and JM-3) (figure 6A, B and C).

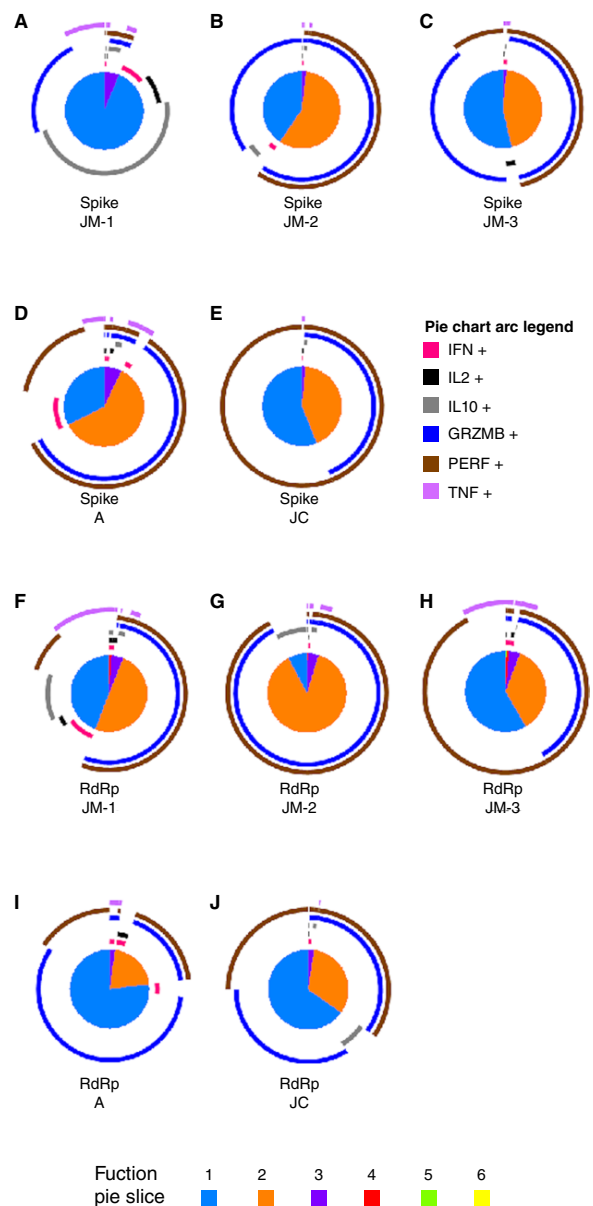


Figure 6. Polyfunctional CD8⁺T cell response to SARS-CoV-2 spike and RdRp peptides. Pie charts represent the polyfunctional profile of CD8⁺T cells in response to the spike in JM's follow-up (A-C), and asymptomatic A (D), and JC (E), as well as the polyfunctional profile of CD8⁺T cells in response to RdRp in JM's follow-up (F-H) and asymptomatic A (I) and JC (J). Arcs depict molecule make-up within the pie slice. The combination of functions evaluated is indicated by pie chart colors.

With regard to the response to spike peptides in asymptomatic individuals about 73 days post-diagnosis, A exhibited a major proportion of the predominant pattern of bifunctional responses dominated by CD107a⁺granzymeB⁺ and CD107a⁺perforin⁺ CD8⁺ T cells compared to JM-3 and JC. However, the monofunctional response in asymptomatic individuals consisted of perforin whereas in JM-3 it was mainly granzyme B (figure 6C-E).

Concerning RdRp peptides, we observed a high proportion of cells exhibiting two functions with cytotoxic profile followed by the monofunctional responses at the expense of all the cytokines evaluated when the individual was symptomatic (JM-1) (figure 6F). However, after 30 days of follow up, the highest proportion of two functions had a cytotoxic profile (figure 6G) whereas at day 73, monofunctional responses predominated but still at the expense of perforin (figure 6H). Besides, donor A exhibited a major proportion of CD8⁺ T cells with monofunctional responses compared to JM-3 and JC (figures 6H-J). Again, the bifunctional profile was dominated by a cytotoxic profile in both asymptomatic individuals (figures 6I-J).

Altogether, these results suggest an association between the development of the cytotoxic capacity of antigen-specific SARS-CoV-2-CD8⁺ T cells and mild disease or even asymptomatic infection.

Discussion

COVID-19 infection has been characterized for highly variable disease manifestations (26,27) and immune response elicited (28,29). Here, we evaluated the immunological profile of a family cluster including a mild COVID-19 case (JM) and two asymptomatic infections (A and JC). Interestingly, a more robust immune response characterized by higher IFN- γ -producer CD56^{bright} NK cells, higher neutralizing antibodies titer, and higher percentage of SARS-CoV-2 specific IFN- γ - and TNF- α -producing CD8⁺ T cells were observed in donor A compared to JC, both with common genetic and demographic characteristics, infected around the same time, and most likely with the same viral strain. It is important to point out that A was 11 years younger than JC, although both are considered young adults, and this difference should not account for the observed results.

Despite neutralizing antibodies have been correlated with protection against SARS-CoV-2 infection (30,31), these are not strictly required to clear the SARS-CoV-2 infection as observed in the asymptomatic neutralizing-negative subject JC, and as previously suggested for young people (aged 16-30) (32). Similarly, donor A showed low neutralizing antibody levels, which raises the following question: What is the protection factor in individuals without significant humoral responses? The symptomatic donor JM had a reduction in neutralizing antibody titers in the convalescent period, as previously reported (33).

Inflammation is a hallmark of COVID19 severe cases in contrast with lower immune activation that seemingly characterizes asymptomatic cases (33). Proinflammatory cytokines measured by PCR and ELISA in JM peaked during the acute infection and decreased in the convalescent phase, at least in plasma, to levels near those found in healthy controls. These results are in line with previous reports, especially those for IL-6 and IL-8 (34,35). In contrast, a previous report did not find differences in IL-1b or TNF-a levels when comparing infected versus uninfected donors (34). Small differences were observed in the convalescent phase among JM (recovered from symptomatic infection), A, and

JC (recovered from asymptomatic infection) suggesting that proinflammatory cytokines are restored to baseline levels after the virus is cleared.

Antiviral NK cells also seem to be altered during acute SARS-CoV-2 infection since the frequency of IFN- γ -producer CD56^{bright} NK cells and cytotoxic activity against K562 cells was lower during this phase in JM-1 compared to JM-2, and JM-3 (30 and 73 days after symptoms onset, respectively), and to A and JC in the convalescent phase.

No changes in the adaptive NKG2C⁺ NK cells frequency as shown by effectively mediated antibody-dependent effector functions and cytokine production (10,11) in the hematopoietic stem cell transplantation setting, the presence of donor activating KIRs (aKIRs) were observed during JM's follow-up. We want to highlight that the frequency of this cell subpopulation was higher in JM, an older subject, compared to donors A and JC. Indeed, the frequency of this NK cells subset has been reported to increase with age (36).

In contrast to cytokines and NK cells, the frequency of activated CD69⁺ CD4⁺ and CD38⁺ CD8⁺ T cells remained higher in the convalescent phase, regardless of infection symptomatic or asymptomatic nature, compared to healthy controls. This aspect would relate to persistent hyperactivation of the T cell profile despite viral clearance or due to a SARS-CoV-2 specific response (37). Indeed, whereas cytokine-producing CD8⁺ T cells were mainly observed during the symptomatic acute infection in JM, and lower or absent during the convalescent phase in JM, A, and JC, CD107a⁺ granzymeB⁺ and perforin⁺ CD8⁺ T cells remained detectable up to 73 days after diagnosis in all family members. These results are similar to a previous report showing lower cytokine expression on CD8⁺ T cells in the mild disease compared with severe cases, although the activation markers remained highly expressed suggesting a lack of T cell response contraction (37).

During JM's follow-up, we observed a higher frequency of SARS-CoV-2-specific-CD8⁺T cells evaluated through the production of cytokines, which declined after the resolution of the infection as previously described in a preprint (38). Importantly, we observed that spike-CD8⁺T cells in JM produced lower amounts of granzyme and perforin during the acute phase of the infection in comparison to the following time points, which suggests a reduced cytotoxic capacity of specific-CD8⁺ T cells in COVID-19 patients consistent with previous reports (38,39).

We also evaluated the polyfunctionality of CD8⁺ T cells, a correlate of immune protection, including not only the production of cytokines, as in other reports, but also the production of cytotoxic molecules. The polyfunctionality of SARS-CoV-2-specific-CD8⁺ T cells in JM during the acute phase of the infection was mainly monofunctional as has been suggested for symptomatic patients (38). However, after 30 days of the onset of the symptoms, we observed an increase in the frequency of bifunctional cells (secreting granzyme B and perforin), which declined after 73 days of symptoms onset. In this sense, one study showed a decrease in the functional diversity of T cells in patients compared with healthy controls (40). However, other authors have reported polyfunctionality, particularly by CD4⁺ T cells expressing TNF- α , IL-2, and IL-17 (41).

The frequency of specific-CD8⁺ T cells capable of producing cytotoxic molecules in asymptomatic individuals was similar to that observed in JM during the convalescent phase. Indeed, the polyfunctional response of asymptomatic individuals was mainly mono- and bifunctional with prevalent production of

cytotoxic molecules. This suggests that the cytotoxic capacity of spike-specific-CD8⁺ T cells may be correlated to protection in SARS-CoV-2 infection.

Our results suggest a strong inflammatory response during mild COVID-19 disease with a reduction of CD56^{bright} NK cells subset during the symptomatic phase and lower cytotoxic response of these cells. Compared with the asymptomatic infection and uninfected individuals, we observed a higher frequency of dysfunctional CD38⁺ HLA-DR⁻ CD8⁺ T cells subpopulation during the symptomatic phase. Additionally, CD8⁺ T cells had a predominant monofunctional response with high IL-10 production in mild COVID-19 but a bifunctional response dominated by CD107a⁺granzymeB⁺ and CD107a⁺perforin⁺ CD8⁺ T cells in asymptomatic infection suggesting an important role of spike-specific-CD8⁺ T cells. However, our study had a limited sample size and few SARS-CoV-2 peptides were analyzed, so additional studies comparing immune profiles in individuals with different progression patterns could provide information to develop immunotherapy strategies.

Availability of data and material

All the data generated or analysed during this study are included in this published article and its supplementary information files.

Acknowledgements

To the donors.

References

- Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, *et al.* Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med.* 2020;382:1199-207. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001316>
- Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020;92:418-23. <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>
- Ortiz ME, Thurman A, Pezzulo AA, Leiding MR, Klesney-Tait JA, Karp PH, *et al.* Heterogeneous expression of the SARS-Coronavirus-2 receptor ACE2 in the human respiratory tract. *EBioMedicine.* 2020;60:102976. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102976>
- Chu H, Chan JFW, Wang Y, Yuen TT, Chai Y, Hou Y, *et al.* Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: An *ex vivo* study with implications for the pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis.* 2020;71:1400-9. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa410>
- Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395:497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
- Yuan X, Tong X, Wang Y, Wang H, Wang L, Xu X. Coagulopathy in elderly patients with coronavirus disease 2019. *AGING Med.* 2020;3:260-5. <https://doi.org/10.1002/agm2.12133>
- Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, Tomasi A, Ozben T. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2020;57:1-11. <https://doi.org/10.1080/10408363.2020.1770685>
- Taborda NA, Hernández JC, Montoya CJ, Rugeles MT. Natural killer cells and their role in the immune response during human immunodeficiency virus type-1 infection. *Inmunologia.* 2014;33:11-20. <https://doi.org/10.1016/j.inmuno.2013.11.002>
- Alrubayyi A. NK cells in COVID-19: Protectors or opponents? *Nat Rev Immunol.* 2020;20:520. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0408-0>
- Della Chiesa M, Sivori S, Carlomagno S, Moretta L, Moretta A. Activating KIRs and NKG2C in viral infections: Toward NK cell memory? *Front Immunol.* 2015;6:1-8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00573>

11. Schlums H, Cichocki F, Tesi B, Theorell J, Beziat V, Holmes TD, *et al.* Cytomegalovirus infection drives adaptive epigenetic diversification of NK cells with altered signaling and effector function. *Immunity*. 2015;42:443-56. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.02.008>
12. Flórez-Álvarez L, Blanquiceth Y, Contreras K, Ossa-Giraldo AC, Velilla PA, Hernández JC, *et al.* NK cell activity and CD57⁺/NKG2C^{high} phenotype are increased in men who have sex with men at high risk for HIV. *Front Immunol*. 2020;11:1-14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.537044>
13. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, *et al.* Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. 2020;17:533-5. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0402-2>
14. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, *et al.* Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9:940-8. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1762515>
15. Wang Y, Zhang L, Sang L, Ye F, Ruan S, Zhong B, *et al.* Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *J Clin Invest*. 2020;130:5235-44. <https://doi.org/10.1172/JCI138759>
16. Huang I, Pranata R. Lymphopenia in severe coronavirus disease-2019 (COVID-19): Systematic review and meta-analysis. *J Intensive Care*. 2020;8:1-10. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-00453-4>
17. Centers for Disease Control and Prevention-CDC. Real-time RT-PCR Primers and Probes for COVID-19. Accessed on: April 2, 2020. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/rt-pcr-panel-primer-probes.html>
18. Feria MG, Taborda NA, Hernández JC, Rugeles MT. HIV replication is associated to inflammasomes activation, IL-1 β , IL-18 and caspase-1 expression in GALT and peripheral blood. *PLoS ONE*. 2018;13:e0192845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192845>
19. Flórez-Álvarez L, Blanquiceth Y, Ramírez K, Ossa-Giraldo AC, Velilla PA, Hernández JC, *et al.* NK cell activity and CD57⁺/NKG2C^{high} phenotype are increased in men who have sex with men at high risk for HIV. *Front Immunol*. 2020;11:1-14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.537044>
20. Díaz FJ, Aguilar-Jiménez W, Flórez-Álvarez L, Valencia G, Laiton-Donato K, Franco-Muñoz C, *et al.* Aislamiento y caracterización de una cepa temprana de SARS-CoV-2 durante la epidemia de 2020 en Medellín, Colombia. *Biomédica*. 2020;40(Supl.2):148-58. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5834>
21. Cai Y, Zhang J, Xiao T, Peng H, Sterling SM, Walsh RM, *et al.* Distinct conformational states of SARS-CoV-2 spike protein. *Science*. 2020;369:1586-92. <https://doi.org/10.1126/science.abd4251>
22. Gao Y, Yan L, Huang Y, Liu F, Zhao Y, Cao L, *et al.* Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus. *Science*. 2020;368:779-82. <https://doi.org/10.1126/science.abb7498>
23. Luna OF, Gómez J, Cárdenas C, Albericio F, Marshall SH, Guzmán F. Deprotection reagents in Fmoc solid phase peptide synthesis: Moving away from piperidine? *Molecules*. 2016;21:1-12. <https://doi.org/10.3390/molecules21111542>
24. Perdomo-Celis F, Velilla PA, Taborda NA, Rugeles MT. An altered cytotoxic program of CD8 + T-cells in HIV-infected patients despite HAART-induced viral suppression. *PLoS ONE*. 2019;14:1-24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210540>
25. Roederer M, Nozzi JL, Nason MC. SPICE: Exploration and analysis of post-cytometric complex multivariate datasets. *Cytom Part A*. 2011;79:167-74. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.21015>
26. Shi Y, Wang G, Cai X, Deng J, Zheng L, Zhu H, *et al.* An overview of COVID-19. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2020;21:343-60. <https://doi.org/10.1631/jzus.B2000083>
27. Ge H, Wang X, Yuan X, Xiao G, Wang C, Deng T, *et al.* The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39:1011-9. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-03874-z>
28. García LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol*. 2020;11:4-8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01441>

29. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, Sokolowska M, van de Veen W, Brügggen MC, *et al.* Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy Eur J Allergy Clin Immunol.* 2020;75:1564-81. <https://doi.org/10.1111/all.14364>
30. Ni L, Ye F, Cheng ML, Feng Y, Deng YQ, Zhao H, *et al.* Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity.* 2020;52:971-7.e3. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.023>
31. Duan K, Liu B, Li C, Zhang H, Yu T, Qu J, *et al.* Effectiveness of convalescent plasma therapy in severe COVID-19 patients. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117:9490-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004168117>
32. Wang X, Guo X, Xin Q, Pan Y, Hu Y, Li J, *et al.* Neutralizing antibody responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in coronavirus disease 2019 in patients and convalescent patients. *Clin Infect Dis.* 2020;71:2688-94. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa721>
33. Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan J, *et al.* Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med.* 2020;26:1200-4. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
34. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, *et al.* Dysregulation of immune response in patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020;71:762-8. <https://doi:10.1093/cid/ciaa248>
35. Han H, Ma Q, Li C, Liu R, Zhao L, Wang W, *et al.* Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9:1123-30. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129>
36. Le Garff-Tavernier M, Béziat V, Decocq J, Siguret V, Gandjbakhch F, Pautas E, *et al.* Human NK cells display major phenotypic and functional changes over the life span. *Aging Cell.* 2010;9:527-35. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2010.00584.x>
37. Kang CK, Han GC, Kim M, Kim G, Shin HM, Song KH, *et al.* Aberrant hyperactivation of cytotoxic T-cell as a potential determinant of COVID-19 severity. *Int J Infect Dis.* 2020;97:313-21. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.05.106>
38. Payen D, Cravat M, Maadadi H, Didelot C, Prosic L, Dupuis C, *et al.* A longitudinal study of immune cells in severe COVID-19 patients. *Front Immunol.* 2020;11:580250. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.580250>
39. Mazzoni A, Salvati L, Maggi L, Capone M, Vanni A, Spinicci M, *et al.* Impaired immune cell cytotoxicity in severe COVID-19 is IL-6 dependent. *J Clin Invest.* 2020;130:4694-703. <https://doi:10.1172/jci138554>
40. Zheng HY, Zhang M, Yang CX, Zhang N, Wang XC, Yang XP, *et al.* Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol.* 2020;17:541-3. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-0401-3>
41. De Biasi S, Meschiari M, Gibellini L, Bellinazzi C, Borella R, Fidanza L, *et al.* Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia. *Nat Commun.* 2020;11:1-17. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17292-4>

Artículo original

Frecuencia de anticuerpos y seroconversión frente a *Rickettsia* spp. en pacientes atendidos en instituciones de salud del departamento de Caldas, Colombia, 2016-2019

Jorge Enrique Pérez¹, Gloria Inés Estrada², Yuliana Zapata², Marilyn Hidalgo³, Cristian Camilo Serna⁴, Diego Camilo Castro⁵, Cristian González⁶

¹ Grupo de Investigación Biosalud, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

² Facultad de Ciencias para la Salud, Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia

³ Grupo de Enfermedades Infecciosas, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia

⁴ Grupo de Investigación Gebiome, Programa de Biología, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

⁵ Departamento de Ciencias Básicas, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia

⁶ Sección de Admisiones, Clínica Versalles, Manizales, Colombia

Introducción. Las rickettsiosis son enfermedades zoonóticas transmitidas por artrópodos que cumplen el papel de vectores y reservorios, y cuyos síntomas son inespecíficos, por lo que su diagnóstico clínico es difícil. La inmunofluorescencia indirecta (IFI) es el método de referencia para el diagnóstico. En Colombia, ha resurgido el interés por su estudio por los casos de rickettsiosis detectados en el norte del departamento de Caldas a partir del 2001. **Objetivo.** Establecer la frecuencia de anticuerpos y la seroconversión contra *Rickettsia* spp. en pacientes atendidos en instituciones de salud del departamento de Caldas, Colombia, entre 2016 y 2019.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio de diseño cuantitativo, observacional y descriptivo, con una muestra no probabilística de 175 pacientes atendidos en diferentes municipios de Caldas, a quienes se les realizó IFI para la detección de anticuerpos en fase aguda y convaleciente contra *Rickettsia rickettsii*, *R. typhi* y *R. felis*.

Resultados. El promedio de edad de los pacientes fue de 31 años. Los municipios con mayor proporción de seropositivos fueron Belalcázar, Chinchiná, Filadelfia, La Dorada, La Merced y Manizales. El 66 % tenía mascotas y el 12 % reportó picaduras por artrópodos. Los signos y síntomas más frecuentes fueron cefalea (69,7 %), artromialgia (60 %), y fiebre (58,2 %). La seroprevalencia por IgG fue de 60 % para *R. rickettsii*, 47,9 % para *R. typhi* y 24 % para *R. felis*. Ocho pacientes presentaron seroconversión.

Conclusión. Se encontró evidencia de la circulación de rickettsias del grupo de las fiebres manchadas y del grupo del tifus asociada con casos humanos en el departamento de Caldas.

Palabras clave: *Rickettsia*; *Rickettsia rickettsii*; *Rickettsia typhi*; *Rickettsia felis*; infecciones por *Rickettsia*/diagnóstico; epidemiología; factores de riesgo.

Frequency of antibodies and seroconversion against *Rickettsia* spp in patients consulting health institutions in the department of Caldas, Colombia, 2016-2019

Introduction: Rickettsioses are zoonotic diseases transmitted by arthropods acting as vectors and reservoirs. Disease symptoms are nonspecific and, therefore, their clinical diagnosis is difficult. Indirect immunofluorescence (IFA) is the gold standard assay for diagnosis. The interest for conducting studies on these pathologies has resurfaced in Colombia since 2001; besides, previous studies have evidenced cases of rickettsiosis in the north of the department of Caldas.

Objective: To establish the frequency of antibodies and seroconversion against *Rickettsia* spp. In patients consulting health institutions in Caldas, Colombia, from 2016 to 2019.

Materials and methods: We conducted a quantitative, observational, and descriptive study on a non-probabilistic sample of 175 patients with symptoms compatible with rickettsiosis who consulted in different municipalities of Caldas, Colombia; IFA was performed to detect antibodies in the acute and convalescent phases against *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, and *Rickettsia felis*.

Results: The average age of the patients was 31 years. The municipalities with the highest proportion of seropositive cases were Belalcázar, Chinchiná, Filadelfia, La Dorada, La Merced, and Manizales; 66% of patients owned pets and 12% reported arthropod bites. The most frequent signs and symptoms were headache (69.7%), arthromyalgia (60%), and fever (58.2%). IgG seroprevalence was 60% for *R. rickettsii*, 47.9% for *R. typhi*, and, and 24% for *R. felis*. Eight patients presented seroconversion.

Recibido: 20/11/2020

Aceptado: 17/06/2021

Publicado: 21/06/2021

Citación:

Pérez JE, Estrada GI, Zapata Y, Hidalgo M, Serna CC, Castro DC, González C. Frecuencia de anticuerpos y seroconversión frente a *Rickettsia* spp. en pacientes atendidos en instituciones de salud del departamento de Caldas, Colombia, 2016-2019. Biomédica. 41 (Supl.2):103-17. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5712>

Correspondencia:

Jorge Enrique Pérez, Carrera 4 N° 16-140, Condominio El Portal casa 7, Chinchiná, Caldas, Colombia
Teléfono: (576) 878 1500, extensión 12223
labmicro@ucaldas.edu.co

Contribución de los autores:

Jorge Enrique Pérez: coordinación del proyecto y consecución de muestras
Gloria Inés Estrada y Yuliana Zapata: consecución de muestras
Marilyn Hidalgo: diseño del estudio
Cristian Camilo Serna: pruebas de inmunofluorescencia indirecta
Diego Camilo Castro y Cristian González: consecución de muestras, entrevista y seguimiento de pacientes
Todos los autores participaron en el análisis de resultados y en la escritura del manuscrito.

Financiación:

El proyecto de investigación fue financiado por el Ministerio de Ciencias y Tecnología (código del proyecto: 112765740609, contrato 684, del 2014), la Universidad de Caldas (código: 0766914), la Pontificia Universidad Javeriana y la Universidad Católica de Manizales.

Conflicto de intereses:

Los autores declaramos que no tenemos ninguna relación contractual con las marcas de los reactivos y estuches de pruebas utilizados en la presente investigación.

Conclusion: We found evidence of the circulation of *Rickettsia* species from the spotted fever group and the typhus group associated with human cases in Caldas.

Keywords: *Rickettsia*; *Rickettsia rickettsia*; *Rickettsia typhi*; *Rickettsia felis*; *Rickettsia* infections/diagnosis; epidemiology; risk factors.

Colombia se ubica en el trópico, una zona endémica para distintas enfermedades infectocontagiosas, entre ellas, las rickettsiosis (1). La Organización Mundial de la Salud (OMS) modificó en 1998 el sistema de vigilancia para enfermedades de reporte obligatorio bajo el concepto de vigilancia sindrómica, grupo en el que se encuentran las rickettsiosis (2). En la semana epidemiológica 53 de 2020, el Instituto Nacional de Salud reportó 78,979 casos de dengue, 160 casos de chikungunya y 165 casos de Zika; sin embargo, no se reportaron casos de rickettsiosis (3), lo que se explicaría por la baja sospecha de casos y la no obligatoriedad de la notificación.

Las rickettsias son bacilos Gram negativos de crecimiento intracelular obligado y multiplicación en el citoplasma de las células endoteliales (4,5). Se clasifican en cuatro grupos: el grupo de las fiebres manchadas (*R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. ambliommatys*, *R. africae* y *R. conorii*, entre otras), el grupo del tifus (*Rickettsia prowazekii* y *R. typhi*), el grupo ancestral (*R. bellii* y *R. canadensis*) y el grupo transicional (*R. felis*, *R. akari* y *R. australis*) (5). Se transmiten por vectores como ácaros, garrapatas, piojos o pulgas. El ser humano se infecta cuando es picado por un vector o por contacto de la piel o mucosas lesionadas con secreciones infectadas (6).

Aunque las rickettsias ocurren en todo el mundo, se diagnostican poco debido a la inespecificidad de sus síntomas y a que no se distinguen bien de otras enfermedades infecciosas y no infecciosas (7). Los síntomas más frecuentes son fiebre, cefalea y artromialgias (4) y, en menor medida, náuseas, emesis y dolor abdominal, así como síntomas neurológicos con una frecuencia menor al 50 % (6,7). La tríada de fiebre, cefalea y exantema, descrita como clave en el diagnóstico, es irregular y, especialmente, el exantema se presenta con menor frecuencia (4,8). Ante el subdiagnóstico, solo una aguda percepción de síntomas «similares a la influenza» puede aumentar el grado de sospecha diagnóstica, independientemente de la exposición a los vectores, ya que la infestación con garrapatas o pulgas puede ser breve e, incluso, pasar inadvertida. Sin embargo, este factor de riesgo debe tenerse en cuenta al entrevistar al paciente (9).

La inmunofluorescencia indirecta (IFI) se considera la prueba de referencia para el diagnóstico de las rickettsiosis, con una sensibilidad de 83 a 100 % y una especificidad de 99 a 100 %, aunque su utilidad se ve limitada por la amplia reacción cruzada dentro de un mismo grupo de rickettsias; además, el rendimiento diagnóstico depende del momento de la toma de las muestras (10). La IFI detecta anticuerpos contra rickettsias que pueden persistir durante años después de la infección, lo que implica que un solo título de anticuerpos no es confiable para diagnosticar la enfermedad incidente. Durante la fase aguda, los resultados pueden ser negativos, pues no se han producido los anticuerpos, y por eso se requiere una segunda muestra que debe tomarse 15 a 60 días después de la primera (11). El aumento en cuatro veces o más de los títulos de IgG en la fase de convalecencia, se considera como un dato positivo (seroconversión) (10,12).

El uso de métodos moleculares para la detección de rickettsias tiene sus limitaciones. A menos que haya un proceso clínico avanzado, la detección en sangre puede ser baja, aunque el paciente esté en la fase aguda. En estos

casos, se ha encontrado una mayor sensibilidad en la detección de ADN de rickettsia en tejidos (13,14). Los métodos diagnósticos como el cultivo no se usan con frecuencia por su grado de dificultad y la necesidad de niveles altos de bioseguridad ante el riesgo de exposición (9). Las rickettsias no se detectan en frotis sanguíneos ni se colorean con las tinciones convencionales y los resultados de laboratorio convencionales, como el hemograma, no sugieren la infección (14,15). Otros enfoques diagnósticos proponen la clasificación del paciente según el área geográfica de procedencia y la atención diferencial frente a otras enfermedades febriles (1).

El primer caso de la fiebre manchada de las Montañas Rocosas se registró en 1899 en Norteamérica y, en Suramérica, el primer país en reportar la enfermedad fue Brasil (15,16). En Colombia, esta fiebre fue inicialmente descrita por el doctor Luis Patiño Camargo en pacientes con un cuadro febril exantemático grave que se denominó “la fiebre de Tobia” por el nombre del corregimiento del municipio de Nimaima (Cundinamarca) donde se presentó el brote (17).

Después de un silencio epidemiológico de aproximadamente 70 años, en el 2001 en la zona rural de Ciénaga de Oro (Córdoba), se encontró una seroprevalencia del 49 % frente a rickettsias del grupo de las fiebres manchadas en los sujetos analizados y, posteriormente, en el 2005 en Villeta (Cundinamarca), se reportó una seroprevalencia del 40,3 % en personas sanas frente este mismo grupo de rickettsias (18,19). En las últimas dos décadas, se han informado varios brotes de *R. rickettsii* en Tobia en el 2003 y en Villeta en el 2004 (20); en Necoclí y Turbo (Antioquia) en el 2006 y el 2008, respectivamente (21,22); en Los Córdoba (Córdoba) en el 2007 (23) y en Uramita (Antioquia) en el 2014 (24). Aún persisten muchas incógnitas sobre la presencia o circulación de estos patógenos en el territorio colombiano y sobre sus respectivos vectores.

La región norte del departamento de Caldas es una zona endémica para el tifus (*R. typhi*) según los reportes del sistema de vigilancia epidemiológica del Instituto Nacional de Salud. En el 2010, este departamento reportó el mayor número de casos (25) y, en el 2005, un estudio con métodos serológicos demostró la presencia de tifus endémico en la región, con un 29 % en la población pediátrica y 9 % en la población adulta bajo evaluación (26). Entre el 2010 y el 2011, se hicieron otros dos estudios. En el primero, mediante pruebas moleculares (PCR) para la detección de rickettsias en pulgas de animales, se encontró que el 41 % de las muestras era positivo para tres genes de rickettsias (*gltA*, *ompB* y *17kD*), identificándose en la gran mayoría de ellas la especie *R. felis*, con lo que se confirmó la endemidad de esta *Rickettsia* en el departamento (27).

En el segundo estudio, se determinó la frecuencia serológica de exposición a *Rickettsia* spp. asociada con pulgas mediante IFI, y se encontró que el 17,8 % de la muestra obtenida tenía IgG contra *R. felis*, el 25,2 %, IgG contra *R. typhi* y el 28,7 % presentaba reactividad frente a las dos rickettsias (28). De 26 pacientes en quienes se logró obtener la muestra de suero en fase aguda y convaleciente, dos presentaban seroconversión frente a *R. typhi*, uno frente a *R. felis*, uno tenía reactividad frente a estas dos rickettsias y cinco frente a *R. rickettsii*, con lo que se estableció que dichos pacientes presentaban una rickettsiosis activa (28).

En un estudio reciente en pulgas obtenidas entre el 2015 y el 2017 de perros, gatos, marsupiales y roedores en 23 municipios de Caldas, se encontró que, de 911 conjuntos de pulgas recolectadas, el 89,8 % era

positivo para el gen *gltA*, 46,5 % para el gen *Sca5* y 96,9 % para el gen *htrA* de rickettsias. Mediante análisis de polimorfismos de los fragmentos de restricción y de secuenciación, se encontraron patrones moleculares asociados con *R. felis* y *R. asembonensis* (29).

En este contexto, el objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de anticuerpos y de seroconversión frente a diferentes especies de rickettsias del grupo de las fiebres manchadas, del grupo del tifus y del grupo transicional en pacientes que ingresaron a los servicios de urgencias de diferentes instituciones prestadoras de servicios de salud del departamento de Caldas, entre enero de 2016 y diciembre de 2019.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio cuantitativo, observacional y descriptivo de corte longitudinal, con una muestra constituida por 175 pacientes que consultaron al servicio de urgencias en instituciones de Caldas en el periodo comprendido entre enero del 2016 y diciembre del 2019 por síntomas inespecíficos, y cuyas manifestaciones no fueron explicadas por otra causa.

Con base en los criterios de inclusión, se seleccionaron aquellos pacientes de zona urbana o rural, de cualquier edad, cuyo sitio de procedencia fuera el departamento de Caldas y que hubieran consultado por presentar uno o varios de los siguientes síntomas: fiebre, cefalea, artromialgia, dolor abdominal, náuseas, emesis, diarrea, tos o erupción cutánea. Se excluyeron aquellos que, aun presentando la sintomatología, tenían o podían tener una mayor probabilidad de otro tipo de diagnóstico. El registro de los datos estuvo a cargo del médico de la atención inicial en un cuestionario diseñado para tal fin.

Se utilizaron 40 variables divididas en siete subgrupos (cuadro 1 suplementario), con el fin de orientar los resultados hacia el cumplimiento de los objetivos. Se tuvieron en cuenta las variables sociodemográficas, las características de la casa, la presencia de mascotas (perros, gatos, otros), el contacto con animales domésticos como bovinos y equinos, la presencia de ratones y zarigüeyas, la frecuencia de picaduras por pulgas y garrapatas, los signos y síntomas, y la presencia de IgG contra *R. rickettsii*, *R. typhi* y *R. felis*.

La recolección de las muestras y de la información se hizo en los hospitales locales de 22 de los 27 municipios de Caldas. Los pacientes aceptaron participar en el estudio mediante la firma de un consentimiento informado; se les tomó una muestra de suero en la fase aguda de la enfermedad y se les citó para la toma de una segunda muestra al cabo de quince días (fase convaleciente).

Inmunofluorescencia indirecta

Para la detección de IgG frente a rickettsias del grupo de las fiebres manchadas (antígeno: *R. rickettsii*) y de rickettsias del grupo del tifus (antígeno: *R. typhi*), se utilizaron pruebas de IFI de la marca Focus (Cypress, California; USA); para la detección de IgG frente a rickettsias del grupo transicional (antígeno, *R. felis*), se usaron pruebas de IFI de marca Fuller (Fullerton, California, USA).

En el procesamiento de todas las muestras se siguieron los protocolos de los fabricantes. Se consideró que la muestra era positiva cuando presentaba una fluorescencia igual o mayor que la del control positivo a una dilución de 1:64. Con el fin de establecer si había seroconversión, en aquellas muestras

obtenidas en la fase aguda y convaleciente que habían sido positivas para IgG en el ensayo inicial, se cuantificaron las concentraciones de este anticuerpo haciendo diluciones seriadas con un factor de dilución de 2. La lectura de los ensayos IFI estuvieron a cargo de un solo observador; como controles positivo y negativo, se utilizaron los suministrados por los estuches (controles individuales positivos con IgG frente a *R. rickettsii*, *R. typhi* y *R. felis*); el conjugado provenía de las marcas de las pruebas utilizadas (anti-IgG humana de cabra marcada con fluoresceína específica para las cadenas gamma).

En todas las muestras obtenidas en las fases aguda y convaleciente, se determinó de manera simultánea la presencia de IgG frente a las tres rickettsias que hicieron parte del estudio.

Análisis estadístico

La información se tabuló en una base de datos en Excel que luego se exportó al programa Epi-Info 7.2 empleado en el análisis de los datos mediante la aplicación de estadística descriptiva.

Se aplicaron medidas de tendencia central, de dispersión y posición, y las variables cualitativas se expresaron en distribuciones de frecuencias absolutas y relativas.

Para establecer el grado de asociación entre los factores de riesgo y las frecuencias de IgG, se empleó la prueba de ji al cuadrado con un valor de $p < 0,05$ y se calculó la razón de prevalencias con sus respectivos intervalos de confianza del 95 %.

Para el cálculo de la tasa de prevalencia de rickettsiosis, se tomó la población con resultados positivos de IgG en la primera muestra y el total de habitantes del departamento para el 2019 (923.472 habitantes) según los datos del DANE.

Para establecer la frecuencia de casos activos de rickettsiosis, se analizaron los títulos de IgG obtenidos en las fases aguda y convaleciente de todos los pacientes con fiebre, y se estableció que la enfermedad estaba presente cuando se registraba un aumento, por lo menos, de cuatro veces en el título de anticuerpos en la segunda muestra (30).

El control de los sesgos de selección y de información se hizo en la fase de diseño, especificando los criterios de inclusión y exclusión, y generando un formato de variables por registrar para que las unidades de análisis fueran lo más homogéneas posible. Sin embargo, se pudo presentar sesgo de información, ya que la medición de las variables se basó en los datos registrados en los formatos y, en ellos, algunas de estas carecían de información.

Aspectos éticos

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética Médica de la Universidad de Caldas mediante el acta N° 006 del 2014. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado. Según la Resolución 8430 del 4 de octubre de 1993 expedida por el Ministerio de Salud, este estudio se clasificó como de bajo riesgo, ya que la probabilidad de que los participantes sufrieran algún tipo de daño como consecuencia del estudio era baja. Por otra parte, el riesgo de contaminación del medio ambiente fue mínimo, pues el manejo de las muestras y los reactivos se ajustó a la normatividad vigente.

Cuadro 1. Distribución de la frecuencia de IgG contra *Rickettsia* spp. según el municipio

Municipio	N	Frecuencia de IgG frente a <i>Rickettsia</i> spp.
		Positivos n (%)
Aguadas	5	2 (40)
Anserma	6	4 (66,7)
Belalcázar	24	22 (91,7)
Chinchiná	5	4 (80)
Filadelfia	7	5 (71,4)
La Dorada	12	9 (75)
La Merced	2	2 (100)
Manizales	10	8 (80)
Manzanares	1	0 (0)
Marmato	3	1 (33,3)
Marquetalia	20	9 (45)
Neira	20	17 (85)
Norcasia	20	10 (50)
Pácora	3	1 (33,3)
Pensilvania	4	4 (100)
Riosucio	1	1 (100)
Risaralda	5	4 (80)
Salamina	3	2 (66,7)
Samaná	6	4 (66,7)
San José	7	5 (71,4)
Villamaría	3	2 (66,7)
Viterbo	8	5 (62,5)
Total	175	121 (69,1)

Resultados

Datos sociodemográficos

Se obtuvo una muestra de 175 personas pertenecientes a 22 de los 27 municipios del departamento de Caldas; no se recolectaron muestras en los municipios de Victoria, Supía, Aranzazu, Palestina y Marulanda (cuadro 1).

La edad media de la población de estudio fue de 31 años, con una desviación estándar de 22 años. Los rangos de edad con mayor proporción de personas en orden descendente fueron los de 0 a 10 años (n=35), de 11 a 20 años (n=33), de 41 a 50 años (n=29) y de 31 a 40 años (n=23). En cuanto a la distribución por sexos, 99 (56,6 %) eran hombres y 76 (43,4 %), mujeres. La cantidad de personas procedentes del área urbana y de la rural fue similar (87 y 86, respectivamente) y la mayoría vivía en casas de material (n=129); 118 tenían mascota, predominantemente perros (n=39) y gatos (n=22), y 55 personas tenían ambas mascotas; 37 personas tenían contacto con equinos y 44 con bovinos (cuadro 2). No se encontraron diferencias estadísticas al relacionar la presencia de anticuerpos frente a *Rickettsia* spp. y el factor de riesgo según el valor de p y el intervalo de confianza de 95 %.

Frecuencia de inmunoglobulina G para rickettsias en sueros obtenidos en la fase aguda (primera muestra)

Se procesaron 175 muestras de suero obtenidas en la fase aguda para la detección de IgG contra rickettsias del grupo de las fiebres manchadas (antígeno: *R. rickettsii*) y del grupo del tifus (antígeno: *R. typhi*). Se utilizaron 171 muestras para la detección de IgG frente a rickettsias del grupo transicional (antígeno: *R. felis*). El 69,14 % (121 pacientes) resultó positivo para alguna de las tres especies, 105 (60,0 %) fueron positivos para

rickettsias del grupo de las fiebres manchadas; 83 (47,3 %) para el grupo del tifus, y 42 (24 %) para el grupo transicional; 18 muestras (10,28 %) fueron positivas exclusivamente para el grupo de las fiebres manchadas, tres (1,7 %) para el del tifus, y 12 (6,97 %) para el transicional (cuadro 3).

Cuadro 2. Distribución de la frecuencia de IgG contra *Rickettsia* spp. según la presencia de factores de riesgo

Variables	N	IgG contra <i>Rickettsia</i> spp. (%)	p	RP	IC _{95%}	
Edad (años)	0-10	35	19 (54,3)	0,049	0,75	0,55-1,04
	11-20	33	21 (63,6)	0,50	0,91	0,69-1,21
	21-30	22	17 (77,3)	0,36	1,14	0,89-1,48
	31-40	23	17 (73,9)	0,57	1,09	0,84-1,42
	41-50	29	22 (75,9)	0,36	1,13	0,89-1,43
	51-60	13	8 (61,5)	0,57	0,89	0,57-1,39
	>60	20	16 (80)	0,25	1,19	0,93-1,52
Sexo	M	99	69 (69,7)	0,86	1,02	0,83-1,25
	F	76	52 (68,4)			
Procedencia	Urbana	87	63 (72,4)	0,35	1,09	0,90-1,34
	Rural	86	57 (66,2)	0,42	0,92	0,76-1,13
	Sin dato	2	1 (50)	NA	NA	NA
Tipo de construcción	Material	129	90 (69,8)	0,97	1,00	0,80-1,25
	Bahareque	31	21 (66,2)	0,79	0,97	0,74-1,25
	Madera	10	6 (60)	NA	NA	NA
	Otro	5	5 (100)	NA	NA	NA
Mascotas	Sí	118	78 (66,1)	0,21	0,87	0,71-1,07
	No	57	43 (75,4)			
	Perros	39	24 (61,5)	0,47	0,82	0,49-1,38
	Gatos	22	17 (77,3)	0,23	1,74	0,69-4,38
	Perros y gatos	55	35 (63,6)	0,60	0,90	0,60-1,33
	Otras	2	2 (100)	NA	NA	NA
Contacto con bovinos	Sí	44	29 (65,9)	0,59	0,93	0,-1,19
	No	142	92 (70,2)			
Contacto con equinos	Sí	37	27 (73)	0,58	1,07	0,85-1,34
	No	138	94 (65,9)			
Picadura de garrapatas	Sí	7	6 (85,7)	NA	NA	NA
	No	167	115 (68,9)			
	No sabe	1	0 (0)			
Picadura de pulgas	Sí	23	16 (69,6)	0,98	1,00	0,75-1,35
	No	152	105 (69,1)			
Presencia de zarigüeyas	Sí	50	34 (68,0)	0,83	0,97	0,78-1,22
	No	125	87 (69,6)			
Presencia de ratas y ratones	Sí	86	58 (67,4)			
	No	89	63 (70,8)	0,63	0,95	0,78-1,16

NA: sin datos, ya que el número de muestras fue menor o igual a cinco; RP: razón de prevalencias; IC: intervalos de confianza

Frecuencia de IgG en las muestras obtenidas en la fase aguda según los datos sociodemográficos

La frecuencia de muestras positivas para IgG contra *Rickettsia* spp. en los diferentes grupos de edad fue del 54 al 80 %, con un mayor porcentaje en las personas mayores de 60 años, seguidas de aquellas entre los 21 y los 30 años, los 41 y los 50, y los 31 y los 40 años (cuadro 2). La seropositividad por rickettsias del grupo de las fiebres manchadas estuvo entre el 42,9 y el 73,9 %, siendo mayor en el grupo de 31 a 40 años. Para el grupo del tifus, la seropositividad varió entre el 34,3 y el 60 %, con mayor frecuencia en los mayores de 60 años. Para las rickettsias del grupo transicional, la frecuencia de anticuerpos osciló entre el 13 y el 38,5 %, con mayor frecuencia en el rango de 51 a 60 años; en los tres análisis se observó cómo la frecuencia de IgG contra *R. rickettsii* y *R. typhi* aumentó con la edad, en tanto que, contra

R. felis, este comportamiento no fue igual. No se encontró significación estadística al analizar dichas variables (no se presentan los datos).

Solamente Marmato, Manzanares y Pácora tuvieron pacientes sin anticuerpos, o con baja frecuencia; los otros municipios presentaron frecuencias entre el 33,3 y el 100 % (cuadro 1). La mayor frecuencia de IgG contra *R. rickettsii* se encontró en los municipios de Belalcázar, Chinchiná, Filadelfia, La Merced, Manizales, Neira y Pensilvania, con frecuencias relativas entre el 70 y el 100 %; en los municipios de Belalcázar, Chinchiná, La Merced, Neira y Pensilvania, la frecuencia de anticuerpos contra *R. typhi* estuvo entre el 60 y el 100 %, en tanto que, contra *R. felis*, varió entre un 50 y un 67 % en los municipios de Pensilvania, Risaralda, Salamina y Viterbo (no se muestran los datos).

En cuanto al sexo, la frecuencia de anticuerpos contra *Rickettsia* spp. fue levemente mayor en los hombres (69,7 %) que en las mujeres; además, el 72,4 % de los pacientes positivos procedían de la zona urbana. Otros factores de riesgo analizados, como el tipo de construcción, la tenencia de mascotas, el contacto con bovinos o equinos, las picaduras de pulga, el contacto con garrapatas, y la presencia de zarigüeyas y roedores, se asociaron con gran frecuencia a muestras positivas (títulos mayores o iguales a 64) para IgG en la fase aguda, aunque sin significación estadística (cuadro 2).

Signos y síntomas indicativos de rickettsiosis

Con el fin de determinar la frecuencia de personas con síntomas indicativos de rickettsiosis, se tuvo en cuenta la frecuencia de presentación de los siguientes síntomas: fiebre, cefalea, artromialgias y erupción cutánea. Del total de 175 pacientes, 86 tuvieron fiebre y cefalea; 60, fiebre, cefalea y artromialgias, y 20 presentaron los cuatro síntomas.

Cuadro 3. Frecuencia de inmunoglobulina G contra *Rickettsia* spp. (grupo de las fiebres manchadas, grupo de tifus y grupo transicional) en muestras obtenidas en la primera visita de pacientes (fase aguda) atendidos en diferentes instituciones de salud en el departamento de Caldas

Variable	Categoría	Frecuencia absoluta	Frecuencia relativa (%)	
IgG contra cualquier <i>Rickettsia</i> spp.	Positivo	121	69,1	
	Negativo	54	30,9	
	Total	175	100,00	
IgG contra rickettsias del grupo de las fiebres manchadas (antígeno: <i>R. rickettsii</i>)	Positivo	105	60	
	Negativo	70	40	
	Total	175	100,00	
Número de muestras positivas solo contra rickettsias del grupo de las fiebres manchadas		18	10,3	
	IgG contra rickettsias del grupo tifus (antígeno: <i>R. typhi</i>)	Positivo	83	47,4
		Negativo	92	52,6
Total		175	100,00	
Número de muestras positivas solo contra rickettsias del grupo de tifus		3	1,7	
	IgG contra rickettsias del grupo transicional (antígeno: <i>R. felis</i>)	Positivo	42	24,4
		Negativo	129	75,6
Total		171	100,00	
Número de muestras positivas solo contra rickettsias del grupo transicional		12	6,98	

Cuadro 4. Pacientes con seroconversión para IgG contra antígenos del grupo de las fiebres manchadas (antígeno: *R. rickettsii*), del grupo de tifus (antígeno: *R. typhi*) y del grupo transicional (antígeno: *R. felis*)

Número de pacientes	Procedencia	IgG						Signos y síntomas
		<i>R. rickettsii</i>		<i>R. typhi</i>		<i>R. felis</i>		
		Fase aguda	Convalecencia	Fase aguda	Convalecencia	Fase aguda	Convalecencia	
30	Belalcázar	1:128	1:1.024	1:128	1:128	1:128	1:128	Fiebre, cefalea, artromialgias
32	Belalcázar	1:256	1:2.048	1:512	1:512	1:512	1:512	Fiebre, cefalea, erupción cutánea, artromialgias
149	Salamina	<1:64	1:256	<1:64	<1:64	<1:64	<1:64	Fiebre, cefaleas, artromialgias, náuseas y vómito, dolor abdominal
118	Norcasia	<1:64	1:256	<1:64	1:128	<1:64	1:64	Fiebre, erupción cutánea
42	Filadelfia	1:1.024	1:1.024	1:128	1:512	<1:64	<1:64	Fiebre, cefalea, tos
14	Belalcázar	<1:64	<1:64	<1:64	<1:64	<1:64	1:256	Fiebre, cefalea, erupción cutánea, artromialgias, dolor abdominal
33	Belalcázar	1:1.024	1:1.024	1:64	1:64	<1:64	1:128	Fiebre y cefalea
160	San José	<1:64	<1:64	<1:64	<1:64	<1:64	1:128	Fiebre, cefalea, artromialgia, hepatomegalia, tos, diarrea, náuseas y vómito

Variación en el título de IgG entre los sueros de las fases aguda y convaleciente

En 47 de los 102 pacientes con fiebre asociada a otros síntomas, se obtuvo la segunda muestra de suero (fase convaleciente); en ocho, se observó un aumento en el título de anticuerpos en la fase de convalecencia superior o igual a cuatro diluciones con respecto al título inicial. En tres pacientes se detectó aumento de las IgG contra rickettsias del grupo de las fiebres manchadas (*R. rickettsii*), en uno, contra las del tifus (*R. typhi*) y, en tres, contra las del transicional (*R. felis*). Un paciente exhibió seroconversión con el antígeno de las fiebres manchadas y del grupo del tifus, pero no se pudo determinar qué antígeno generó un mayor título de anticuerpos en la seroconversión debido a la similitud de ambos títulos (256 y 128, respectivamente) (cuadro 4).

La procedencia de las personas que presentaron seroconversión correspondió a los siguientes municipios: Belalcázar (4 casos), Salamina, Filadelfia, Norcasia y San José (un caso en cada municipio); seis procedían de la zona rural, siete tenían mascota (perros y gatos); cinco no tenían contacto con bovinos y seis con equinos, y cinco reportaron la presencia de zarigüeyas en los alrededores de sus casas (cuadro 4).

Los síntomas acompañantes de la fiebre en estos pacientes fueron cefalea (siete pacientes), artromialgia (cinco), erupción cutánea (tres), dolor abdominal y tos (dos pacientes, respectivamente), hepatomegalia, diarrea, náuseas y vómito (cada uno en un paciente) (cuadro 4).

Discusión

El diagnóstico de las rickettsiosis plantea un reto para el médico, debido a la inespecificidad de los síntomas y al acceso limitado a las pruebas diagnósticas. En este estudio, la frecuencia de anticuerpos asociada con cualquiera de los tres grupos de rickettsias en Caldas fue de 69,14 %, (60,0 %, 47,4 % y 24,6 %, respectivamente).

Estos resultados indican una alta frecuencia de exposición a diferentes especies del género *Rickettsia* en todo el departamento, lo cual es un parámetro clínico importante para el diagnóstico de las enfermedades febriles de origen desconocido. Las incidencias que han reportado países como Estados Unidos varían desde cero casos por cada millón de habitantes en Connecticut, por ejemplo, a 128 casos por millón de personas por año en Arkansas (31); se han encontrado seroprevalencias elevadas con tasas de mortalidad bajas, de 1 a 4 %, que se explican por la inespecificidad de la IFI y porque la enfermedad es causada por rickettsias menos patógenas que *R. rickettsii*, cuyos anticuerpos reaccionan de manera cruzada con antígenos de esta especie (13). Se cree que hasta el 30 % de los datos reportados como seropositivos para *R. rickettsii* puede deberse a infecciones por *R. parkeri*, aunque también se puede presentar reacción cruzada con *R. massiliae*, *R. amblyommatis* y *R. akari* (13,32). En estudios en Colombia, se han encontrado seroprevalencias para rickettsias del grupo de las fiebres manchadas que varían entre 2,7 % en Necoclí (Antioquia) y 79,2 % en las veredas La Alianza, Cabuyal y Quilcace del municipio del Tambo (Cauca) (33,34).

Se han hecho varios estudios en el norte de Caldas para detectar anticuerpos contra *R. typhi* y *R. felis*: en el 2005, se obtuvieron 120 muestras de suero de pacientes con manifestaciones clínicas indicativas de rickettsiosis, 38 (31,7 %) de las cuales fueron positivas para IgG (26). En otro estudio de seroprevalencia en la misma región entre el 2010 y el 2011, se encontró una frecuencia de anticuerpos contra *R. typhi* y *R. felis* de 71,7 % (28). Aun cuando en el presente estudio se detectaron además anticuerpos contra *R. rickettsii*, la seropositividad fue muy similar a la reportada en el último estudio; esta elevada frecuencia se explicaría por la reacción cruzada entre especies de rickettsias o a la presencia de algunas pertenecientes al grupo de las fiebres manchadas que no han podido ser identificadas.

Hubo seroconversión en tres pacientes para rickettsias del grupo de las fiebres manchadas, en uno para rickettsias del grupo del tifus y en tres para rickettsias del grupo transicional. El número de personas con seroconversión frente a rickettsias del grupo de las fiebres manchadas fue inferior al registrado en el norte del Caldas entre el 2010 y el 2011 (cinco personas) (28), en tanto que frente al grupo del tifus fue mucho menor a la observada en el 2005 y entre el 2010 y el 2011 (12 y 3 personas, respectivamente) (26,28). Esta disminución en la frecuencia podría indicar una baja exposición de las personas a las picaduras de pulgas del género *Xenopsylla cheopis*, artrópodo que se encontró con poca frecuencia en roedores sinantrópicos y marsupiales en un estudio reciente en el departamento de Caldas, en el cual se obtuvieron diferentes especies de pulgas de animales silvestres y domésticos para establecer la presencia de rickettsias transmitidas por pulgas en dichos artrópodos (29). En cuanto a la frecuencia de anticuerpos contra *R. felis*, el estudio mencionado encontró una gran frecuencia de material genómico de esta rickettsia en las muestras de ADN obtenidas de diferentes pulgas recolectadas. Este hallazgo respalda los resultados obtenidos en la seroprevalencia (24,4 %) y el porcentaje de seroconversión para esta especie (6,3 %). A pesar de ello, el papel de esta especie de rickettsia en la producción de manifestaciones clínicas no se ha establecido con total certeza (35).

En un estudio en tres municipios del Urabá antioqueño (Turbo, Necoclí y Apartadó), se estableció una seroprevalencia contra rickettsias del grupo de las fiebres manchadas del 20,1 %, con seroconversión en seis de los 220 pacientes analizados (2,7 %) (33). En otro estudio reciente en el Urabá

antioqueño, se demostró una seropositividad frente a *R. rickettsii* del 40,44 %, con seroconversión en seis pacientes (6,7 %) (36). Los resultados obtenidos en los sueros pareados en ambos estudios son similares a los observados en este, pero no así la seroprevalencia, que fue mayor y similar a la obtenida en el municipio de Villeta (Cundinamarca) entre el 2011 y el 2013 (37) y menor a la observada en el municipio del Tambo (Cauca) (34). Estos hallazgos son un indicio de la circulación en el territorio colombiano de diferentes especies de rickettsias asociadas con el grupo de las fiebres manchadas. La frecuencia de la picadura por garrapatas en el presente estudio fue muy baja (4 %) en contraste con la reportada en el estudio de Gil-Lora, *et al.*, de 76,7 % (36).

En las últimas décadas, el aumento de la deforestación, la urbanización, las migraciones e, incluso, de la pobreza, así como el acceso limitado a recursos sanitarios, han propiciado la aparición de enfermedades emergentes y reemergentes en el ser humano (38). Estos factores han contribuido a la expansión de los vectores y ha generado cambios en la epidemiología de las enfermedades que transmiten, como las rickettsiosis. Siempre se ha pensado que estas están asociadas a zonas rurales: no obstante, en el presente estudio, la frecuencia de IgG para rickettsias fue un poco mayor en personas procedentes de la zona urbana que de la zona rural (72,4 y 66,2 %, respectivamente).

Estos datos difieren de otros estudios en departamentos colombianos como Antioquia, donde se reportó una mayor seroprevalencia en las zonas rurales, diferencia que probablemente se deba a que en dicho estudio la población estudiada pertenecía al Urabá antioqueño, región geográficamente distinta a la de Caldas (36). Estas variaciones en la frecuencia de anticuerpos pueden estar asociadas con las diferencias metodológicas de ambos estudios, ya que es posible que la frecuencia de anticuerpos contra el grupo de rickettsias de las fiebres manchadas sea mayor en zonas rurales, pues allí es más probable el contacto con garrapatas, cuya movilidad es restringida, en tanto que el contacto con pulgas puede ser igual en ambas zonas, ya que su presencia está asociada con las mascotas y los roedores (39,40).

En la población estudiada no se registraron diferencias significativas entre hombres y mujeres en la seroprevalencia, sin embargo, en la literatura especializada a nivel mundial se ha reportado una mayor prevalencia en los hombres debido a su mayor exposición recreativa y ocupacional (37,41). En cuanto a la edad de presentación de la enfermedad, se ha reportado que la fiebre manchada de las Montañas Rocosas tiene mayor incidencia entre los 60 y los 69 años, y causa mayor mortalidad en niños menores de 10 años (14). En estudios en Antioquia se ha demostrado una seroprevalencia mayor frente a rickettsias de este grupo entre los 21 y los 40 años (40,38 %), en tanto que, en los otros grupos etarios, estuvo entre el 28 y el 30 % (42). En el presente estudio, la menor seroprevalencia frente a este tipo de rickettsias se registró en el grupo de edad de 0 a 20 años (45,5 %), lo cual podría asociarse con su mayor interacción con animales, especialmente perros y gatos, portadores de diferentes tipos de ectoparásitos y, también, con su actividad laboral (14,28).

Algunos roedores como *Rattus rattus* y *R. norvegicus* se han considerado reservorios de *R. typhi* (28); las zarigüeyas se consideran huéspedes y amplificadores de *R. rickettsii* (43,44). Los bovinos, equinos y otros animales domésticos (perros o gatos) son sensibles a estos bacilos pero no son reservorios de rickettsias en áreas endémicas (45,46). En gatos y perros en

Colombia, se ha logrado la identificación, no solo de los diferentes vectores (garrapata o pulga), sino también, de las rickettsias presentes en dichos vectores (27-29,33,38,42). En el presente estudio, el 66 % de los pacientes tenía mascota, especialmente perros; además, los pacientes refirieron tener contacto con bovinos (29 %) o equinos (27 %), en tanto que el 49,1 % refirió la presencia de roedores en su domicilio o cerca de él. La frecuencia de anticuerpos contra rickettsias en estas personas fue alta, aunque el análisis de los datos no estableció una relación estadísticamente significativa de ninguna de estas variables con la presencia de rickettsiosis.

La inespecificidad de la sintomatología fue evidente en este estudio: los hallazgos sugestivos de la enfermedad, como fiebre, artromialgia, cefalea y erupción cutánea, se presentaron en los pacientes con seroconversión con una frecuencia similar a la reportada en la literatura (7,36). Los tres primeros síntomas también aparecen en otras enfermedades endémicas en nuestra región, como el dengue, el chikunguña, el Zika, la brucelosis o la leptospirosis, por lo que determinar la etiología exige que el médico tenga conocimiento de los principales signos y síntomas y la frecuencia de dichas enfermedades, así como que disponga de métodos de diagnóstico (1).

Debido a la inespecificidad de los síntomas, a la poca información epidemiológica que se tiene de las rickettsiosis y a la ausencia de métodos diagnósticos específicos, en la mayoría de los casos no se tiene en cuenta este grupo de enfermedades (7), lo que lleva a diagnósticos presuntivos asociados con enfermedades virales que no se tratan con los antibióticos útiles contra las primeras. La aparente ausencia de casos letales asociados con rickettsiosis en Caldas puede ser un indicio de la presencia de rickettsias del grupo de las fiebres manchadas menos patógenas que *R. rickettsii* (14,47). Es necesario hacer pruebas con las muestras obtenidas y con otras rickettsias que se han descrito previamente en estudios en Colombia, tales como *R. parkeri*, *R. amblyommatis* y *Candidatus Rickettsia colombiense*, entre otras (38,48,49), para establecer de manera indirecta la especie de *Rickettsia* asociada con las manifestaciones clínicas antes mencionadas.

Aunque la inmunofluorescencia indirecta es la prueba de referencia para el diagnóstico de rickettsiosis, también presenta serias limitaciones, entre ellas, la reacción cruzada con diferentes especies del género *Rickettsia*, cuya patogenia aún no se conoce en Colombia (10,50). Dado el tiempo que se requiere para establecer la seroconversión, ante la sospecha clínica de la rickettsiosis es necesario iniciar un tratamiento antibiótico empírico para evitar posibles complicaciones. Los resultados de la IFI pueden proporcionar al médico información que valide retrospectivamente la precisión de la sospecha diagnóstica clínica; además, dichas pruebas permiten conocer la epidemiología y el impacto en salud pública de las rickettsiosis en Caldas.

En conclusión, las rickettsiosis asociadas con los tres grupos estudiados no solo están presentes en el norte de Caldas, como lo han demostrado estudios anteriores, sino también en las otras zonas del departamento, lo cual responde a las características ecológicas de la región, su vocación agropecuaria y las características del hábitat de las personas.

Agradecimientos

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología por la financiación del proyecto “Desarrollo de un sistema preliminar de vigilancia y herramientas de monitoreo para rickettsias en el departamento de Caldas”, del cual hacen

parte los resultados aquí presentados, y a la Pontificia Universidad Javeriana, la Universidad Católica de Manizales y la Universidad de Caldas, por su apoyo con los recursos utilizados en el desarrollo de este proyecto.

Referencias

1. Cortés JA, Romero-Moreno LF, Aguirre-León CA, Pinzón-Lozano L, Cuervo SI. Enfoque clínico del síndrome febril agudo en Colombia. *Infectio*. 2016;21:39-50. <https://doi.org/10.22354/in.v21i1.640>
2. Ovalle M, Bello S, Rico A, Pardo L, Beltrán M, Duarte C, et al. Caracterización epidemiológica de síndrome febril en pacientes fallecidos en Colombia, 2011-2013. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2016;21:266-77.
3. Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal - Semana epidemiológica 53, 27 de diciembre de 2020 al 02 de enero de 2021. Fecha de consulta: 26 de mayo de 2021. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2020-Boletin_epidemiologico_semana_53.pdf
4. Raoult D. Introduction to rickettsioses, ehrlichioses, and anaplasmoses. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Ninth edition. Philadelphia: Elsevier; 2020. p. 2198-205.
5. Merhej V, Angelakis E, Socolovschi C, Raoult D. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infect Genet Evol*. 2014;25:122-37. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.014>
6. Adem P V. Emerging and re-emerging rickettsial infections. *Semin Diagn Pathol*. 2019;36:146-51. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2019.04.005>
7. Blanton LS. The Rickettsioses: A practical update. *Infect Dis Clin North Am*. 2019;33:213-29. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2018.10.010>
8. Walker DH, Fishbein DB. Epidemiology of rickettsial diseases. *Eur J Epidemiol*. 1991;7:237-45. <https://doi.org/10.1007/bf00145672>
9. Snowden J, Ladd M, King KC. Rickettsial Infection. Fecha de consulta: 20 de enero de 2021. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431127/>
10. Robinson MT, Satjanadumrong J, Hughes T, Stenos J, Blacksell SD. Diagnosis of spotted fever group *Rickettsia* infections: The Asian perspective. *Epidemiol Infect*. 2019;147:e286. <https://doi.org/10.1017/S0950268819001390>
11. Binder AM, Nichols Heitman K, Drexler NA. Diagnostic methods used to classify confirmed and probable cases of spotted fever rickettsioses — United States, 2010-2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2019;68:243-46. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6810a3>
12. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, et al. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: A practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recomm Rep*. 2006;55:1-27.
13. Raoult D, Parola P. Rocky Mountain spotted fever in the USA: A benign disease or a common diagnostic error? *Lancet Infect Dis*. 2008;8:587-9. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(08\)70210-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(08)70210-X)
14. Biggs HM, Behravesh CB, Bradley KK, Dahlgren FS, Drexler NA, Dumler JS, et al. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever and other spotted fever group rickettsioses, ehrlichioses, and anaplasmosis - United States. *MMWR Recomm Rep*. 2016;65:1-44. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr6502a1>
15. Wilson LB, Chowning WM. The so-called "spotted fever" of the Rocky Mountains: A preliminary report to the Montana State Board of Health. *JAMA*. 1902;39:131-6.
16. Piza J, Meyer G, Gomes L. Typho exanthematico de São Paulo. *Bol Of San Pan*. 1933;12:980-3.
17. Patiño L, Afanador A, Paul JH. A spotted fever in Tobia, Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 1937;S1-17:639-53.
18. Miranda A, Flores S, Máttar S. Alta seroprevalencia de rickettsiosis en trabajadores del campo en el municipio de Ciénaga de Oro, Córdoba. *Inf Quinc Epidemiol Nac*. 2002;7:71-5.
19. Hidalgo M, Sánchez R, Orejuela L, Hernández J, Walker DH, Valbuena G. Prevalence of antibodies against spotted fever group rickettsiae in a rural area of Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77:378-80.

20. Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernández J, Parra E, et al. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1058-60. <https://doi.org/10.3201%2F1307.060537>
21. Acosta J, Urquijo L, Diaz A, Sepúlveda M, Mantilla G. Brote de rickettsiosis en Necoclí, Antioquia, febrero-marzo de 2006. *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2006;11:177-92.
22. Pacheco-García O, Giraldo M, Hidalgo M, Galeano A, Echeverri I, Echavarría-Rodríguez L, et al. Estudio de brote febril hemorrágico en el corregimiento de Alto de Mulatos - Distrito Especial Portuario de Turbo, Antioquia, enero de 2008. *Inf Quinc Epidemiol Nac.* 2008;13:145-60.
23. Hidalgo M, Miranda J, Heredia D, Zambrano P, Vesga JF, Lizarazo D, et al. Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2011;106:117-18. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000100019>
24. Londoño AF, Arango-Ferreira C, Acevedo-Gutiérrez LY, Paternina LE, Montes C, Ruiz I, et al. A cluster of cases of Rocky Mountain spotted fever in an area of Colombia not known to be endemic for this disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2019;101:336-42. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-1007>
25. Bonilla-S C. Tifus en Colombia, casos notificados al Sivigila hasta el treceavo periodo epidemiológico del año 2010. Fecha de consulta: 12 de febrero de 2020. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador/Informesdeevento/Tifus%202010.pdf#search=tIFUS>
26. Hidalgo M, Salguero E, de la Ossa A, Sánchez R, Vesga JF, Orejuela L, et al. Short report: Murine typhus in Caldas, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78:321-2. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2008.78.321>
27. Ramírez-Hernández A, Montoya V, Martínez A, Pérez JE, Mercado M, de la Ossa A, et al. Molecular detection of *Rickettsia felis* in different flea species from Caldas, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2013;89:453-9. <https://doi.org/10.4269%2Fajtmh.12-0698>
28. Hidalgo M, Montoya V, Martínez A, Mercado M, De la Ossa A, Vélez C, et al. Flea-borne rickettsioses in the north of Caldas province, Colombia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13:289-94. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1173>
29. Colonia CB, Ramírez-Hernández A, Gil-Mora J, Agudelo JC, Castaño-Villa GJ, Pino C, et al. Flea-borne *Rickettsia* species in fleas, Caldas department, Colombia. *J Infect Dev Ctries.* 2020;14:1155-63. <https://doi.org/10.3855/jidc.12524>
30. Smithee L, Hull H, Lynch C, Parrish R. Public health reporting and national notification for spotted fever rickettsiosis (including Rocky Mountain spotted fever). Fecha de consulta: 12 de febrero de 2020. Disponible en: <https://cdn.ymaws.com/www.cste.org/resource/resmgr/PS/09-ID-16.pdf>
31. Drexler NA, Dahlgren FS, Heitman KN, Massung RF, Paddock CD, Behravesh CB. National surveillance of spotted fever group rickettsioses in the United States, 2008-2012. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;94:26-34. <https://doi.org/10.4269%2Fajtmh.15-0472>
32. Valbuena G, Feng HM, Walker DH. Mechanisms of immunity against rickettsiae. New perspectives and opportunities offered by unusual intracellular parasites. *Microbes Infect.* 2002;4:625-33. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(02\)01581-2](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(02)01581-2)
33. Arroyave E, Londoño AF, Quintero JC, Agudelo-Flórez P, Arboleda M, Díaz FJ, et al. Etiología y caracterización epidemiológica del síndrome febril no palúdico en tres municipios del Urabá antioqueño, Colombia. *Biomédica.* 2013;33:99-107. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.734>
34. Weber N, Trujill-Trujillo J, Krücken J, Michl C, Hidalgo ME, Appríguez-Ippolito G, et al. Tickbite-associated chronic pruritic lesions in an Afro-descendant population in the Cauca Department, Colombia. I. Clinical features and impact on health. *Int J Dermatol.* 2020;59:1491-501. <https://doi.org/10.1111/ijd.15184>
35. Labruna MB, Walker DH. *Rickettsia felis* and changing paradigms about pathogenic rickettsiae. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1768-9. <https://doi.org/10.3201/eid2010.131797>
36. Gil-Lora E, Patiño-Gallego J, Acevedo-Gutiérrez L, Montoya-Ruiz C, Rodas-González J. Infección y enfermedad por *Rickettsia* Spp. del grupo de las fiebres manchadas en pacientes febriles del Urabá antioqueño, Colombia. *Iatreia.* 2019;32:167-76. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.15>
37. Faccini-Martínez Á, Ramírez-Hernández A, Barreto C, Forero-Becerra E, Millán D, Valbuena E, et al. Epidemiology of spotted fever group rickettsioses and acute undifferentiated febrile illness in Villeta, Colombia. *Am J Trop Med Hyg.* 2017;97:782-8. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0442>

38. Quintero JC, Paternina LE, Uribe A, Muskus CE, Hidalgo M, Gil J, *et al.* Eco-epidemiological analysis of rickettsial seropositivity in rural areas of Colombia: A multilevel approach. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11:e0005892. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005892>
39. Bernabeu-Wittel M, Segura-Porta F. Enfermedades producidas por rickettsias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005;23:163-72. <https://doi.org/10.1157/13072167>
40. Diaz J, Catano J. Fiebre manchada de las Montañas Rocosas: ni tan manchada ni tan montañosa como pensábamos. *Infectio.* 2010;14:264-76.
41. Peniche-Lara G, Dzul-Rosado KR, Zavala-Velázquez JE, Zavala-Castro J. Murine typhus: Clinical and epidemiological aspects. *Colomb Med (Cali).* 2012;43:175-80.
42. Quintero, JC, Londoño A, Díaz F, Agudelo-Flórez P, Arboleda M, *et al.* Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el noroeste de Antioquia, Colombia. *Biomédica.* 2013;33:38-51. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.735>
43. Horta MC, Moraes-Filho J, Casagrande RA, Saito TB, Rosa SC, Ogrzewalska M, *et al.* Experimental infection of opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9:109-18. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0114>
44. Bozeman FM, Shiral A, Humphries JW, Fuller HS. Ecology of Rocky Mountain spotted fever. II. Natural infection of wild mammals and birds in Virginia and Maryland. *Am J Trop Med Hyg.* 1967;16:48-59.
45. Miranda RJ, Mattar S, González M. Rickettsiosis. *Rev MVZ Córdoba.* 2017;22:6118-33.
46. Tomassone L, Portillo A, Nováková M, de Sousa R, Oteo JA. Neglected aspects of tick-borne rickettsioses. *Parasit Vectors.* 2018;11:263. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2856-y>
47. Stewart A, Armstrong M, Graves S, Hajkovicz K. Clinical manifestations and outcomes of *Rickettsia australis* infection: A 15-year retrospective study of hospitalized patients. *Trop Med Infect Dis.* 2017;2:19. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed2020019>
48. Londoño AF, Díaz FJ, Valbuena G, Gazi M, Labruna MB, Hidalgo M, *et al.* Infection of *Amblyomma ovale* by *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest, Colombia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014;5:672-5. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.04.018>
49. Faccini-Martínez Á, Ramírez-Hernández A, Forero-Becerra E, Cortés-Vecino JA, Escandón P, Rodas JD, *et al.* Molecular evidence of different *Rickettsia* species in Villeta, Colombia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016;16:85-7. <https://doi.org/10.1089/vbz.2015.1841>
50. Suárez R, Hidalgo M, Niño N, González C, Vesga JF, Orejuela L, *et al.* Las rickettsias como agentes etiológicos de entidades febriles no diagnosticadas en Colombia. Primera edición. Bogotá, D.C.: Ediciones Uniandes; 2008. p. 10.

Archivos suplementarios

Cuadro 1 suplementario. Descripción de las variables clínicas, epidemiológicas y serológicas utilizadas en el cuestionario contestado por los pacientes atendidos en las instituciones prestadoras de servicios de salud del departamento de Caldas entre enero del 2016 y diciembre del 2019

Variable	Ítems evaluados
Variables sociodemográficas	<ul style="list-style-type: none"> • Sexo • Edad • Procedencia • Área • Tiempo de residencia
Características de la casa	<ul style="list-style-type: none"> • Bahareque • Material • Madera • Otro, cuál
Presencia de mascotas	<ul style="list-style-type: none"> • Perro • Gato • Otro, cuál
Contacto con animales, ratones y zarigüeyas	<ul style="list-style-type: none"> • Presencia de ratas o ratones • Presencia de zarigüeyas • Contacto con bovinos • Contacto con equinos • Otro, cuál
Picaduras	<ul style="list-style-type: none"> • Picaduras de pulga <ul style="list-style-type: none"> o Frecuencia • Infestación con garrapatas <ul style="list-style-type: none"> o Frecuencia
Signos y síntomas	<ul style="list-style-type: none"> • Fiebre • Cefalea • Erupción cutánea • Artromialgia • Hepatomegalia • Diarrea • Esplenomegalia • Náuseas, vómitos • Dolor abdominal • Confusión • Otros relevantes, cuál o cuáles
IgG contra <i>R. rickettsii</i> , <i>R. typhi</i> y <i>R. felis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Primera muestra <ul style="list-style-type: none"> o Positivo o Negativo o Título • Segunda muestra <ul style="list-style-type: none"> o Positivo o Negativo o Título

Original article

Indirect effects of the SARS CoV-2 pandemic on the prevalence of breastfeeding: Modeling its impact

Álvaro Jácome¹, Carlos Castañeda-Orjuela², Nayide Barahona³

¹ INLAMA Network, Bogotá, D.C., Colombia

² Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

³ INLAMA Network, Cartagena, Colombia

Introduction: Breastfeeding has a protective effect against acute respiratory and diarrheal infections. There are psychological and social effects due to physical isolation in the population in the mother-child group.

Objective: To assess the impact on infant mortality due to a decrease in the prevalence of breastfeeding during 2020 due to the physical isolation against the SARS CoV-2 (COVID-19) pandemic in Colombia.

Materials and methods: We used the population attributable risk approach taking into account the prevalence of breastfeeding and its potential decrease associated with the measures of physical isolation and the relative risk (RR) of the association between exclusive breastfeeding and the occurrence of acute infection consequences in the growth (weight for height) of children under the age of five through a mathematical modeling program.

Results: We found an increase of 11.39% in the number of cases of growth arrest in the age group of 6 to 11 months with a 50% decrease in breastfeeding prevalence, as well as an increase in the number of diarrhea cases in children between 1 and 5 months of age from 5% (5.67%) on, and an increased number of deaths in children under 5 years (9.04%) with a 50% decrease in the prevalence of exclusive breastfeeding.

Conclusions: A lower prevalence of breastfeeding has an impact on infant morbidity and mortality in the short and medium-term. As a public health policy, current maternal and childcare strategies must be kept in order to reduce risks in the pediatric population.

Keywords: Breastfeeding; coronavirus infections; health impact assessment; prevalence; pandemics.

Efectos indirectos de la pandemia por SARS CoV-2 en la prevalencia de lactancia materna: modelación de su impacto

Introducción. La lactancia materna tiene un efecto protector frente a infecciones respiratorias y diarreicas agudas. Hay efectos psicológicos y sociales por el aislamiento físico en la población en el grupo materno-infantil.

Objetivo. Evaluar el eventual impacto en la mortalidad infantil de la disminución en la prevalencia de la lactancia materna durante el 2020 a causa del aislamiento físico por la pandemia del SARS CoV-2 (COVID-19) en Colombia.

Materiales y métodos. Se utilizó el enfoque de riesgo atribuible poblacional, teniendo en cuenta la prevalencia de la lactancia materna y su potencial disminución asociada con las medidas de aislamiento físico y el riesgo relativo (RR) de la asociación entre la lactancia materna exclusiva y el efecto de la aparición de infecciones agudas en el crecimiento (peso para la altura) de niños menores de cinco años mediante un programa de modelamiento matemático.

Resultados. Se registró un aumento del número casos de detención del crecimiento en el grupo etario de 6 a 11 meses de 11,39 % al disminuir en 50 % la prevalencia de la lactancia materna, así como un mayor número de casos por diarrea en los cinco primeros meses a partir del 5 % (5,67 %), y un incremento en el número de muertes en menores de 5 años (9,04 %) al disminuirse en 50 % la prevalencia de la lactancia materna.

Conclusiones. Se registró un impacto en la morbilidad y la mortalidad infantil a corto y mediano plazo al disminuir la prevalencia en la lactancia materna. Como política pública en salud, deben mantenerse las estrategias actuales de atención materno-infantil para disminuir riesgos en la población infantil.

Palabras clave: lactancia materna; infecciones por coronavirus; prevalencia; evaluación del impacto en la salud; pandemias.

Received: 23/11/2020

Accepted: 30/06/2021

Published: 13/07/2021

Citation:

Jácome Á, Castañeda-Orjuela C, Barahona N. Indirect effects of the SARS CoV-2 pandemic on the prevalence of breastfeeding: Modeling its impact. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):118-29. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5917>

Corresponding author:

Álvaro Jácome, Carrera 16 N° 82-29, oficina 303, Bogotá, D.C., Colombia
Telephone: (300) 608 7628
alvarjacom@gmail.com

Author contributions:

Álvaro Jácome and Carlos Castañeda-Orjuela: development, conception, analysis and discussion
Nayide Barahona: article search and manuscript review.
All authors reviewed the document and validated its final version.

Funding:

No funding was received.

Conflicts of interest:

All authors declare that they have no conflict of interest.

The report of the epidemic outbreak caused by the new SARS CoV-2 coronavirus in Wuhan (China) in December 2019 brought about a new global experience at the world level with profound social, economic, and health repercussions. The declaration of the pandemic (1) by the World Health Organization (WHO) unleashed a global emergency in health services as they struggled to deal with the situation.

In the absence of a specific treatment or vaccines against COVID-19 during the early phases of the pandemic, the epidemiological control measures previously used in health crises such as the Spanish flu pandemic in 1918 (2), the SARS outbreak in 2002 (3), and the MERS epidemic in 2012 (4), were implemented to contain SARS CoV-2 and diminish the effect of direct mortality from COVID-19. However, the world is facing short, mid, and long-term indirect consequences of social and economic impact on health systems, mainly in low- and middle-income countries (5) where economic and technical resources have been diverted from other programs to manage and control the situation thus weakening other health strategies, such as maternal and child health prevention and prevalent chronic diseases care (6).

As it is well known, breastfeeding is a protective factor against potentially severe communicable infections during early childhood, mainly by reducing acute respiratory and diarrheal infections (7) risk. Therefore, its active promotion by governments and communities is a key health strategy. In this sense, an indirect negative effect on the prevalence of breastfeeding may occur as an indirect consequence of social isolation due to the SARS CoV-2 pandemic (6).

The physical isolation due to SARS CoV-2 in Colombia extended for 156 days from March 25 to August 30, 2020. As of November 13, 2020, Colombia has reported 1,198,746 COVID 19 cases, 1,104,956 recoveries, and 34.031 deaths (8). Epidemiological reports have focused mainly on the notification and monitoring of the pandemic ignoring the direct and indirect health impacts in the country.

Different psychological and social effects have been described in the general population subjected to physical isolation for prolonged periods increasing the vulnerability of specific segments. The odds of exposure to violence and physical and mental abuse under these circumstances are higher in the mother-child and elderly groups (9,10). Breastfeeding is crucial in women's emotional state and stress results in changes in the normal milk production and the mother-child bonding (11-13). Social networks and support groups are important for breastfeeding maintenance (14) so limited physical contact during the pandemic (15) may have a negative impact on it (16). In this context, it is possible to predict a 36.67% decrease in the prevalence of exclusive breastfeeding in our region (17). As of 2015, however, there are no published updated data on breastfeeding in Colombia.

The use of mathematical modeling to simulate and predict the potential effects of such a situation on the target population is helpful for evaluating the various scenarios or outcomes. For this effect, the Avenir Health Foundation at Harvard University and the Bill and Melinda Gates Foundation developed the Spectrum program (18) to evaluate the impact of changes in the coverage of different health programs. One of its tools, the Lives Saved Tool (LiST), is a mathematical modeling program that has been used for almost 20 years to simulate possible outcomes in maternal and child health (19) and is ideal to estimate the impact of variations in breastfeeding prevalence on infant mortality as a result of physical isolation due to the SARS CoV-2 (COVID-19) pandemic during 2020.

Materials and methods

We used the LiST tool in the framework of the conceptual model developed for this study to estimate the infant deaths likely to occur as a result of a lower prevalence of breastfeeding in Colombia during 2020 due to changes in the social patterns brought about by the social isolation during the SARS CoV-2 pandemic (figure 1).

We applied the population attributable risk approach in the analysis taking into account breastfeeding prevalence and its potential decrease associated with physical isolation and calculated the relative risk (RR) of the association between breastfeeding and the occurrence of acute infectious diseases, among them diarrheal disease and respiratory infections, and its consequences on the growth (weight for height) of children under five years of age (table 1).

Social isolation, COVID 19 and lactation

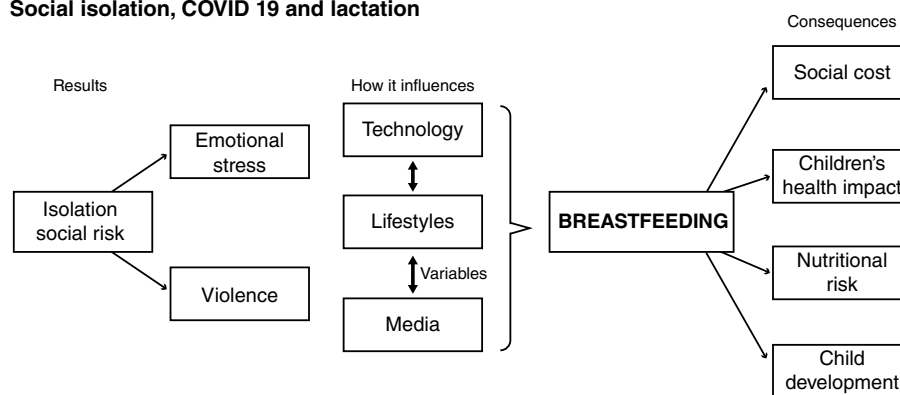


Figure 1. Concept map of breastfeeding and isolation due to COVID-19

Table 1. Mean epidemiological association (relative risks) between breastfeeding prevalence and different health outcomes in children under five years of age according to the mathematical model used

	1 to 5 m	6 to 11 m	12 to 23 m	24 to 59 m
	RR	RR	RR	RR
Diarrhea				
Exclusive breastfeeding	1	1	1	1
Predominant breastfeeding	2.28	1	1	1
Partial lactation	4.62	1	1	1
No breastfeeding	10.52	1.47	2.57	1
Pneumonia				
Exclusive breastfeeding	1	1	1	1
Predominant breastfeeding	1.66	1	1	1
Partial lactation	2.5	1	1	1
No breastfeeding	14.97	1.92	1.92	1
Meningitis				
Exclusive breastfeeding	1	1	1	1
Predominant breastfeeding	1.48	1	1	1
Partial lactation	2.84	1	1	1
No breastfeeding	14.4	3.69	3.69	1
Measles				
Exclusive breastfeeding	1	1	1	1
Predominant breastfeeding	1.48	1	1	1
Partial lactation	2.84	1	1	1
No breastfeeding	14.4	3.69	3.69	1
Whooping cough				
Exclusive breastfeeding	1	1	1	1
Predominant breastfeeding	1.48	1	1	1
Partial lactation	2.84	1	1	1
No breastfeeding	14.4	3.69	3.69	1

Taken from the LiST tool

Table 2. Epidemiological and demographic parameters for evaluating the impact of decreased breastfeeding, Colombia, 2020

Demographic data	Value	Year	Source	Observations
Full-term newborn with low birth weight	3%	2018	SIVIGILA*	https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Bajo%20Peso%20al%20Nacer_2018.pdf
Incidence of acute diarrheal disease under five years	140 per 100,000 children under 5 years of age	2019	SIVIGILA	Sivigila: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/ENFERMEDAD%20DIARREICA%20AGUDA%20PE%20XIII%202019.pdf
Incidence of pneumonia under five years	3.9 per 100,000 children 1 to 4 years old	2017	SIVIGILA	Sivigila: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/Informe%20IRA%20Final%202017.pdf
Infant mortality (deaths less than 1/1,000 live births)	10.7	2017	Vital statistics	https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-2019-colombia.pdf
Prevalence of breastfeeding in children under six months			ENSIN 2015 (17)	
Exclusive	36.1% (95%CI 31.1% - 40.4%)	2015		
Predominant (breastfeeding + non-dairy liquids)	3.3% (95%CI 2.3% - 4.8%)	2015		
Predominant (breastfeeding + water)	14.1% (95%CI 11.5% - 17.0%)	2015		
Partial (breastfeeding + formula)	28.3% (95%CI 24.9% - 32.0%)	2015		
No breastfeeding	10.8% (95%CI 8.4% - 13.7%)	2015		
Late neonatal mortality (under 6.9 28 d/1,000 no breastfeeding) in mothers under 18 years of age	6.9	2015	ENSIN 2015 (17)	
Late neonatal mortality (under 7.0 28 d/1,000 no breastfeeding) in mothers from 18 to 49 years of age	7.0	2015	ENSIN 2015 (17)	
Late neonatal mortality (less than 28 days/1000 live births)	7.0	2015	Vital statistics	https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-2019-colombia.pdf
Infant mortality (deaths less than 1 year/1000 live births)	10.7	2017	Vital statistics	https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-2019-colombia.pdf

*SIVIGILA: Colombian public health surveillance system

We defined 2019 as the baseline year and we used the LiST demographic data for Colombia provided by the World Population Prospects 2017 (20) for the calculations. We also took into account the exclusive, predominant, and partial breastfeeding parameters reported in the National Nutritional Situation Survey (ENSIN) 2015 (17) and the UNICEF projections for the country (21) while the baseline infant mortality rates were retrieved from the DANE (*Departamento Administrativo Nacional de Estadística*) databases (table 2).

We also calculated possible additional deaths in a scenario of decreased breastfeeding prevalence assuming normality in the provision of preventive maternal-perinatal health services during the COVID-19 pandemic quarantine to show the specific expected impact of a lower breastfeeding prevalence.

Parameters

We used the most recent epidemiological reports in Colombia provided by the Ministry of Health and Social Protection, DANE, the *Instituto Nacional de Salud*, and the ENSIN 2015 for the model (table 2). The baseline value of exclusive breastfeeding prevalence used in the model's potential scenarios was taken from the ENSIN 2015 (36.1%; 95% CI: 31.1% - 40.4%) (17).

For more adjusted breastfeeding prevalence variation ranges, we conducted a literature search in PubMed, Google Scholar, and Embase for reported values of the impact of the 2002 SARS epidemic, the 2012 MERS outbreak, and the 2017 Ebola virus epidemic in Africa on breastfeeding prevalence (22,23) but we found no specific references on the subject. We,

therefore, defined four scenarios as follows: No reduction in breastfeeding prevalence with 36.1%; a slight reduction with 34.29% (5% decrease); a moderate one with 32.49% (decrease of 10%), and a high one with 18.05% (50% decrease) compared to the initial value of the breastfeeding baseline prevalence for Colombia.

The infant mortality values in children under 1 year were taken from the 2017 report provided by the Colombian Ministry of Health (table 2) and the demographic data related to breastfeeding from the ENSIN 2015 (17). We kept the WHO classification (24) for exclusive breastfeeding, predominant breastfeeding, partial breastfeeding, and no breastfeeding (table 2).

Data analysis

We used the Spectrum software package (19,25) and its LiST module, which is an IT program to model and project different interventions as they relate to changes in pediatric population survival associated with perinatal and child health. We used the Spectrum data for Colombia updated for 2017 in the DemProj module based on the World Population Prospects 2017 (20) and those derived from the National Demographics and Health Survey (ENDS 2015) (26).

We projected the infant nutritional status data in LiST using the total number and the percentage by the change in weight loss (weight for height) and the growth arrest (height for age). The values obtained were expressed in terms of relative and absolute differences in cases. The unchanged scenario was established with breastfeeding prevalence values based on the initial 2019 data with no variation for 2020 and then compared with the other scenarios. We then contrasted the figures obtained in each breastfeeding prevalence reduction model for 2020 against the expected no-reduction values for the same year and estimated the relative variation in health outcomes. As for 2021, we kept the demographic data obtained for 2020 as no major changes in maternal and child health conditions could be expected.

This model allowed to estimate the potential impact of breastfeeding prevalence variation on the pediatric population nutrition, the alterations in height for age (stunting), the incidence of pathologies such as acute diarrheal disease, acute bronchopneumonia, measles, meningitis, and whooping cough infections, and the changes in infant expected mortality reported as absolute and relative values compared to the no-variation scenario.

Results

The mathematical model provided the probable scenario of breastfeeding prevalence variation showing an increase in the growth arrest rate (height for age) for the 6 to 11-month age segment (1.08%) when the decrease in breastfeeding prevalence was 5%. This value increased to 11.39% when using a 50% decrease in breastfeeding prevalence (table 3). The total number of additional cases of growth arrest for 2020 would range from 865 to 8,908 depending on the impact on breastfeeding prevalence.

Regarding the changes in the incidence of acute infectious diseases related to the variation in the prevalence of breastfeeding, the greatest effect was registered in the number of cases of diarrhea and severe diarrhea (table 4). The greatest impact would occur among infants between 1 and 5 months of age as the projected prevalence of breastfeeding decreases between 2019, 2020, and 2021. We observed slight variations in the 2021 expected values compared to those for 2020. Between 111,975 and 2,376,062 additional cases

of diarrhea could be expected with a reduction of 473 or 476 cases of severe pneumonia explained by the higher number of deaths from diarrhea.

Regarding infant mortality (table 5), an increase in the total number of infant deaths would be expected as a result of a lower breastfeeding prevalence: A 5% decrease would cause an increase of 112 deaths (2.27%) compared with the no-variation scenario with the figure increasing as breastfeeding prevalence decreased. In the scenario of a maximum impact on breastfeeding with a 50% decrease, 975 additional deaths would occur (11.37% increase).

Discussion

Table 3. New cases of growth arrest in children under five years of age according to variations in the prevalence of breastfeeding, Colombia, 2019-2021, according to the mathematical model used

	2019	2020	2021	Absolute difference		Relative difference	
				2020	2021	2020	2021
Baseline scenario							
0 to 59 months (all children under five years of age)	483,170	478,697	474,575				
<1 month	6,499	6,427	6,356				
1 to 5 months	32,494	32,135	31,779				
6 to 11 months	35,192	34,804	34,418				
12 to 23 months	114,818	113,662	112,984				
24 to 59 months	294,167	291,669	289,038				
5% decreased prevalence in lactation							
0 to 59 months (all children under five years of age)	483,170	479,562	476,220	865	1,645	0.18%	0.35%
<1 month	6,499	6,457	6,385	30	29	0.47%	0.46%
1 to 5 months	32,494	32,376	32,016	241	237	0.75%	0.75%
6 to 11 months	35,192	35,183	34,791	379	373	1.09%	1.08%
12 to 23 months	114,818	113,879	113,832	217	848	0.19%	0.75%
24 to 59 months	294,167	291,668	289,196	-1	158	0.00%	0.05%
10% decreased prevalence in lactation							
0 to 59 months (all children under five years of age)	483,170	480,385	477,792	1,688	3,217	0.35%	0.68%
<1 month	6,499	6,482	6,410	55	54	0.86%	0.85%
1 to 5 months	32,494	32,592	32,225	457	446	1.42%	1.40%
6 to 11 months	35,192	35,542	35,141	738	723	2.12%	2.10%
12 to 23 months	114,818	114,100	114,657	438	1,673	0.39%	1.48%
24 to 59 months	294,167	291,668	289,359	-1	321	0.00%	0.11%
50% decreased prevalence in lactation							
0 to 59 months (all children under five years of age)	483,170	487,605	491,641	8,908	202,603	1.86%	3.60%
<1 month	6,499	6,726	6,652	299	296	4.65%	4.66%
1 to 5 months	32,494	34,597	34,212	2,462	2,433	7.66%	7.66%
6 to 11 months	35,192	38,765	38,337	3,961	3,919	11.38%	11.39%
12 to 23 months	114,818	115,852	121,800	2,190	8,816	1.93%	7.80%
24 to 59 months	294,167	291,665	290,640	-4	1,602	0.00%	0.55%

Table 4. New cases of diarrhea in children under five years of age according to varying breastfeeding prevalence, Colombia, 2019-2021, according to the mathematical model used Incidence of cases by pathology

No change in the prevalence of breastfeeding			
Diarrhea	2019	2020	2021
0 to 59 months	11,729,409	11,620,724	11,518,150
<1 month	194,834	192,685	190,550
1 to 5 months	974,170	963,424	952,749
6 to 12 months	1,169,004	1,156,108	1,143,299
12 to 23 months	2,321,968	2,298,595	2,284,882
24 to 59 months	7,069,432	7,009,912	6,946,671
Severe diarrhea			
0 to 59 months	227,257	225,246	223,257
<1 month	3,775	3,733	3,692
1 to 5 months	18,875	18,666	18,460
6 to 12 months	22,649	22,400	22,151
12 to 23 months	44,988	44,535	44,270
24 to 59 months	136,970	135,911	134,685

5% decreased prevalence in lactation				Absolute difference				Relative difference			
Diarrhea	2019	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021		
0 to 59 months	11,729,409	11,841,384	11,735,584	111,975	6,175	0.95%	0.05%				
<1 month	194,834	205,924	203,594	11,090	8,760	5.69%	4.50%				
1 to 5 months	974,170	1,029,375	1,017,592	55,205	43,422	5.67%	4.46%				
6 to 12 months	1,169,004	1,228,528	1,214,520	59,524	45,516	5.09%	3.89%				
12 to 23 months	2,321,968	2,367,656	2,353,295	45,688	31,327	1.97%	1.35%				
24 to 59 months	7,069,432	7,009,902	6,946,583	-59,530	-122,849	-0.84%	-1.74%				
Severe diarrhea											
0 to 59 months	227,257	229,521	227,470	2264	213	1.00%	0.09%				
<1 month	3,775	3,990	3,945	215	170	5.70%	4.50%				
1 to 5 months	18,875	19,944	19,716	1069	841	5.66%	4.46%				
6 to 12 months	22,649	23,803	23,531	1154	882	5.10%	3.89%				
12 to 23 months	44,988	45,873	45,595	885	607	1.97%	1.35%				
24 to 59 months	136,970	135,911	134,683	-1059	-2287	-0.77%	-1.67%				

10% decreased prevalence in lactation				Absolute difference				Relative difference			
Diarrhea	2019	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021		
0 to 59 months	11,729,409	12,062,856	11,953,010	333,447	223,601	2.84%	10.42%				
<1 month	194,834	217,554	215,143	22,720	20,309	11.66%	10.59%				
1 to 5 months	974,170	1,092,248	1,077,322	118,078	103,152	12.12%	10.25%				
6 to 12 months	1,169,004	1,303,833	1,288,775	134,829	119,771	11.53%	4.45%				
12 to 23 months	2,321,968	2,439,330	2,425,271	117,362	103,303	5.05%	4.45%				
24 to 59 months	7,069,432	7,009,892	6,946,499	-59,540	-122,933	-0.84%	-1.74%				
Severe diarrhea											
0 to 59 months	227,257	233,812	231,683	6,555	4,426	2.88%	1.95%				
<1 month	3,775	4,215	4,168	440	393	11.66%	10.41%				
1 to 5 months	18,875	21,162	20,873	2,287	1,998	12.12%	10.59%				
6 to 12 months	22,649	25,262	24,970	2,613	2,321	11.54%	10.25%				
12 to 23 months	44,988	47,262	46,990	2,274	2,002	5.05%	4.45%				
24 to 59 months	136,970	135,911	134,682	-1,059	-2,288	-0.77%	-1.67%				

50% decreased prevalence in lactation				Absolute difference				Relative difference			
Diarrhea	2019	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021		
0 to 59 months	11,729,409	14,105,471	13,974,162	2,376,062	2,244,753	20.26%	19.14%				
<1 month	194,834	344,215	340,487	149,381	145,653	76.67%	74.76%				
1 to 5 months	974,170	1,722,418	1,702,554	748,248	728,384	76.81%	74.77%				
6 to 12 months	1,169,004	1,987,921	1,967,153	818,917	798,149	70.05%	68.28%				
12 to 23 months	2,321,968	3,041,107	3,018,177	719,139	696,209	30.97%	29.98%				
24 to 59 months	7,069,432	7,009,810	6,945,790	-59,622	-123,642	-0.84%	-1.75%				
Severe diarrhea											
0 to 59 months	227,257	273,388	270,843	46,131	43,586	20.30%	19.18%				
<1 month	3,775	6,669	6,597	2,894	2,822	76.66%	74.75%				
1 to 5 months	18,875	33,372	32,987	14,497	14,112	76.81%	74.77%				
6 to 12 months	22,649	38,516	38,114	15,867	15,465	70.06%	68.28%				
12 to 23 months	44,988	58,921	58,477	13,933	13,489	30.97%	29.98%				
24 to 59 months	136,970	135,909	134,668	-1,061	-2,302	-0.77%	-1.68%				

The results estimated with the LiST tool showed potential increases in the number of cases of infant growth arrest (height for age), the incidence of acute infectious diseases, and mortality both in infants and in children under five years of age as a consequence of the indirect effects of breastfeeding prevalence decrease during social isolation due to the SARS-CoV19 infection in Colombia.

It was foreseeable that SARS CoV-2 containment would involve a series of changes in public health policies and strategies as institutional, budgetary, and healthcare staff resources poured into its management thus affecting already established strategies such as communicable diseases eradication campaigns and maternal and childcare strategies and altering established control routines with consequences and indirect effects that are yet to be documented.

Table 5. Variation in breastfeeding the prevalence and expected deaths in children under five per 1000 live births, Colombia, 2019-2021, according to the mathematical model used

Baseline scenario	2019	2020	2021	Relative increase	Relative increase	Absolute difference		Relative difference	
						2020	2021	2020	2021
Total 0-59 months	10798	10666	10559	-1.22%	-2.21%				
<1 month	5114	5058	5002	-1.10%	-2.19%				
1-59 months	5683	5624	5576	-1.04%	-1.88%				
Mortality in children under five years (deaths per 1000 live births)	14.7	14.7	14.7	0.00%	0.00%				
5% decrease in breastfeeding prevalence									
Total 0-59 months	10798	10778	10672	1.05%	1.07%	112	113	2.27%	3.28%
<1 month	5114	5103	5046	0.89%	0.88%	45	44	1.98%	3.07%
1-59 months	5683	5675	5625	0.91%	0.88%	51	49	1.95%	2.76%
Mortality in children under five years (deaths per 1000 live births)	14.7	14.87	14.39	1.16%	-2.11%	0.17	-0.31	1.16%	-2.11%
10% decrease in breastfeeding prevalence									
Total 0-59 months	10,798	10,864	10,756	1.86%	1.87%	198	197	3.08%	4.08%
<1 month	5114	5141	5085	1.64%	1.66%	83	83	2.74%	3.85%
1-59 months	5683	5723	5672	1.76%	1.72%	99	96	2.80%	3.60%
Mortality in children under five years (deaths per 1000 live births)	14.7	14.95	14.94	1.70%	1.63%	0.25	0.24	1.70%	1.63%
50% decrease in breastfeeding prevalence									
Total 0-59 months	10798	11641	11526	9.14%	9.16%	975	967	10.36%	11.37%
<1 month	5114	5507	5446	8.88%	8.88%	449	444	9.97%	11.07%
1-59 months	5683	6134	6080	9.07%	9.04%	510	504	10.11%	10.92%
Mortality in children under five years (deaths per 1000 live births)	14.7	16.01	16.01	8.91%	8.91%	1.31	1.31	8.91%	8.91%

The impact of the implementation of quarantines and containment measures on the general population health has been demonstrated: during the SARS epidemic in 2002, for example, the demand for hospital consultation concerning other diseases decreased as a consequence of people's refusal to attend due to the risk of contagion (3). Something similar was reported during the 2014-2016 Ebola virus epidemic as the use of essential health services decreased, especially the mother-child health care with a short- and mid-term impact on morbidity and mortality in this population segment even greater than that of the infection itself (27). This necessarily implies a series of indirect impacts in the mid and long term which need to be evaluated in advance using tools like the one we employed in our analysis.

During social isolation, reports on the emotional state and the effects on mental health in various populations worldwide have increased (28) as secondary reactions to such measures with changes in social interaction patterns and an increased incidence of gender and family violence (29). Changes in child development due to altered interactions among adult caregivers have also been demonstrated (10) with short- and mid-term effects. Social isolation produces emotional stress and anxiety, consequently affecting adult and child behavior with repercussions on coexistence (30,31), life rhythms, and regular routines, and redefining forms of coexistence in confined conditions (32,33). Additionally, structural changes in family dynamics occur due to the shift in family roles with the arrival of new members (34,35), which, under the current conditions, can increase maternal stress and affect breastfeeding (11,12).

Regarding the social determinants of health, the variation in women's labor market during the period of confinement in Colombia has been evident. According to a report issued by DANE and the Javeriana University, the variation in the labor gap was 22% higher than for male workers. The highest participation of women in the country's labor market corresponds to the service segment

(hotels, retail, restaurants), precisely the most affected during the pandemic. The report also pointed to a proportional reduction in work from home among women as compared to men thus increasing their vulnerability and the trend for unpaid housework, which would probably decrease their time for breastfeeding (36).

Interestingly, from a gender perspective, there was a 15.7% decrease in gender-based violence cases in Colombia as reported in the *Instituto Nacional de Salud* weekly epidemiological bulletin for the 2020 fifth epidemiological period (37). Sexual violence against boys, girls, and adolescents was most frequently reported, especially prevalent in girls, associated with a proportional increase of neglect in early childhood accounting for 55.9% of the reports. However, it should be noted that a decrease in reporting during the isolation period is likely to have happened (38).

The impact of the potential reduction in breastfeeding prevalence according to the mathematical model of the LiST tool reveals an increase of 7.6 to 11.39% in the risk of stunting among children 1 to 5 and 6 to 11 months, i.e., the most vulnerable age groups dependent on adult caregivers (39). Growth impairment can affect individual development with overall consequences for the pediatric and future adult population with an estimated OR of 6.19 (95% CI: 3.31 - 11.56) (40) consistent with our results. Such changes in these age groups' growth patterns also have economic consequences for the productive capacity of a country (41,42), which were not evaluated in this research.

The Global International Report (43) estimated a prevalence of 11.9% of arrested growth rate in Colombia for 2019. For the Latin American region, the reported reduction in the prevalence of arrested growth rates went from 16.8% in 2009 to 11% in 2019. In the world, the reduction was 11.1% from 21.3% in 2000 (44). These values reflect an improvement in global living conditions in the region associated with a decrease in absolute poverty; however, no data are yet available for this year and in the context of the SARS CoV-2 pandemic.

Along the course of life, breastfeeding has a protective effect against various infectious diseases such as acute diarrheal disease and acute respiratory infection. The proportional decrease in exclusive breastfeeding between 1 and 5 months of age and the resulting increase in no-lactation or mixed lactation result in an increased risk of adverse health outcomes with an estimated relative risk of 10.52 (95% CI: 2.79-39.6) (7) affecting infant nutritional status and contributing to increasing infant morbidity and mortality due to these infectious diseases, mainly acute diarrheal disease, as evidenced by the modeling (45,46). According to several ecological and observational studies, the lack of breastfeeding increases the risk of acute diarrheal disease incidence, prevalence, mortality, and hospitalization, especially among infants from 0 to 5 months of age. These additional cases also impact the health system resources required for the care of severe cases mainly thus diverting them from COVID-19 or other events management.

A proportional 29% decrease in the number of acute diarrheal disease cases for week 20 in 2020 was reported in the *Instituto Nacional de Salud* weekly epidemiological bulletin (47) as compared to the same period in 2019 with an incidence of 41 cases and five deaths in children under one year of age per 1000 inhabitants. In the modeling exercise, the expected number of deaths due to acute diarrheal disease was 207 for every 1000 children under five years of age.

Our study has limitations. First, being a modeling study, its validity depends on the implemented parameters and on the model structure. In this regard, based on

recent literature reviews, we used parameters from official national sources and an internationally validated model using the population attributable risk approach. Second, we assumed a breastfeeding prevalence probable range given that no local evaluations measuring this variation are yet available. Such evaluations will identify the most probable impact scenario among those we present in the present analysis. A third limitation refers to the assessment of the impact of physical isolation on breastfeeding exclusively and other preventive programs could also be affected. Hence, our estimates correspond to a conservative scenario given that the effect in the mid and long term could be more significant.

In conclusion, indirect effects of containment measures against COVID-19 are to be expected with the resulting impact on infant morbidity and mortality in the short and midterms as a consequence of breastfeeding prevalence decrease. It is important to maintain and strengthen current strategies for maternal and childcare, as well as to reinforce mental healthcare processes, focusing not only on medical care but also social strategies aimed at individual and family wellbeing, as well as to maintain and implement promotion strategies for breastfeeding focused on primary health care in the framework of the current pandemic.

References

1. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. Geneva: WHO; 2020. Accessed on: September 2, 2019. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
2. Monto AS, Fukuda K. Lessons from influenza pandemics of the last 100 years. *Clin Infect Dis.* 2020;70:951-7. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz803>
3. Chang HJ, Huang N, Lee CH, Hsu YJ, Hsieh CJ, Chou YJ. The impact of the SARS epidemic on the utilization of medical services: SARS and the fear of SARS. *Am J Public Health.* 2004;94:562-4. <https://doi.org/10.2105/ajph.94.4.562>
4. Al-Tawfiq JA, Memish ZA. Middle East respiratory syndrome coronavirus: Epidemiology and disease control measures. *Infect Drug Resist.* 2014;7:281-7. <https://doi.org/10.2147/IDR.S51283>
5. Stein D, Ward K, Cantelmo C. Estimating the potential impact of COVID-19 on mothers and newborns in low- and middle-income countries. *Health Policy Plus*; 2020. Accessed on: September 15, 2019. Available from: <https://healthpolicyplus.medium.com/estimating-the-potential-impact-of-covid-19-on-mothers-and-newborns-in-low-and-middle-income-3a7887e4a0ff>
6. Marsh AD, Muzigaba M, Diaz T, Requejo J, Jackson D, Chou D, et al. Effective coverage measurement in maternal, newborn, child, and adolescent health and nutrition: Progress, future prospects, and implications for quality health systems. *Lancet Glob Health.* 2020;8:e730-6. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30104-2](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30104-2)
7. Lamberti LM, Fischer Walker CL, Noiman A, Victora C, Black RE. Breastfeeding and the risk for diarrhea morbidity and mortality. *BMC Public Health.* 2011;11(Suppl.3):S15. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-S3-S15>
8. Instituto Nacional de Salud. COVID-19 en Colombia. 2020. Accessed on: November 16, 2020. Available from: <http://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Coronavirus.aspx>
9. Dubey S, Biswas P, Ghosh R, Chatterjee S, Dubey MJ, Chatterjee S, et al. Psychosocial impact of COVID-19. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev.* 2020;14:779-88. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.05.035>
10. Yoshikawa H, Wuermli AJ, Britto PR, Dreyer B, Leckman JF, Lye SJ, et al. Effects of the global coronavirus disease-2019 pandemic on early childhood development: Short- and long-term risks and mitigating program and policy actions. *J Pediatr.* 2020;223:188-93. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2020.05.020>
11. Lau C. Effects of stress on lactation. *Pediatr Clin North Am.* 2001;48:221-34. [https://doi.org/10.1016/s0031-3955\(05\)70296-0](https://doi.org/10.1016/s0031-3955(05)70296-0)

12. Dozier AM, Nelson A, Brownell E. The relationship between life stress and breastfeeding outcomes among low-income mothers. *Adv Prev Med.* 2012;2012:902487. <https://doi.org/10.1155/2012/902487>
13. Dinour LM, Rivera-Rodas EI, Amutah-Onukagha NN, Doamekpor LA. The role of prenatal food insecurity on breastfeeding behaviors: Findings from the United States pregnancy risk assessment monitoring system. *Int Breastfeed J.* 2020;15:30. <https://doi.org/10.1186/s13006-020-00276-x>
14. Bridges N, Howell G, Schmied V. Exploring breastfeeding support on social media. *Int Breastfeed J.* 2018;13:22. <https://doi.org/10.1186/s13006-018-0166-9>
15. Caron C. With less breastfeeding support, mothers are turning to online help. *The New York Times.* 2020. Accessed on: November 3, 2019. Available from: <https://www.nytimes.com/2020/08/11/parenting/breastfeeding-support-coronavirus.html>
16. Al-Dmour H, Masa'deh R, Salman A, Abuhashesh M, Al-Dmour R. Influence of social media platforms on public health protection against the COVID-19 pandemic via the mediating effects of public health awareness and behavioral changes: Integrated model. *J Med Internet Res.* 2020;22:e19996. <https://doi.org/10.2196/19996>
17. Ministerio de Salud y Protección Social, INS, ICBF, UNAL. ENSIN 2015 Encuesta Nacional de la Situación Nutricional. Bogotá, D.C.: Ministerio de Salud y Protección Social; 2020. p. 1-65. Accessed on: September 11, 2019. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/GCFI/ensin-colombia-2018.pdf>
18. Beesley S. Spectrum software. Your computer. 1983;50-2. Accessed on September 10, 2019. <https://livessavedtool.org>
19. Walker N, Tam Y, Friberg IK. Overview of the lives saved tool (LiST). *BMC Public Health.* 2013;13(Suppl.3):S1. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-S3-S1>
20. United Nations. World population prospects 2019. New York: United Nations; 2019. p. 1-39. Accessed on: November 3, 2019. Available from: https://population.un.org/wpp/Publications/Files/WPP2019_Highlights.pdf
21. UNICEF. Breastfeeding: A mother's gift, for every child. Unicef. 2018. p. 1-13. Accessed on: November 3, 2019. Available from: <https://data.unicef.org/resources/breastfeeding-a-mothers-gift-for-every-child/>
22. Foeller ME, Carvalho Ribeiro do Valle C, Foeller TM, Oladapo OT, Roos E, Thorson AE. Pregnancy and breastfeeding in the context of Ebola: A systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2020;20:e149-58. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30194-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30194-8)
23. Bower H, Johnson S, Bangura MS, Kamara AJ, Kamara O, Mansaray SH, *et al.* Effects of mother's illness and breastfeeding on risk of Ebola virus disease in a cohort of very young children. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016;10:e0004622. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004622>
24. Organización Mundial de la Salud. Alimentación del lactante y del niño pequeño. Ginebra: OMS; 2016. p. 1-6. Accessed on: November 3, 2019. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs342/es/index.htm>
25. Stegmuller AR, Self A, Litvin K, Robertson T. How is the Lives Saved Tool (LiST) used in the global health community? Results of a mixed-methods LiST user study. *BMC Public Health.* 2017;17(Suppl.4):773. <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4750-5>
26. Ministerio de Salud y Protección Social, Profamilia. Encuesta Nacional de Demografía y Salud Encuesta Nacional de Demografía y Salud - Componente de Salud Sexual y Salud Reproductiva. Bogotá: Profamilia; 2015. p. 832. Accessed on: September 11, 2019. Available from: <https://profamilia.org.co/wp-content/uploads/2019/05/ENDS-2015-TOMO-II.pdf>
27. Wilhelm JA, HELLINGER S. Utilization of non-Ebola health care services during Ebola outbreaks: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Health.* 2019;9:010406.
28. Moreno C, Wykes T, Galderisi S, Nordentoft M, Crossley N, Jones N, *et al.* How mental health care should change as a consequence of the COVID-19 pandemic. *Lancet Psychiatry.* 2020;7:813-24. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30307-2](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30307-2)
29. Roesch E, Amin A, Gupta J, García-Moreno C. Violence against women during covid-19 pandemic restrictions. *BMJ.* 2020;369:m1712. <https://doi.org/10.1136/bmj.m1712>
30. Neece CL, Green SA, Baker BL. Parenting stress and child behavior problems: A transactional relationship across time. *Am J Intellect Dev Disabil.* 2012;117:48-66. <https://doi.org/10.1352/1944-7558-117.1.48>

31. Sheidow AJ, Henry DB, Tolan PH, Strachan MK. The role of stress exposure and family functioning in internalizing outcomes of urban families. *J Child Fam Stud*. 2014;23:135-65. <https://doi.org/10.1007/s10826-013-9793-3>
32. Spinelli M, Lionetti F, Pastore M, Fasolo M. Parents' stress and children's psychological problems in families facing the COVID-19 outbreak in Italy. *Front Psychol*. 2020;11:1713. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.01713>
33. Zeng S, Hu X, Zhao H, Stone-MacDonald AK. Examining the relationships of parental stress, family support and family quality of life: A structural equation modeling approach. *Res Dev Disabil*. 2020;96:103523. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2019.103523>
34. Doss BD, Rhoades GK, Stanley SM, Markman HJ. The effect of the transition to parenthood on relationship quality: An 8-year prospective study. *J Pers Soc Psychol*. 2009;96:601-19. <https://doi.org/10.1037/a0013969>
35. Volling BL. Review of changes in the firstborn's adjustment. *Psychol Bull*. 2012;138:497-528. <https://doi.org/10.1037/a0026921>
36. Herrera-Idárraga P, Hernández-Bonilla HM, Gélvez-Rubio T, Ramírez-Bustamante N, Tribín AM, Cuyana-Garzón T, *et al*. Informe sobre cifras de empleo y brechas de género: cambios en el empleo en actividades de cuidado a raíz del Covid-19. Grupo de Enfoque Diferencial e Interseccional. Dirección General del DANE. 2020. Accessed on: October 22, 2020. Available from: <https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/boletines/ech/Informe-sobre-cifras-de-empleo-y-brechas-de-genero-10-2020.pdf>
37. Instituto Nacional de Salud. Vigilancia en salud pública de violencia de género e intrafamiliar, Colombia Periodo V de 2020. Semana epidemiológica 21, mayo 20 al 26 de 2018. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2020. p. 31 Accessed on: September 11, 2019. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018_Boletin_epidemiologico_semana_21.pdf
38. Instituto Nacional de Salud, Observatorio Nacional de Salud. Informe 12: COVID-19 en Colombia, consecuencias de una pandemia en desarrollo. Bogotá D. C.: Instituto Nacional de Salud, Ministerio de Salud y Protección Social; 2020. p. 443. Accessed on: September 11, 2019. Available from: https://www.ins.gov.co/Direcciones/ONS/Informes/12COVID-19_en_Colombia_pandemia_en_desarrollo.pdf
39. Muldiasman M, Kusharisupeni K, Laksminingsih E, Besral B. Can early initiation to breastfeeding prevent stunting in 6-59 months old children? *Journal of Health Research*. 2018;32:334-41.
40. Syeda B, Agho K, Wilson L, Maheshwari GK, Raza MQ. Relationship between breastfeeding duration and undernutrition conditions among children aged 0-3 years in Pakistan. *Int J Pediatr Adolesc Med*. 2021;8:10-7. <https://doi.org/10.1016/j.ijpam.2020.01.006>
41. McGovern ME, Krishna A, Aguayo VM, Subramanian S V. A review of the evidence linking child stunting to economic outcomes. *Int J Epidemiol*. 2017;46:1171-91. <https://doi.org/10.1093/ije/dyx017>
42. Vollmer S, Harttgen K, Subramanyam MA, Finlay J, Klasen S, Subramanian SV. Association between economic growth and early childhood undernutrition: Evidence from 121 Demographic and Health Surveys from 36 low-income and middle-income countries. *Lancet Glob Health*. 2014;2:e225-34. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(14\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(14)70025-7)
43. Global Nutrition Report. Colombia Nutrition Profile. Colombia. Burden of malnutrition. 2020. Accessed on: July 3, 2019. Available from: <https://globalnutritionreport.org/resources/nutrition-profiles/latin-america-and-caribbean/south-america/colombia/>
44. UNICEF. Malnutrition. UNICEF Data: Monitoring the situation of children and women. 2020. Accessed on: July 3, 2020. Available from: <https://data.unicef.org/topic/nutrition/malnutrition/>
45. Wright MJ, Méndez MA, Bentley ME, Adair LS. Breastfeeding modifies the impact of diarrhoeal disease on relative weight: A longitudinal analysis of 2–12 month-old Filipino infants. *Matern Child Nutr*. 2017;13:1-12. <https://doi.org/10.1111/mcn.12312>
46. Turin CG, Ochoa TJ. The role of maternal breast milk in preventing infantile diarrhea in the developing world. *Curr Trop Med Rep*. 2014;1:97-105. <https://doi.org/10.1007/s40475-014-0015-x>
47. Instituto Nacional de Salud. Semana epidemiológica 30 19 al 25 de julio de 2020. *Boletín Epidemiológico Semanal*. 2020;1-25. Accessed on: July 3, 2020. Available from: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2020_Boletin_epidemiologico_semana_30.pdf

Original article

Characterization of sexually transmitted infections, their pharmacological treatment, and recurrence in a Colombian population

Luis Fernando Valladales-Restrepo^{1,2}, Juan Alberto Ospina-Cano¹, María José Londoño-Serna¹, Jorge Enrique Machado-Alba¹

¹ Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira-Audifarma S.A, Pereira, Colombia

² Grupo de Investigación Biomedicina, Facultad de Medicina, Fundación Universitaria Autónoma de las Américas, Pereira, Colombia

Introduction: Sexually transmitted infections are a public health problem worldwide. Their inadequate antimicrobial management has been associated with a higher risk of recurrence.

Objective: To characterize the main sexually transmitted infections, the adherence to clinical practice guidelines, and the factors associated with recurrence in Colombia.

Materials and methods: We conducted an observational study to identify the main sexually transmitted infections, the sociodemographic variables, and the pharmacological management in a patient cohort from a population database of 6.5 million people affiliated with the Colombian health system. We made a multivariate analysis to identify the variables associated with recurrence.

Results: We detected 3,158 patients with a mean age of 41.8 ± 14.5 years, of whom 63.1% were men. We found 4,030 episodes of sexually transmitted infections, predominantly urethral syndrome (27.5%). Only 13.6% of patients with urethral syndrome, ulcerative syndrome, or genital warts were managed in compliance with clinical practice guidelines and 20.6% were dispensed condoms; 16.7% of patients had recurrences and being male (OR=1.32; 95%CI 1.08-1.63), <30 years old (OR=1.72; 95%CI 1.40-2.13), being treated in municipalities other than capital cities (OR=1.43; 95%CI 1.06-1.94), and having received inadequate treatment for the first episode (OR=1.93; 95%CI 1.52-2.39) were associated with recurrence.

Conclusions: The majority of patients with sexually transmitted infections were not treated in compliance with clinical practice guidelines and those who did not have adequate management had a higher risk of recurrence.

Keywords: Sexually transmitted diseases; urethritis; recurrence; male; condoms; public health.

Caracterización de las infecciones de transmisión sexual, su tratamiento farmacológico y la recurrencia en una población colombiana

Introducción. Las infecciones de transmisión sexual constituyen actualmente un problema de salud pública en el mundo. Su inadecuado tratamiento antimicrobiano se ha relacionado con un mayor riesgo de recurrencias.

Objetivo. Caracterizar las principales infecciones de transmisión sexual, el cumplimiento de las guías de práctica clínica de Colombia y los factores asociados con las recurrencias.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio observacional para determinar las principales infecciones de transmisión sexual, las variables sociodemográficas y el tratamiento farmacológico en una cohorte de pacientes registrados en una base de datos poblacional de 6,5 millones de personas afiliadas al Sistema de Salud de Colombia. Se hizo un análisis multivariado para establecer las variables asociadas con las recurrencias.

Resultados. Se detectaron 3.158 pacientes; su edad media era de $41,8 \pm 14,5$ años y 63,1 % de ellos correspondía a hombres; se encontraron 4.030 episodios de infecciones de transmisión sexual con predominio del síndrome uretral (27,5 %). El 13,6 % de los pacientes con síndrome uretral, ulceroso o con verrugas genitales se manejó según las guías de práctica clínica. El 20,6 % tenía acceso a condones y el 16,7 % presentó recurrencias. Ser hombre (OR=1,32; IC_{95%} 1,08-1,63), tener <30 años (OR=1,72; IC_{95%} 1,40-2,13), ser tratado en municipios distintos a ciudades capitales (OR=1,43; IC_{95%} 1,06-1,94) y haber recibido un tratamiento inadecuado en el primer episodio (OR=1,93; IC_{95%} 1,52-2,39) fueron factores asociados con las recurrencias.

Conclusiones. La mayoría de los pacientes con infecciones de transmisión sexual no fueron tratados según las guías de práctica clínica y quienes no tuvieron un manejo adecuado presentaban mayor riesgo de recurrencias.

Palabras clave: enfermedades de transmisión sexual; urethritis; recurrencia; masculino; condones; salud pública.

Received: 30/11/2020

Accepted: 12/07/2021

Published: 21/07/2021

Citation:

Valladales-Restrepo LF, Ospina-Cano JA, Londoño-Serna MJ, Machado-Alba JE. Characterization of sexually transmitted infections, their pharmacological treatment, and recurrence in a Colombian population. *Biomédica*. 2021;41(Supl.2):130-9.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.5872>

Corresponding author:

Jorge Enrique Machado-Alba, Grupo de Investigación en Farmacoepidemiología y Farmacovigilancia, Universidad Tecnológica de Pereira-Audifarma S.A, Calle 105 N° 14-140, Pereira, Risaralda, Colombia
Telephone: (57) (310) 832 6970; fax: (576) 313 7822
machado@utp.edu.co

Author contributions:

Jorge Enrique Machado-Alba and Luis Fernando Valladales-Restrepo: data collection and analysis
Jorge Enrique Machado-Alba: critical revision and evaluation of the final version of the manuscript
All authors participated in the drafting, the description of results, and the discussion of the manuscript.

Funding:

This study did not receive funding.

Conflicts of interest:

The authors declare no conflicts of interest.

Sexually transmitted diseases are a variety of clinical syndromes and infections caused by pathogens transmitted during sexual intercourse (1). In recent years, many experts have suggested calling them sexually transmitted infections instead because the concept of disease involves a medical problem, usually with clear signs and symptoms, while sexually transmitted diseases also affect asymptomatic patients and, therefore, not all infections can be considered diseases (2,3).

Sexually transmitted infections are among the most common contagious conditions affecting individuals' health and lives around the world (4,5) and they are currently considered a global public health problem (5). Sexually transmitted infections prevalence depends on socioeconomic conditions, cultural and moral beliefs, and diagnostic and therapeutic options (3). According to the World Health Organization (WHO), every day, more than a million people acquire a sexually transmitted infection, and it has been estimated that 376 million new sexually transmitted infections cases occurred in 2016, among them, trichomoniasis (156 million), chlamydia (127 million), gonorrhea (87 million), and syphilis (6.3 million). Besides, the number of people with genital herpes exceeds 500 million and approximately 240 million suffer from chronic hepatitis B (6). In 2016, the prevalence of chlamydia infection in Colombian men was 9.2% and 7.4% among women while syphilis prevalence was 1.2% overall while gonorrhea prevalence was 0.7% in women and 0.6% in men (7).

These infections can cause acute urogenital conditions such as urethritis, cervicitis, vaginitis, and ulceration in the genitals, among others, and some may involve the rectum and pharynx. Several etiological agents are associated with serious short- and long-term complications (4). Sexually transmitted infections can be caused by viruses, bacteria, and parasites; they include mainly eight infections, four of which can be cured, namely, syphilis, gonorrhea, chlamydia, and trichomoniasis while the other four are caused by viruses (hepatitis B, herpes simplex, HIV and human papillomavirus) and are incurable, although there are treatments to attenuate, control, or modify the symptoms or the disease (6,8).

The lack of treatment is also considered a public health problem because untreated infections can lead to harmful consequences for individuals' health (9). In this sense, the Colombian Ministry of Health and Social Protection and the Administrative Department of Science, Technology, and Innovation (Colciencias) published in 2013 the clinical practice guidelines for the syndromic approach to the diagnosis and treatment of patients with sexually transmitted infections and other genital tract infections aimed at providing health professionals with evidence on therapy effectiveness and safety to reduce the variability found in clinical practice, among other objectives (10). However, few studies in the country have addressed this topic and the pharmacological management indicated for patients with sexually transmitted infections is unknown. Therefore, we sought to characterize the main sexually transmitted infections, the adherence of their treatment to clinical practice guidelines, and the factors associated with recurrence in a Colombian population.

Materials and methods

Study design

We conducted an observational, descriptive, and retrospective cohort study on the treatment schemes used in the management of some sexually transmitted

infections and their recurrence. Data were obtained from a population database of drugs dispensed that gathers information from about 6.5 million individuals affiliated with the contributory regime of the Colombian Health System through five insurers known in the country as health-promoting companies corresponding to approximately 30.0% of the actively affiliated population in this regime in the country and 14.3% of the Colombian total population.

We selected patients of either sex aged 14 or older treated in outpatient units from January 1 to December 31, 2015. We excluded those who had had a sexually transmitted infection in 2013 or 2014. We followed the patients until June 30, 2019. Besides, we analyzed the International Classification of Diseases, 10th revision (ICD-10) codes related to sexually transmitted infections and the drugs prescribed for their management.

The ICD-10 diagnostic codes used for patient identification were the following:

- Urethral discharge syndrome and/or cervicitis:
 - » Urethritis: N341, N342, N370
 - » Gonococcal infections: A540-A542, A546-A549
 - » Chlamydial infections: A560-A563, A568
 - » Trichomoniasis: A590, A598, A599
- Ulcerative syndrome:
 - » Syphilis: A510-A512, A539, N742
 - » Genital herpes: A600, A601, A609
 - » Soft chancre: A57X
 - » Lymphogranuloma venereum: A55X
 - » Granuloma inguinale: A58X
 - » Anogenital warts: A630
- Others:
 - » Hepatitis B: B160-B162, B169, B170, B180, B181
 - » Hepatitis C: B171, B182
 - » HIV: B200-B213, B217-B222, B227, B230-B232, B238, B24X, F024, R75X.

Based on the information on the use of drugs by the affiliated population, systematically recorded by the dispensing company Audifarma SA, we designed a database to collect the following groups of variables:

1. Sociodemographic: sex, age, city of dispensation.
2. Chronic comorbidities: we identified the main cardiovascular, endocrine, rheumatic, urological, kidney, psychiatric, neurological, digestive, respiratory, and neoplastic diseases from the reported ICD-10 diagnostic codes.
3. Drugs used in the management of some sexually transmitted infections. Management was considered adequate when the prescribed antibiotic, dose, and duration of treatment followed the Colombian clinical practice guidelines (10), as follows:
 - » Urethral discharge syndrome or cervicitis:
 - » Urethritis: ceftriaxone (500 mg IM single dose) and azithromycin (1 g orally single dose)
 - » Gonococcal infections: ceftriaxone (500 mg IM single dose) or spectinomycin (2 g IM single dose)

- » Chlamydial infections: azithromycin (1 g orally single dose) or doxycycline (100 mg orally administered every 12 hours for 7 days)
 - » Trichomoniasis: tinidazole (2 g oral single dose) or metronidazole (2 g orally single dose)
 - » Ulcerative syndrome:
 - » Syphilis: benzathine penicillin G (2,400,000 IU single-dose IM) or doxycycline (100 mg orally administered every 12 hours for 14 days)
 - » Genital herpes: acyclovir (200 mg orally administered 5 times a day for 6-7 days) or valaciclovir (1 g orally administered every 12 hours for 7-10 days)
 - » Soft chancre: azithromycin (1 g orally single dose) or ceftriaxone (250 mg IM single dose) or erythromycin (500 mg orally administered every 8 hours for 7 days)
 - » Lymphogranuloma venereum or granuloma inguinale: azithromycin (1 g orally administered once a week for 3 weeks) or doxycycline (100 mg orally administered 2 times a day for 21 days)
 - » Anogenital warts (1): podophyllin or trichloroacetic acid
 - » HIV, hepatitis B and C pharmacological management was not taken into account.
4. Inadequate management: All patients who did not receive pharmacological management and those who received another type of antimicrobial therapy not recommended by the clinical practice guidelines (1,10).
 5. Recurrence: Patients with two or more sexually transmitted infection episodes through the follow-up period were considered recurrent.
 6. Dispensing of hormonal contraceptives (oral, injectable, or depot) and/or condoms.

Data analysis

The data were analyzed with the SPSS Statistics, version 26.0 program for Windows (IBM, USA). We made a descriptive analysis with frequencies and proportions for the qualitative variables and measures of central tendency and dispersion for the quantitative variables. The quantitative variables were compared using the Student's t-test or variance analysis and the categorical variables using the χ^2 test. The binary logistic regression models used the presence of two or more sexually transmitted infections episodes (recurrence) as a dependent variable and those variables significantly associated with recurrence in the bivariate analyses as covariates. We adopted $p < 0.05$ as the statistical significance level.

Bioethical considerations

The protocol was approved by the Bioethics Committee of the *Universidad Tecnológica de Pereira* under the category of risk-free research (approval code: 01-071019). We adhered to the ethical principles established by the Declaration of Helsinki and used no personal patient data.

Results

We identified 3,158 patients with a sexually transmitted infections diagnosis distributed in 64 different cities or municipalities of whom 63.1% (n=1994) were men. The mean age was 41.8 ± 14.5 years (range:14.0–96.8 years) distributed in the following age groups: <30 years (n=760; 24.1%), 30-49 years

(n=1566; 49.6%), 50-64 years (n=568; 18.0%), and ≥65 years (n=264; 8.4%); 90.4% (n=2,856) of the patients resided in capital cities.

During the selection period and the follow-up, we found 4,030 sexually transmitted infections episodes, predominantly urethral syndrome (n=1108; 27.5%) distributed as follows: urethritis (n=912; 22.6%), gonorrhea (n=136; 3.4%), chlamydia (n=32; 0.8%), and trichomoniasis (n=28; 0.7%) followed by ulcerative syndrome (n=1,105; 27.4%): syphilis (n=555; 13.8%), genital herpes (n=540; 13.4%), and chancre (n=10; 0.3%), as well as genital warts (n=939; 23.3%), HIV (n=808; 20.0%), and hepatitis B or C (n=70; 1.7%); 83.3% (n=2630/3158) of the patients had a single sexually transmitted infections episode while 16.7% (n=528) had two or more. At some point during follow-up, 20.6% (n=649) of the patients were dispensed condoms and 21.0% (n=245/1164) of the women, hormonal contraceptives, mostly oral ones (n=210/1164; 18.0%).

Sexually transmitted infections pharmacological management

A 13.6% (428/3152) of the urethral syndrome, ulcerative syndrome, and genital warts episodes were adequately managed. Genital warts were the most frequently treated in compliance with the clinical practice guidelines (n=256/939; 27.3%) followed by genital herpes (n=85/540; 15.7%), syphilis (n=71/555; 12.8%), gonorrhea (n=14/136; 10.3%), and soft chancre (n=2/10; 20.0%). No episode of urethritis, chlamydia, or trichomoniasis was managed with the recommended antibiotic, dose, and treatment duration. Tables 1, 2, and 3 show the main drugs used for the treatment of urethral syndrome, ulcerative syndrome, and genital warts.

Comorbidities

A total of 68.1% (n=2,151) of patients had some chronic pathology. Cardiovascular diseases were the most frequent (n=1,382; 43.8%) followed by endocrine (n=845; 26.8%) and digestive disorders (n=541; 17.1%).

Table 1. Pharmacological management of episodes of ulcerative syndrome in 3,158 patients with sexually transmitted infections, Colombia

Syphilis (N=555)	n	%
Medications included in the management guide	361	65.0
Benzathine penicillin G	337	60.7
Doxycycline	24	4.3
Other antimicrobial management guide	92	16.6
No antimicrobial handling	102	18.4
Genital herpes (N=540)	n	%
Medications included in the management guide	443	82.0
Acyclovir	414	76.7
Valaciclovir	29	5.4
Other antimicrobial management guide	37	6.9
No antimicrobial handling	60	11.1
Soft chancre (N=10)	n	%
Medications included in the management guide	6	60.0
Azithromycin	3	30.0
Erythromycin	2	20.0
Ceftriaxone	1	10.0
Other antimicrobial management guide	4	40.0
No antimicrobial handling	0	0.0

Table 2. Pharmacological management guide of episodes of urethral syndrome in 3,158 patients with sexually transmitted infections, Colombia

Urethritis (N=912)	n	%
Medications included in the management guide	47	5.2
Ceftriaxone + doxycycline	44	4.8
Ceftriaxone + azithromycin	3	0.3
Other antimicrobial management guide	766	84.0
Doxycycline	298	32.7
Ciprofloxacin	185	20.3
Nitrofurantoin	50	5.5
Ceftriaxone	39	4.3
Norfloxacin	28	3.1
Azithromycin	21	2.3
Others	145	15.9
No antimicrobial handling	99	10.9
Gonorrhea (N=136)	n	%
Medications included in the management guide	72	52.9
Doxycycline	41	30.1
Ceftriaxone	31	22.8
Other antimicrobial management guide	51	37.5
Ciprofloxacin	16	11.8
Others	35	25.7
No antimicrobial handling	13	9.6
Chlamydia (N=32)	n	%
Medications included in the management guide	18	56.2
Doxycycline	17	53.1
Azithromycin	1	3.1
Other antimicrobial management guide	6	18.8
Ceftriaxone + ciprofloxacin	2	6.3
Others	4	12.5
No antimicrobial handling	8	25.0
Trichomoniasis (N=28)	n	%
Medications included in the management guide	20	71.4
Metronidazole	16	57.1
Tinidazole	4	14.3
Other antimicrobial management guide	7	25.0
Fluconazole	3	10.7
Others	4	14.3
No antimicrobial handling	1	3.6

Table 3. Pharmacological management guide of episodes of genital warts in 3,158 patients with sexually transmitted infections, Colombia

Genital warts (N=939)	n	%
Medications included in the management guide	314	33.4
Podophyllin	314	33.4
Trichloroacetic acid	0	0.0
Other antimicrobial management guide	429	45.7
Silver sulfadiazine	154	16.4
Clotrimazole	93	9.9
Metronidazole	61	6.5
Others	121	12.9
No antimicrobial handling	196	20.9

Multivariate analysis

The binary logistic regression analysis showed that being a man under 30 years of age, being treated in municipalities other than capital cities, and having received inadequate treatment for the first sexually transmitted infections episode, were associated with a higher probability of another episode during the follow-up period. No variable was protective against this risk (table 4).

Table 4. Multivariate analysis of the variables associated with the recurrence of sexually transmitted infections

Variables	Sig	OR	95%CI	
			Lower	Upper
Age <30 years	<0,001	1.729	1.403	2.132
Man	0.007	1.327	1.080	1.631
Treatment in municipalities	0.018	1.439	1.064	1.947
Endocrine diseases	0.077	0.811	0.643	1.023
Having received inadequate treatment in the first episode	<0,001	1.913	1.528	2.395
Condom dispensing	0.187	1.167	0.928	1.467

Sig: statistical significance; OR: odds ratio; CI95%: confidence interval 95%

Discussion

The main sexually transmitted diseases frequencies, their pharmacological treatment in compliance with the country's clinical practice guidelines, and the factors associated with having two or more episodes were identified in a cohort of patients from both sexes aged 14 and older in a Colombian population.

Similar to our report, in a study in Spain, 27.1% of the patients had urethral syndrome (11), and the most frequently found sexually transmitted infection was genital warts in agreement with the rate reported by Jacob, *et al.* in Germany (51.2%) (12) but differing from that found in Belgium, where the most common sexually transmitted infection was chlamydial infection (43.1%) (13). According to WHO reports (4,6) and to a prevalence study from Colombia (7), infections caused by *Chlamydia trachomatis* are the most common infections in both men and women. However, in our study, chlamydial infections were found in less than 1% of cases due perhaps to the fact that patients were classified according to the ICD-10 codes and many of the sexually transmitted infections classified as unspecified urethritis were likely chlamydial infections.

Only 13.6% of the urethral syndrome, ulcerative syndrome, and genital warts cases treatment adhered to the clinical practice guidelines on antibiotic choice, dose, and duration. Inadequate treatment, including the use of incorrect antibiotics or sub-therapeutic doses, can lead to multiple treatments for the same infection generating an excessive burden on the health system, promoting the development of resistance to antibiotics, and reducing the effectiveness of current treatments (9).

The information on this worrisome problem is limited. However, in England, Wetten, *et al.* found that between 2000 and 2011, the proportion of patients treated for chlamydial infections increased from 59.5 to 78.4% and that more than 90% of them were prescribed the recommended antibiotics; in turn, 32.7-53.6% of patients diagnosed with gonorrhea received antibiotic treatment but, although ciprofloxacin was discontinued as the recommended therapy in 2005, the authors found that it was prescribed in 42% of the cases in 2007 and in 20% in 2011 (14). In New Zealand, 65% of patients with gonorrhea episodes were managed in compliance with the country guidelines and the adherence was greater in patients treated at sexual health clinics (89%) than at general medicine clinics (52%) (15). From 2011 to 2014, 50-52% of patients with gonorrhea in England were managed according to the guidelines (16). In contrast, in the Netherlands, 93.3% of patients with gonorrhea were treated with ceftriaxone in compliance with the practice guidelines (17) while in Estonia, 48.6% of treatments for gonorrhea did not comply with the clinical practice guidelines and 3.8% were noncompliant for chlamydia (9).

Recurrence is among the problems related to inadequate sexually transmitted infections pharmacological management (3,9). In Belgium, reinfections occurred in 15.4% of patients (13); in Brazil in 13.6% (18); in Canada in 6.4% (19), and in our study in 17.6% and we documented a 91% increase in the risk of recurrence when the recommended medication was not administered or when no antimicrobial treatment was indicated. In the United States, Amiri, *et al.* determined that the factors associated with not receiving treatment were being a woman (OR=1.25; 95%CI 1.05-1.50) and residing in a small town (OR=1.49; 95%CI 1.20-1.86) (20).

In general, sexually transmitted infections are found more frequently in men as reported in Belgium (57.3%) (13), but contrary to other studies where they predominated in women (21-23). According to several studies, being a man is a risk factor for sexually transmitted infections recurrences as informed in Brazil (OR=4.28; 95%CI 1.31-14.0) (18), England (OR=9.9; 95%CI 1.32-73.78) (24), Spain (HR=1.9; 95%CI 1.3-2.8) (25), and in our study (OR=1.32; 95%CI 1.08-1.63). In addition, those under 25 are considered a high-risk population for sexually transmitted infections (8,20) given that according to incidence estimates in the US, about 50% of infections occur in women and men aged 15-24 years (22). In Spain, López, *et al.* found that being less than 20 years (HR=4.1; 95%CI 2.1-8.0) was a risk factor for chlamydial reinfections (25), which agrees with our findings that those under 30 years had a 72% risk of having a new sexually transmitted infection episode. Older people are more aware of the importance of reproductive health care and of prevention, detection, and treatment of these infections (20), so they tend to have stable relationships and use condoms more frequently (8).

The use of condoms is one of the main strategies to reduce sexually transmitted infection transmission, but a reduction in their use has been documented among the younger population (8). We found that one-fifth of the patients in our study were dispensed condoms in contrast with the case of Brazil, where 76.2% of people reported their use, although only 9.1% used them regularly (18). In Almeida, *et al.*'s (18) and our study, condom use was not a protective factor against recurrence, maybe because of its inappropriate and/or inconsistent use (8).

Our results should be cautiously interpreted since we did not have access to the medical records to confirm sexually transmitted infections etiological or clinical diagnoses. Additionally, we had no data on the education level, the number of sexual partners, the use of illicit drugs, or on antimicrobials, contraceptives, or condoms prescribed outside the health system or not delivered by the dispensing company, nor on the antiviral management received by HIV and hepatitis patients. Finally, it was not possible to establish whether the recurrence was due to the lack of treatment of the sexual partner or partners or to a *de novo* infection.

We concluded that the majority of sexually transmitted infection patients in our study were not treated in compliance with the Colombian clinical practice guidelines and that those not receiving adequate management had a higher risk of recurrence, as well as men, adolescents, and young adults. For the comprehensive management of sexually transmitted infection patients, prescribing physicians should appropriately select the antibiotic, dose, and duration of treatment to avoid recurrence. The prescription should be based on the available clinical practice guide. The continuous and autonomous updating of medical professionals is very important and health administrators

can also play a relevant role in promoting the updating of their prescribers. On the other hand, more studies on antibiotic sensitivity and resistance patterns are required as they are essential for proposing updates in the country's clinical practice guidelines.

Acknowledgments

We thank Soffy Claritza López for obtaining the database.

References

1. Sexually Transmitted Diseases. Summary of 2015 CDC Treatment Guidelines. *J Miss State Med Assoc.* 2015;56:372-5.
2. American Sexual Health Association. STDs/STIs. Accessed on: June 1, 2020. Available from: <http://www.ashasexualhealth.org/stdsstis/>
3. Buder S, Schöfer H, Meyer T, Bremer V, Kohl PK, Skaletz-Rorowski A, *et al.* Bacterial sexually transmitted infections. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2019;17:287-315. <https://doi.org/10.1111/ddg.13804>
4. Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, *et al.* Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: Global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ.* 2019;97:548-62. <https://doi.org/10.2471/BLT.18.228486>
5. de Amorim TF, Teles SA, Moraes LC, de Matos MA, Carneiro M, Nogueira DJ, *et al.* Symptomatic sexually transmitted infections in Brazil's emerging rural populations. *J Assoc Nurses AIDS Care.* 2018;29:942-8. <https://doi.org/10.1016/j.jana.2018.05.004>
6. World Health Organization. Report on global sexually transmitted infection surveillance, 2018. Accessed on: June 1, 2020. Available from: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/stis-surveillance-2018/en/>
7. Korenromp EL, Ríos C, Apolinar ALS, Caicedo S, Cuéllar D, Cárdenas I, *et al.* Prevalence and incidence estimates for syphilis, chlamydia, gonorrhoea, and congenital syphilis in Colombia, 1995-2016. *Rev Panam Salud Pública.* 2018;42:e118. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2018.118>
8. Sieving RE, Gewirtz O'Brien JR, Saftner MA, Argo TA. Sexually transmitted diseases among us adolescents and young adults: Patterns, clinical considerations, and prevention. *Nurs Clin North Am.* 2019;54:207-25. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.002>
9. Tisler-Sala A, Ojavee SE, Uusküla A. Treatment of chlamydia and gonorrhoea, compliance with treatment guidelines and factors associated with non-compliant prescribing: Findings from a cross-sectional study. *Sex Transm Infect.* 2018;94:298-303. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2017-053247>
10. Ministerio de Salud y Protección Social - Colciencias. Guía de práctica clínica para el abordaje sindrómico del diagnóstico y tratamiento de los pacientes con infecciones de transmisión sexual y otras infecciones del tracto genital, 2013. Accessed on: June 1, 2020. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/IETS/profesionales%20salud.pdf>
11. Moreno-Ribera N, Fuertes-de Vega I, Blanco-Arévalo JL, Bosch-Mestres J, González-Cordón A, Estrach-Panella T, *et al.* Sexually transmitted infections: Experience in a multidisciplinary clinic in a tertiary hospital (2010-2013). *Actas Dermosifiliogr.* 2016;107:235-41. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2015.10.007>
12. Jacob L, Duse DA, Kostev K. Prevalence and treatment of sexually transmitted infections in men followed by urologists in Germany - a cross sectional study with 347,090 men. *Ger Med Sci.* 2018;16:1-7. <https://doi.org/10.3205/000265>
13. Boffin N, Moreels S, Deblonde J, van Casteren V. Four sexually transmitted infections (STIs) in Belgian general practice: First results (2013-2014) of a nationwide continuing surveillance study. *BMJ Open.* 2017;7:e012118. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-012118>
14. Wetten S, Mohammed H, Yung M, Mercer CH, Cassell JA, Hughes G. Diagnosis and treatment of chlamydia and gonorrhoea in general practice in England 2000-2011: A population-based study using data from the UK Clinical Practice Research Datalink. *BMJ Open.* 2015;5:e007776. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-007776>

15. Forster R, Ng D, Upton A, Franklin R, Thomas M. Treatment of gonorrhoea in Auckland, New Zealand: Marked variation in prescriber adherence to treatment guidelines. *Intern Med J*. 2017;47:640-8. <https://doi.org/10.1111/imj.13433>
16. Mohammed H, Sile B, Furegato M, Fifer H, Hughes G. Poor adherence to gonorrhoea treatment guidelines in general practice in England. *Br J Gen Pract*. 2016;66:352. <https://doi.org/10.3399/bjgp16X686077>
17. van Amerongen R, Gazendam RP, van Bergen JEAM. Trends in antimicrobial management of gonorrhoea by general practitioners in Amsterdam, the Netherlands, between 2010 and 2016: A cross-sectional study. *BMC Fam Pract*. 2019;20:12. <https://doi.org/10.1186/s12875-018-0900-9>
18. Almeida VC, Donalisio MR, Cordeiro R. Factors associated with reinfection of syphilis in reference centers for sexually transmitted infections. *Rev Saúde Pública*. 2017;51:64. <https://doi.org/10.1590/S1518-87872017051006432>
19. Généeux M, Leclerc P, Bédard L, Allard R. Upsurge of chlamydial reinfection in a large Canadian city: An indication of suboptimal *Chlamydia* screening practices? *Can J Public Health*. 2010;101:420-4. <https://doi.org/10.1007/BF03404865>
20. Amiri S, Pham CD, Amram O, Alcover KC, Oluwoye O, Bravo L, *et al*. Proximity to screening site, rurality, and neighborhood disadvantage: Treatment status among individuals with sexually transmitted infections in Yakima County, Washington. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17:2679. <https://doi.org/10.3390/ijerph17082679>
21. Panchanadeswaran S, Johnson SC, Mayer KH, Srikrishnan AK, Sivarani S, Zelaya CE, *et al*. Gender differences in the prevalence of sexually transmitted infections and genital symptoms in an urban setting in southern India. *Sex Transm Infect*. 2006;82:491-5. <https://doi.org/10.1136/sti.2006.020768>
22. Satterwhite CL, Torrone E, Meites E, Dunne EF, Mahajan R, Ocfemia MC, *et al*. Sexually transmitted infections among US women and men: Prevalence and incidence estimates, 2008. *Sex Transm Dis*. 2013;40:187-93. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e318286bb53>
23. Sonnenberg P, Clifton S, Beddows S, Field N, Soldan K, Tanton C, *et al*. Prevalence, risk factors, and uptake of interventions for sexually transmitted infections in Britain: Findings from the National Surveys of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal). *Lancet*. 2013;382:1795-806. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61947-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61947-9)
24. Dolan G, Chauhan M, Foster K, Basta M, Bushby S, White C, *et al*. Factors associated with repeat diagnosis of syphilis in genitourinary medicine (GUM) clinic attendees in the North East of England, 2002-2014. *Int J STD AIDS*. 2018;29:790-99. <https://doi.org/10.1177/0956462418757554>
25. López-de-Munain J, Cámara-Pérez MD, Imaz-Pérez M, Pereda-Berroeta J, López-Azcarreta I, Muñoz-Sánchez J, *et al*. *Chlamydia trachomatis* re-infection in Spain: A STI clinic-based cohort study. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017;35:165-73. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.08.011>

Artículo original

Características sociodemográficas y clínicas de la sífilis gestacional en Cali, 2018

Juliana Benítez¹, María Alejandra Yépez¹, Mauricio Hernández-Carrillo^{1,2}, Diana Milena Martínez³, Ángela Cubides-Munévar^{1,4}, Jorge Alirio Holguín-Ruiz^{5,6}, Martín Alonso Muñoz⁷

¹ Programa de Ginecología y Obstetricia, Universidad Libre, Cali, Colombia

² Posgrado en Ciencias Biomédicas y Psiquiatría, Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Libre, Cali, Colombia

⁴ Grupo de Investigación en Salud Pública, Fundación Universitaria San Martín, Cali, Colombia

⁵ Departamento de Salud Pública y Epidemiología, Pontificia Universidad Javeriana, Cali, Colombia

⁶ Área de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud Municipal de Cali, Cali, Colombia

⁷ Área de Vigilancia Epidemiológica, Secretaría de Salud Municipal de Cali, Cali, Colombia

Introducción. La sífilis gestacional se considera de interés en salud pública por las repercusiones que tiene en la madre y el hijo. Pese a tener protocolos para su notificación, diagnóstico y manejo, en Colombia se siguen evidenciando limitaciones en su control.

Objetivo. Describir las características sociodemográficas, clínicas y de distribución espacial de las pacientes con sífilis gestacional en Cali, Colombia, en el 2018.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio transversal con 427 casos de sífilis gestacional reportados al Sistema de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila). Para el procesamiento estadístico, se utilizó el programa R, versión 3.5.3. Las variables cualitativas se presentan como proporciones y, las cuantitativas, mediante medidas de tendencia central y dispersión. Para la distribución espacial, se usó el programa Qgis 3.0.

Resultados. La razón de sífilis gestacional fue de 17 casos por 1.000 vivos (incluidos los mortinatos). El 57,1 % de las pacientes pertenecía al régimen subsidiado de salud y el 16,6 % no estaba asegurado. El 90,4 % de los casos se diagnosticó durante el embarazo; el 47,2 % recibió tres dosis de penicilina y el 57,6 % de los contactos recibió tratamiento.

Conclusiones. La tasa de sífilis gestacional en Cali en el 2018 fue superior a la nacional y la enfermedad se presentó con mayor frecuencia en mujeres gestantes en condición de vulnerabilidad socioeconómica, lo que coincidió con la distribución espacial en general. Se evidenció la falta de oportunidad en la detección temprana y el manejo de la infección tanto en las pacientes como en sus contactos, lo cual dificulta el control de la enfermedad ya que refleja la inadecuada aplicación de la ruta integral de atención en salud materno-perinatal.

Palabras clave: sífilis congénita; sífilis latente; serodiagnóstico de la sífilis; sífilis/epidemiología; prevalencia; salud pública.

Sociodemographic and clinical characteristics of gestational syphilis in Cali, 2018

Introduction: Gestational syphilis is considered an event of public health interest given its impact on mother and child. In Colombia, despite having specific protocols for its notification, diagnosis, and management, there are still limitations in its control.

Objectives: To describe the sociodemographic and clinical characteristics, as well as the spatial distribution of gestational syphilis in Cali, Colombia, in 2018.

Materials and methods: We conducted a cross-sectional study of 427 gestational syphilis cases reported to the Colombian national epidemiological surveillance system (Sivigila). For the statistical processing, we used the R program, version 3.5.3. We expressed qualitative variables as proportions and quantitative ones through central tendency and dispersion measures, and to establish the spatial distribution we used the Qgis program, version 3.0.

Results: The prevalence of gestational syphilis was 17 cases per 1,000 live births (including stillbirths); 57.1% of patients belonged to the subsidized healthcare system and 16.6% had no health insurance; 90.4% of cases were diagnosed during pregnancy; 47.2% of the pregnant women received three doses of penicillin, yet only 57.6% of contacts were treated.

Conclusions: The prevalence of gestational syphilis in Cali during 2018 exceeded the national rate with a higher frequency among women in socioeconomic vulnerability conditions consistent with the general spatial distribution. There was a lack of opportunity in the early detection and management of the infection both among pregnant women and their contacts, which hinders the control of the disease and reflects the inadequate application of the comprehensive maternal and perinatal health care route guidelines.

Keywords: Syphilis, congenital; syphilis, latent; syphilis serodiagnosis; syphilis/epidemiology; prevalence; public health.

Recibido: 05/03/2021

Aceptado: 22/07/2021

Publicado: 28/07/2021

Citación:

Benítez J, Yépez MA, Hernández-Carrillo M, Martínez DM, Cubides-Munévar A, Holguín-Ruiz JA, *et al.* Características sociodemográficas y clínicas de la sífilis gestacional en Cali, 2018. *Biomédica.* 2021;41(Supl.2):140-52.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6003>

Correspondencia:

Juliana Benítez, Condominio Campestre La Morada, Casa 12-2, etapa 2, Manzana D, Jamundí, Valle del Cauca, Colombia
Teléfono: (301) 370 1378
julianabenitez@hotmail.com

Contribución de los autores:

Juliana Benítez y María Alejandra Yépez: elaboración del proyecto, análisis de datos y presentación de los resultados

Diana Milena Martínez: estructuración del proyecto y análisis de datos

Mauricio Hernández-Carrillo: metodología, procesamiento estadístico de la base de datos y generación de resultados

Ángela Cubides: interpretación de los resultados

Jairo Alirio Holguín: asesoría estadística

Martín Alonso Muñoz: organización de la base de datos

Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

Financiación:

No se recibió financiación para el estudio.

Conflicto de intereses:

Declaramos que no presentamos ningún conflicto de intereses.

La sífilis es una infección de transmisión sexual exclusiva del ser humano, producida por la bacteria *Treponema pallidum*, de la familia de las espiroquetas, la cual penetra el organismo a través de la piel o mucosas lesionadas. Representa un grave problema de salud pública, con una carga que supera los 12 millones de individuos a nivel global (1,2). Se calcula que alrededor de 1 a 2 millones de mujeres gestantes se infectan anualmente a nivel mundial y, entre 692.000 y 1'530.000, no reciben tratamiento (1,3).

La sífilis se conoce como la “gran simuladora” debido a la falta de especificidad y variedad de sus manifestaciones clínicas y se considera una infección sistémica crónica (4-6). Se transmite por vía sexual y de manera vertical a través de la placenta durante el embarazo, o por contacto del feto con lesiones activas de la madre en el canal del parto (6).

Las manifestaciones aparecen con la sífilis primaria; el 50 % de las pacientes cursan con chancro sifilítico en el sitio de inoculación, el cual se resuelve espontáneamente en tres a ocho semanas y suele pasar desapercibido, pues habitualmente se ubica en el interior de las mucosas (5,6). En la sífilis secundaria (90 % de las mujeres gestantes con sífilis), prevalecen las lesiones dermatológicas generalizadas de predominio maculopapular en forma de diana en palmas y plantas (5-7), las cuales desaparecen en dos a seis semanas y entran en periodo de latencia (silente y asintomática) (6). En este estadio de latencia, el objetivo del tratamiento es prevenir las complicaciones y la transmisión vertical (4,8,9).

Un tercio de los pacientes con sífilis no tratada puede progresar a sífilis terciaria, aproximadamente 3 a 15 años después de la infección inicial (4,6,7). Debido a las medidas de salud pública y a la lenta progresión de la enfermedad, no es frecuente encontrar el estadio avanzado en mujeres en edad fértil y embarazadas (6). El cuadro clínico incluye neurosífilis, enfermedad cardiovascular, lesiones infiltrativas en piel, huesos o vísceras y la clásica goma sifilítica (5,7).

El riesgo de transmisión transplacentaria de la sífilis materna primaria es del 70 % y, en casos de sífilis secundaria, del 90 al 100 % (4,6,7). Los resultados perinatales adversos se presentan en más de la mitad de las mujeres gestantes con enfermedad activa sin tratamiento, incluidos pérdida gestacional, muerte neonatal en 30 a 50 % de los casos, parto prematuro, retardo del crecimiento fetal grave, bajo peso al nacer y múltiples secuelas posnatales irreversibles, especialmente neurológicas, como retardo mental, hidrocefalia, ceguera y sordera (4,6,7). Sin tratamiento oportuno, la sífilis puede evolucionar a una enfermedad crónica, con complicaciones potencialmente graves (2), convirtiéndose en la segunda causa infecciosa más común de muerte fetal en el mundo, responsable del 50 % de los casos que se presentan anualmente (8). Además, constituye un factor de riesgo prevenible de morbilidad y mortalidad infantil (3).

Los *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) de Atlanta han reportado un incremento anual de la tasa de sífilis congénita en consonancia con la tendencia de la sífilis primaria y secundaria en la población general y en mujeres en edad reproductiva (9). En el 2017, los CDC reportaron en Estados Unidos la tasa más alta de sífilis congénita desde 1997, con 23,3 casos por 100.000 nacidos vivos (9).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha certificado la eliminación de la transmisión vertical en varios países. Sin embargo, se documentó un

ascenso en las tasas en la región de las Américas, de 307 casos en el 2012 a 339 casos por 100.000 nacidos vivos en el 2016 (3). En ese mismo año, en Colombia se reportó una proporción de sífilis congénita de 111 casos por 100.000 nacidos vivos. Se sabe que el control prenatal es una estrategia efectiva para el control de los casos y, aunque las estadísticas revelan una mayor cobertura del control prenatal, esta sigue estando por debajo de lo esperado en los últimos años (10).

En Colombia, se registraron 5.395 casos de sífilis gestacional en el 2018, con una razón de 8,3 por 1.000 nacidos vivos y muertos, siendo la población afrodescendiente la más afectada (11). En el Valle del Cauca, se estimó una razón de 12 casos por 1.000 nacidos vivos y muertos, que superó la registrada a nivel nacional (11).

En el 2006, se creó y reglamentó en Colombia el Sistema de Vigilancia en Salud Pública (Decreto 3518 de 2006), disposiciones que posteriormente se compilaron en el Decreto 780 del 2016. Desde entonces, se busca fortalecer el proceso de notificación, garantizar la recolección sistemática de la información sobre las condiciones que afectan la salud de la población y definir las acciones para mitigar los riesgos o daños al bienestar de la comunidad a partir de su análisis. Es el caso de la sífilis gestacional, definida como de notificación obligatoria e incluida en el plan de control de enfermedades a nivel nacional, el objetivo primordial es avanzar en el plan de eliminación de la sífilis congénita. Por otra parte, la Resolución 2338 de 2013 establece directrices para facilitar el acceso al diagnóstico de otras infecciones de transmisión sexual (ITS) que pueden estar relacionadas, o presentarse en concomitancia con la sífilis gestacional, con directrices para el entrenamiento en pruebas rápidas de sífilis y HIV, entre otras de este tipo de infecciones.

Previamente, se indicaba el uso de la prueba no treponémica para el diagnóstico de la sífilis en el control prenatal, pero hoy en día se utiliza la prueba treponémica. Desde el 2014, el Ministerio de Salud y Protección Social viene fortaleciendo los aspectos metodológicos y operativos para la mitigación y control de los casos de sífilis congénita, ajustando la definición de caso y la guía de práctica clínica; además, desde el 2018, se implementa la Ruta Integral De Atención en Salud Materno-Perinatal (RIAMP) con el acompañamiento del Instituto Nacional de Salud como ente responsable de la vigilancia (12).

Sin embargo, las cifras de sífilis gestacional en Colombia se incrementaron de 1,3 a 6,6 por 1.000 nacidos vivos entre el 2003 y el 2016, indicadores que se encuentran muy lejos de la meta establecida por la OMS, lo que afecta directamente la presentación de la sífilis congénita, pues se esperaba que para el 2021 se encontrara en alrededor de 0,5 casos o menos (incluidos mortinatos) por 1.000 nacidos vivos (13).

El panorama en el Valle del Cauca tampoco resulta alentador: según el reporte del análisis de situación integrado de salud de Santiago de Cali (ASIS) del 2017, entre las situaciones de interés en salud pública de mayor letalidad estuvo la sífilis congénita, con una incidencia de 2,9 en ese año en la ciudad (14).

Cali representa alrededor del 50 % del total de la población del Valle del Cauca y sus indicadores tienen un impacto importante a nivel departamental, por lo que se hace necesario describir las características sociodemográficas y clínicas, así como la distribución espacial de la sífilis gestacional en la ciudad en el 201, para determinar la distribución, la frecuencia y la magnitud de esta

enfermedad de interés en salud pública, y generar estrategias orientadas a minimizar su presencia y sus repercusiones en la madre y el feto.

Materiales y métodos

Se hizo un estudio observacional de corte transversal y se analizó la información contenida en la base de datos de nacidos vivos del área de estadística de la Secretaría de Salud Municipal de Cali, la cual es reportada por el DANE a partir de los datos ingresados en los certificados de nacimiento en la plataforma del Registro Único de Afiliados – Nacimientos y Defunciones (RUAF-ND). Se analizaron los datos del Sivigila correspondientes a los casos de sífilis gestacional registrados en Cali en la ficha de notificación nacional (código INS: 750, año 2015), teniendo en cuenta la definición de caso de sífilis gestacional del Instituto Nacional de Salud:

“[...] Toda mujer gestante, puérpera o con aborto en los últimos 40 días con o sin signos clínicos sugestivos de sífilis (por ejemplo: úlcera genital, erupción cutánea, placas en palmas y plantas), con prueba treponémica rápida positiva acompañada de una prueba no treponémica reactiva (VDRL, RPR) a cualquier dilución, que no ha recibido tratamiento adecuado para sífilis durante la presente gestación o que tiene una reinfección no tratada [...]” (2).

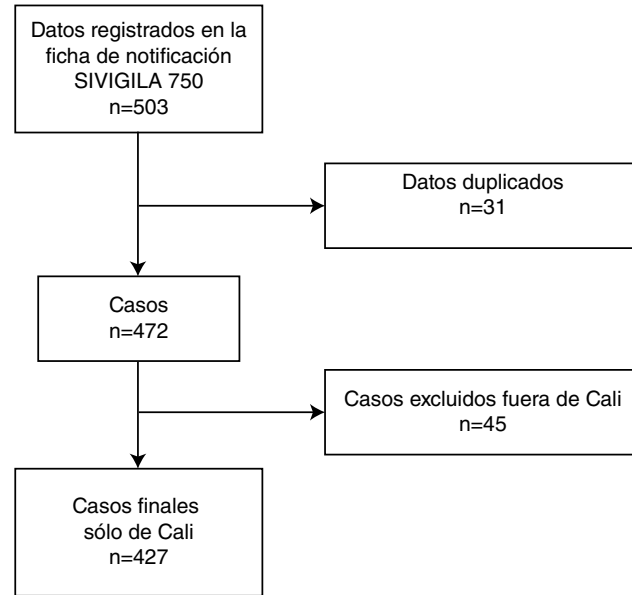
Con base en la meta de la OMS de alcanzar y mantener la tasa de sífilis congénita en alrededor de 0,5 casos o menos por 1.000 nacidos vivos, se revisaron y se analizaron los datos para comparar los resultados. Se revisaron los datos contenidos en el registro, y los casos presentados en el periodo de enero a diciembre del 2018 se agruparon por periodos epidemiológicos. La población objetivo estuvo conformada por todos los casos notificados a través de la ficha correspondiente entre las mujeres residentes en Cali; no se requirió muestreo, pues se utilizó toda la información disponible y se excluyeron los casos procedentes de otros municipios y aquellos con más del 10 % de registro incompleto de las variables de interés del estudio.

Se calculó la razón de la sífilis congénita en Cali en el 2018, se describieron las características sociodemográficas de dicha población (edad, comuna, tipo de régimen de salud, etnia y ocupación) y clínicas (estado gestacional de las pacientes en el momento del diagnóstico: embarazo, parto, puerperio o después del aborto), los datos sobre la prueba treponémica y no treponémica (si se practicó o no y la edad gestacional en el momento de la toma de la muestra), así como lo referente al tratamiento (dosis de penicilina recibidas y edad gestacional al iniciar el tratamiento). Los resultados por comuna (en las 22 comunas del municipio de Cali) se registraron mediante la distribución espacial utilizando el programa Qgis 3.0. Los datos faltantes sobre la dirección de residencia y la comuna se completaron con información contenida en otras bases de datos de la Secretaría de Salud Municipal de Cali (SISBEN, RIPS y nacimientos).

Para el procesamiento de los datos, se utilizó el programa R, versión 3.5.3, y para los cuadros y figuras, Excel, versión 2016.

Consideraciones éticas

El estudio se clasificó como de riesgo menor al mínimo al utilizar una fuente secundaria de datos. El uso de la base de datos fue autorizado por la Secretaría de Salud Municipal de Cali y el estudio fue avalado por el Comité de Ética Médica y Bioética de Investigación de la Universidad Libre – Seccional Cali (carta de aprobación: 19/09/2019), para garantizar el manejo adecuado y ético de la información.



Fuente: Sivigila Cali, 2018, Departamento de Estadística, Secretaría de Salud Municipal de Cali

Figura 1. Diagrama de flujo para la selección de los casos de sífilis gestacional en estudio, Cali, 2018

Resultados

Se revisaron 503 casos de sífilis gestacional registrados en Cali (Colombia), de los cuales se excluyeron 76 que no cumplían los criterios de inclusión (31 que estaban duplicados y otros 45 provenientes de municipios distintos a Cali), para un total de 427 casos definidos como población objeto de estudio (figura 1).

Se estimó una razón de sífilis congénita de 17 casos por 1.000 nacidos vivos para el 2018 en Cali, calculada a partir de los 427 casos de sífilis gestacional entre los 24.780 nacidos vivos en ese año (15). La frecuencia de la sífilis congénita fue mayor en los periodos epidemiológicos 3, 4 y 10, correspondientes a los meses de marzo, abril y septiembre, respectivamente.

En cuanto a la distribución según el régimen de seguridad social en salud, se encontró que la mayoría (57,1 %) de los casos de sífilis gestacional pertenecía al régimen subsidiado, seguido de la población pobre no asegurada (16,6 %), lo que evidenció que el 74 % de los casos diagnosticados se presentaron en población en condición de vulnerabilidad (cuadro 1). Con respecto a la etnia, cerca de 7 de cada 10 casos pertenecían a población mestiza (“otros” según la ficha de Sivigila) y aproximadamente uno de cada cuatro, a poblaciones especiales, destacándose la población afrocolombiana. La ocupación registrada que más predominó (72 %) fue la de ama de casa (cuadro 1). El promedio de edad correspondió a 28 años, con una desviación estándar de $\pm 6,4$ años, siendo el grupo de 20 a 34 años el más frecuente (68 %) (cuadro 1).

En Cali hay 22 comunas, según se observa en el mapa de la figura 2. Al evaluar la distribución espacial de la sífilis gestacional por comuna, se identificó que las tasas más altas se encontraron en las comunas 3, 21, 7, 14, 22, ubicándose por encima de los 26,8 casos por 1.000 nacidos vivos (figura 2). La comuna 3 reportó la tasa más alta, con 50,5 por 1.000 nacidos vivos,

seguida de la comuna 21, con 34,5 por 1.000 nacidos vivos, y la comuna 7, con 31,1 por 1.000 nacidos vivos. A estas 3 comunas les siguieron, en orden de frecuencia, las comunas 14, 22 y 13, con una tasa máxima de 28,3 por 1.000 nacidos vivos, y una menor, de 24,1 por 1.000 nacidos vivos

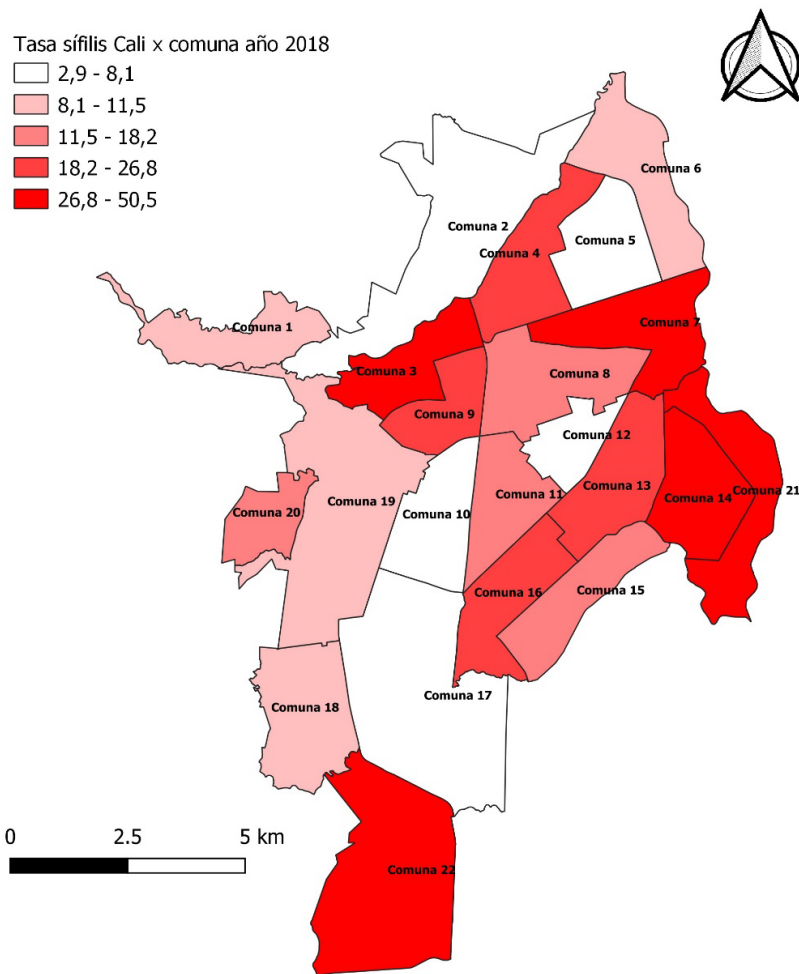
El 90,4 % de los casos se diagnosticó en el embarazo, el 5,4 %, en el momento del parto, el 2,6 %, en el puerperio, y el 1,6 %, después del aborto (cuadro 2). El 88,5 % de las pacientes tuvo control prenatal y el 54 % lo inició tempranamente (en el primer trimestre). El diagnóstico de sífilis congénita se hace de manera rutinaria con la prueba treponémica y en el estudio se estableció que, en el 8,4 % de los casos, no había registro de esta prueba (cuadro 2).

Cuadro 1. Características sociodemográficas de los casos de sífilis gestacional en Cali, 2018

Característica	n	%
Régimen de salud		
Subsidiado	244	57,1
Contributivo	112	26,2
No asegurado	71	16,6
Etnia		
Otros	307	71,9
Negro, mulato, afro,	115	26,9
Indígena	2	0,5
Raizal	2	0,5
Rom, gitano	1	0,2
Ocupación		
Ama de casa	309	72,3
Estudiante	36	8,7
Cesante	13	3,0
Empleado	68	16,0
Edad (años)		
<20	93	22,0
20-34	290	68,0
≥35	44	10,0
Media de edad (años)	DE	Rango
28	± 6,4	15-41
Frecuencia por comuna		
1	6	1,4
2	5	1,2
3	22	5,2
4	12	2,8
5	4	0,9
6	17	4,0
7	25	5,9
8	17	4,0
9	11	2,6
10	8	1,9
11	12	2,8
12	2	0,5
13	47	11,0
14	64	15,0
15	38	8,9
16	22	5,2
17	6	1,4
18	12	2,8
19	9	2,1
20	10	2,3
21	63	14,8
22	4	0,9

DE: desviación estándar

Fuente: Sivigila Cali, 2018, Departamento de Estadística, Secretaría de Salud Municipal de Cali



Fuente: Sivigila Cali, 2018, Departamento de Estadística, Secretaría de Salud Municipal de Cali

Figura 2. Distribución de casos de sífilis gestacional por comuna en Cali, 2018

Cuadro 2. Características clínicas de los casos de sífilis gestacional en Cali, 2018

Característica	n	%
Diagnóstico en el embarazo	386	90,4
Mujeres gestantes con CPN	378	88,5
Inicio de CPN en el primer trimestre	204	54,0
Mujeres gestantes con prueba treponémica	391	91,6
Mujeres gestantes con prueba no treponémica	412	96,5
Mujeres gestantes que recibieron tratamiento	402	94,1
Pacientes con 1 dosis de penicilina	198	49,3
Pacientes con 2 dosis de penicilina	14	3,5
Pacientes con 3 dosis de penicilina	190	47,2
Contactos de pacientes con sífilis que recibieron tratamiento	246	57,6

CPN: control prenatal

Fuente: Sivigila Cali, 2018, Departamento de Estadística, Secretaría de Salud Municipal de Cali

Se esperaba que el 100 % de las pacientes con prueba treponémica positiva registrara la prueba no treponémica como método de seguimiento. Sin embargo, en el 3,5 % de los casos no se encontró registro de esta. La frecuencia de la prueba no treponémica se reportó por trimestre: 42,5 % en el primero, 37,9 % en el segundo y 19,7 % en el tercero. En cuanto al tratamiento de las pacientes, se determinó que el 5,9 % no recibió tratamiento, como tampoco el 42,4 % de los contactos (cuadro 2).

Cuadro 3. Pacientes con sífilis gestacional que recibieron una dosis de penicilina, Cali, 2018

Dosis de penicilina	Estado de la paciente (n=198)	n (%)
Pacientes que recibieron una dosis	Embarazo	171 86,4
	Parto	16 8,1
	Puerperio	6 3,0
	Postaborto	5 2,5
Pacientes en embarazo que recibieron una dosis	Embarazo (n=171) (86,4 %)	100
	Sin dato sobre trimestre de CPN	14 8,1
	I trimestre	83 48,5
	II trimestre	61 35,6
	III trimestre	13 7,6

CPN: control prenatal

Fuente: Sivigila Cali, 2018, Departamento de Estadística, Secretaría de Salud Municipal de Cali

En el cuadro 3 se discriminan las pacientes con sífilis según su estado en el momento del diagnóstico: embarazo, parto, puerperio, o después de aborto; estas recibieron una dosis de penicilina y fueron en total 198 pacientes. El 86 % de ellas (n=171) se encontraba en estado de embarazo y 16 (8 %) recibieron una dosis de penicilina en el momento del parto. Además, de las 171 mujeres en estado de embarazo, 37 iniciaron el control prenatal entre el primer y segundo trimestres (entre las 12 y 13 semanas). La prueba treponémica fue tardía en 8 de estas 37 mujeres, entre las semanas 17 y 31, cuando se esperaba que se les hiciera en el momento de iniciar su respectivo control prenatal.

De las 171 mujeres gestantes, 83 iniciaron el control prenatal en el primer trimestre y únicamente recibieron una dosis de penicilina, es decir, el 51,5 % no recibió el tratamiento recomendado. El 57,6 % de los contactos de las gestantes con sífilis gestacional recibieron tratamiento.

Discusión

La razón de la sífilis gestacional en Colombia en el 2018 fue de 8,3 por 1.000 nacidos vivos (11), en tanto que, en Cali, fue de 17 casos por 1.000 nacidos vivos, lo que duplica la cifra nacional. Asimismo, el departamento del Valle del Cauca, junto con Arauca, Buenaventura, Quindío y Chocó, está entre las entidades territoriales con mayor prevalencia de sífilis gestacional (12,9 por 1.000) (11).

Se estableció que la mayoría de las pacientes estaba afiliada al sistema de seguridad social, bien fuera al régimen contributivo (26 %) o al subsidiado (57 %), para un total de población asegurada del 83 %, situación similar a la reportada por el Instituto Nacional de Salud, con cifras similares a nivel nacional sobre la presencia de esta enfermedad en las mujeres del régimen subsidiado (11). Galeano, *et al.*, reportaron una cifra similar en Cali en el 2010, con el 76,5 % de la población que contaba con afiliación al sistema de salud (16). En un estudio de la Universidad de Manizales llevado a cabo en el periodo de 2009 a 2013, se reportó que el 71 % de las pacientes pertenecía al régimen subsidiado, porcentaje semejante al del presente estudio, en tanto que la población en el régimen contributivo fue significativamente menor (15 %) en comparación con la de este estudio, aunque superó el porcentaje de población no asegurada (17).

Es evidente que el porcentaje de población asegurada es alto. Como han mencionado Ochoa, *et al.*, un factor determinante del estado de salud de la población es la atención sanitaria, en este caso, de las gestantes, cuyo acceso a los diferentes servicios de salud está a cargo de las entidades administradoras de planes de beneficios (EAPB) (18). Sin embargo, estas entidades optan por diferentes modelos de contratación de servicios con

las instituciones prestadoras de servicios de salud (IPS), por lo que las actividades de control prenatal resultan fragmentadas y obligan a “las mujeres a desplazarse a diferentes instituciones para acceder al diagnóstico, el tratamiento y la atención especializada” (18), con los consecuentes retrasos en la atención y un exceso de trámites que constituye una barrera administrativa (18). En el presente análisis, dichas barreras no se abordaron, por lo que se sugiere que se incluyan en futuros estudios.

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la tasa de transmisión vertical de sífilis en Brasil aumentó casi el doble entre el 2010 y el 2015, contribuyendo con el 85 % de los casos estimados en la región de las Américas para el 2015 (19). En los países suramericanos, se hace evidente la situación de vulnerabilidad y desigualdad producto de los factores sociales determinantes en salud, por lo que es comprensible que la ocupación prevalente entre las mujeres en el presente estudio haya sido la de ama de casa (72 %), en concordancia con los resultados del estudio de Gramazio, *et al.*, en Guarapuava, estado de Paraná, Brasil, en donde el 75 % de los 40 casos de mujeres con sífilis gestacional tenía dicha ocupación durante el 2014 (20). Las mismas similitudes se registraron en cuanto a la etnia, mayoritariamente mestiza en el presente estudio (71,9 %), así como en el de Galeano, *et al.* (16), y el de Padovani, *et al.*, en el estado de Paraná, Brasil, entre 2011 y 2015 (21).

En el presente estudio, se reportó una mayor frecuencia de sífilis gestacional en las mujeres entre los 20 y 34 años, con un 68 % del total de los casos. Al comparar los hallazgos con lo reportado por Gramazio, *et al.*, y Padovani, *et al.*, se encontró un comportamiento similar, con un 75 y un 67 %, respectivamente, de pacientes pertenecientes a este grupo etario en Brasil. En otros estudios, el grupo más afectado fue el de 18 a 24 años (16,22,23). Una quinta parte de las mujeres del estudio tenía menos de 20 años, lo que las convierte en un grupo de alto riesgo, pues se trata de las adolescentes, quienes tienden a iniciar su vida sexual cada vez más precozmente, sin la conciencia de la necesidad del uso de métodos de protección para prevenir tanto las infecciones de transmisión sexual como los embarazos no deseados (24). En otro estudio, Silva, *et al.*, encontraron, además, que las pacientes menores de 18 años presentaban tres veces más riesgo de falla en el tratamiento para la sífilis (23), lo que sugiere que la enfermedad es más frecuente en la población joven, pues en estas edades hay mayor exposición.

Al establecer la distribución espacial, se evidenció que las tasas más altas de sífilis gestacional se encontraron en las comunas 3, 21 y 7, ubicadas al oriente de la ciudad, donde reside una población de gran vulnerabilidad socioeconómica, con predominio de los estratos bajos, con un estrato moda de 1 y 3 (25), lo cual coincide con los hallazgos de Galeano, *et al.*, quienes reportaron en su estudio que el 93 % de los casos pertenecía a estratos bajos (1 y 2) (16). En la comuna 3 se registró la tasa más alta de sífilis gestacional, lo cual podría estar relacionado con su ubicación en el centro de la ciudad, donde predominan las trabajadoras sexuales, el empleo informal y la drogadicción, características sociales que fomentan conductas sexuales de riesgo. Por otra parte, la comuna 22 (estrato moda 6 según Cali en Cifras, 2018) registró una tasa alta (27,5 por 1.000 nacidos vivos) de sífilis gestacional, lo cual concuerda con los hallazgos de Padovani, *et al.*, e indica que, aunque el riesgo de contraerla es mayor en la población vulnerable, cualquiera puede infectarse independientemente de su condición socioeconómica (21).

En cuanto a las características clínicas, la mayoría de los diagnósticos se estableció durante el embarazo (control prenatal), al igual que lo registrado por Padovani, *et al.*, en Brasil, con un 78 % de casos diagnosticados durante la gestación, 12 % en el parto o después de un aborto y 9 % en el puerperio (21). Por el contrario, en Argentina, Silva, *et al.*, reportaron mayor número de diagnósticos en el puerperio (62,3 %), en tanto que solo el 37,7 % se diagnosticó en el embarazo (23).

En cuanto al control prenatal, solo el 88,5 % asistió a estas citas, lo cual evidencia la falta de protección de un porcentaje importante de la población gestante, en coherencia con las cifras de población pobre no asegurada, y constituye un obstáculo en el cumplimiento de la cobertura universal en salud que el país se ha planteado (26,27). En general, lo reportado en la ficha de notificación tanto a nivel local como nacional, indica que el número de mujeres sin control prenatal es considerable, por lo que se requiere una intervención gubernamental inmediata, así este hallazgo no sea generalizable a toda la población gestante. Los hallazgos de Padovani, *et al.*, en Brasil fueron similares, con un 78 % de cobertura de control prenatal (21), en tanto que Galeano, *et al.*, encontraron una tasa de cobertura aún menor en Cali (58,2 %) (16).

Aunque las pruebas treponémica y no treponémica se practicaron a más del 90 % de las pacientes, lo estipulado es que el 100 % de las pacientes tenga ambas pruebas. Además, las pruebas se hicieron tardíamente, entre el segundo y el tercer trimestres, hallazgo que podría corresponder a la falta de cumplimiento del protocolo de atención, también reportada en Brasil por Gramazio, *et al.*, lo que naturalmente genera subregistro y, en últimas, se convierte en un obstáculo para la vigilancia epidemiológica (20). Otra explicación podría ser la inasistencia de las pacientes o un contagio tardío de la infección.

También, hubo un porcentaje de pacientes que no contó con la prueba treponémica pero sí con la no treponémica, lo que podría deberse a una falta de cumplimiento o al desconocimiento del nuevo protocolo por parte de algunos profesionales de la salud, quienes seguirían aplicando guías antiguas sin tener en cuenta los cambios en las directrices para el diagnóstico y el tratamiento.

De cualquier manera, sigue habiendo casos en los que no se detecta tempranamente la infección y, por lo tanto, se retrasa su tratamiento. En la gran mayoría de casos, tampoco se obtuvieron los datos del trimestre en el que se administró el tratamiento a las gestantes, es decir, el diligenciamiento de la ficha de notificación fue incompleto.

Los datos de Colombia en el 2018 revelaron que la mayoría de las pacientes recibió tres dosis de penicilina (11); en Cali, el 47,2 % de las pacientes recibió las tres dosis y el 49,3 %, una. Sin embargo, con estos datos no es posible determinar la clasificación del estadio de la sífilis y si el tratamiento fue pertinente, pues se trata de una limitación propia de la ficha de notificación.

En lo que concierne a los contactos, poco más de la mitad recibió tratamiento, lo que concuerda con las cifras del reporte nacional del 2018 (11) y refleja una falta de oportunidad en la detección temprana y el tratamiento de la infección, tanto en las mujeres gestantes como en sus contactos. Esto dificulta el control de la enfermedad y refleja una inadecuada aplicación de la ruta integral de atención en salud materno-perinatal. En muchos de los estudios llevados a cabo hasta el momento, se constató el mismo comportamiento: Amador, *et al.*, en Montería, Córdoba, documentaron que

el 69 % de los contactos no habían sido tratados, al igual que en Caldas, Manizales (70,2 %), según lo reportado por Agudelo, *et al.*, y en Brasil, por Padovani, *et al.*, (64 %) y Gramazio, *et al.*, (47,5 %) (17,20-22). Padovani, *et al.*, reportaron los motivos por los cuales los contactos no recibieron tratamiento, entre ellos, la interrupción de la relación de la paciente con su compañero sexual, el resultado negativo de la prueba no treponémica del contacto o la inasistencia a la cita para hacérsela (21). En este sentido, como lo mencionan Agudelo, *et al.*, en su estudio en Manizales, el diagnóstico y el tratamiento se ven entorpecidos por las reinfecciones en las gestantes, lo que guarda relación con la “falta de supervisión del tratamiento a la pareja y la falla en la educación en autocuidado de la salud” (17). Actualmente, la guía colombiana propone el tratamiento inmediato para los contactos, sin necesidad de prueba, para mejorar el cumplimiento y la oportunidad en el tratamiento. Sin embargo, resultaría pertinente implementar las pruebas no treponémicas de seguimiento para los contactos, con el fin de hacerles un seguimiento más estricto, pues es una población de alto riesgo que queda a la deriva, lo que se interpone al adecuado control y reducción de las tasas de infección. Todo esto nos ubica aún lejos de la meta de 0,5 casos, o menos, por 1.000 nacidos vivos fijada para el 2021.

Los resultados obtenidos por otros investigadores a nivel nacional e internacional y las estadísticas, invitan a reflexionar sobre la creación de estrategias para “invertir en entrenamiento y capacitación en el diagnóstico y el manejo de la sífilis gestacional y la congénita, en el uso adecuado de la penicilina, utilización de las pruebas de diagnóstico rápido y su control de calidad, en el tratamiento de los contactos y en la forma de notificar los casos” (17,23). Es fundamental seguir adecuadamente la ruta materno-perinatal establecida en la guía, y fomentar la integralidad y la oportunidad en la atención de las mujeres gestantes, así como promover el adecuado diligenciamiento de la historia clínica, con el fin de tener un registro de rápido acceso con los antecedentes de las pacientes, especialmente en los casos en que son atendidas en múltiples centros a lo largo de su embarazo, lo cual se presenta con relativa frecuencia.

Por otra parte, se recomienda ajustar la ficha de notificación epidemiológica para establecer en qué fecha exacta se hizo el diagnóstico de la sífilis gestacional (fecha de la prueba treponémica), en qué momento se tomó la prueba no treponémica y en qué fechas se administraron las dosis de penicilina, así como la fecha de inicio del control prenatal, con lo cual se podrían detectar retrasos en la atención que servirían de insumo para futuras intervenciones que corrijan dichas falencias.

Una fortaleza del estudio fue utilizar una base de datos proveniente del ente territorial encargado de la vigilancia epidemiológica de la enfermedad, además de contar con un protocolo nacional e información para comparar con las estadísticas nacionales e internacionales. Entre las limitaciones, están las posibles deficiencias en el diligenciamiento de la información contenida en la ficha, específicamente sobre variables, como el momento de inicio del tratamiento de las pacientes, y datos sociodemográficos, como la dirección y comuna de residencia, lo cual condiciona la calidad de los datos y podría influir en los resultados.

Agradecimientos

A la Secretaría de Salud Municipal de Cali por su colaboración, la cual fue fundamental para la realización de este estudio.

Referencias

1. Cruz-Aconcha AR. Situación de la sífilis gestacional y congénita en Colombia, un desafío al Sistema General de Seguridad Social en Salud. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2012;63:304-7. <https://doi.org/10.18597/rcog.133>
2. Sabogal AL. Protocolo de vigilancia en salud pública: sífilis gestacional y congénita. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Salud; 2017. p. 1-17. Fecha de consulta: 12 de febrero de 2020. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Lineamientos/PRO%20Sífilis_.pdf
3. Korenromp EL, Rowley J, Alonso M, Mello MB, Wijesooriya NS, Mahiané SG, *et al.* Global burden of maternal and congenital syphilis and associated adverse birth outcomes—Estimates for 2016 and progress since 2012. *PLoS ONE.* 2019;14:1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211720>
4. Peeling RW, Hook III EW. The pathogenesis of syphilis: The Great Mimicker, revisited. *J Pathol.* 2006;208:224-32. <https://doi.org/10.1002/path.1903>
5. Carlson JA, Dabiri G, Cribier B, Sell S. The immunopathobiology of syphilis: The manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity. *Am J Dermatopathol.* 2011;33:433-60. <https://doi.org/10.1097/DAD.0b013e3181e8b587>
6. Tsimis ME, Sheffield JS. Update on syphilis and pregnancy. *Birth Defects Res.* 2017;109:347-52. <https://doi.org/10.1002/bdra.23562>
7. De Santis M, De Luca C, Mappa I, Spagnuolo T, Licameli A, Straface G, *et al.* Syphilis infection during pregnancy: Fetal risks and clinical management. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2012;2012:1-5. <https://doi.org/10.1155/2012/430585>
8. Arnesen L, Martínez G, Mainero L, Serruya S, Durán P. Gestational syphilis and stillbirth in Latin America and the Caribbean. *Int J Gynecol Obstet.* 2015;128:241-5. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2014.09.017>
9. Workowski KA, Bolan GA, Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2015;64:1-137.
10. Castellanos LG, Ghidinelli M, Kurtis H, Mello MB, Pérez F, Roper AM, *et al.* ETMI-PLUS: marco para la eliminación de la transmisión materno-infantil del VIH, la sífilis, la hepatitis y la enfermedad de Chagas. Washington, D.C.: Organización Panamericana de la Salud; 2017. p. 1-30. Fecha de consulta: 9 de diciembre de 2019. Disponible en: <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2017/2017-cha-etmi-plus-marco-vih-hep-chagas.pdf>
11. Sabogal AL. Informe de sífilis gestacional periodo epidemiológico XIII - 2018. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Salud; 2018. Fecha de consulta: 1 de abril de 2019. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/SIF%C3%8DLIS%20GESTACIONAL%20Y%20CONG%C3%89NITA_2018.pdf
12. Ministerio de Salud y Protección Social. Lineamiento técnico y operativo de la Ruta Integral de Atención en Salud Materno Perinatal. Bogotá, D.C.: Minsalud; 2017.
13. ONUSIDA. Avanzando hacia las metas 2020: Progreso en América Latina y el Caribe. 2019. Fecha de consulta: 13 de junio de 2021. Disponible en: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/73659-1.pdf>
14. Mora CP, Duque S, Perlaza G, Faride M, Martínez G, Holguín J. Análisis de Situación Integrado de Salud (ASIS) de Santiago de Cali - Año 2017. Cali: Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali; 2017. p. 1-134.
15. Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali. Estadísticas Vitales. Cali: Secretaría de Salud Pública Municipal de Cali; 2018. Fecha de consulta: 17 de septiembre de 2019.
16. Galeano CL, García WD, Congote LM, Vélez MA, Martínez DM. Prevalencia de sífilis gestacional e incidencia de sífilis congénita, Cali, Colombia, 2010. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2012;63:321-6. <https://doi.org/https://doi.org/10.18597/rcog.136>
17. Agudelo RD, Medina MC, Cardona D. Caracterización de la sífilis congénita y gestacional en Caldas, Colombia. *Arch Med (Manizales).* 2016;16:326-34. <https://doi.org/10.30554/archmed.16.2.1736.2016>
18. Ochoa MT, Gaitán HG, Caicedo S, Gómez B, Pérez F. Introducción de pruebas rápidas para sífilis y VIH en el control prenatal en Colombia: análisis cualitativo. *Rev Panam Salud Pública.* 2016;40:462-7.

19. Alonso M, Mello M. Elimination of mother-to-child transmission of HIV and syphilis in the Americas: Update 2016. Washington, D.C.; PAHO: 2017. p. 1-62. Fecha de consulta: 8 de diciembre de 2019. Disponible en: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/34072/9789275119556-eng.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
20. Gramazio L, Zarpellon B, Gramazio L, Baratieri T, Lentsck MH, de Azevedo V. Gestational and congenital syphilis: Maternal, neonatal characteristics and outcome of cases. *Rev Bras Saúde Matern Infant.* 2017;17:781-9. <https://doi.org/10.1590/1806-93042017000400010>
21. Padovani C, Rosseto de Oliveira R, Pelloso SM. Syphilis during pregnancy: Association of maternal and perinatal characteristics in a region of southern Brazil. *Rev Latino-Am Enfermagem.* 2018;26:1-10. <https://doi.org/10.1590/1518-8345.2305.3019>
22. Amador C, Lavalle MH, Chamorro MV. Sífilis gestacional: enfermedad de interés en salud pública, Córdoba-Colombia, 2015. *Rev Cuid.* 2017;8:1449-58. <https://doi.org/10.15649/cuidarte.v8i1.350>
23. Silva AM, Bois F, Duro E. Factores asociados con falla en el diagnóstico y tratamiento de sífilis materna. *Medicina Infantil.* 2016;XXIII:293-8.
24. Panosso de Freitas E, Dell Agnolo CM, Borges L, Pelloso SM, Bercini LO, Harumi I. Percepção de adolescentes sobre a prática sexual na adolescência. *Revista de Psicologia da Criança e do Adolescente.* 2014;5:139-49.
25. Escobar G, Perilla DM. Cali en cifras 2018-2019. Cali: Departamento Administrativo de Planeación, Alcaldía de Santiago de Cali; 2019.
26. Páez GN, Jaramillo LF, Franco C, Arregoces L, Bardey D, Ortiz JL, *et al.* Estudio sobre el modo de gestionar la salud en Colombia. Bogotá, D.C.: Ministerio de Salud y Protección Social; 2015. Fecha de consulta: 5 de noviembre de 2019. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/AS/gestionar%20la%20salud%20en%20Colombia.pdf>
27. Garcés JP, Rubiano LC, Orobio Y, Castaño M, Benavides E, Cruz A. La educación del personal de salud: clave para la eliminación de la sífilis congénita en Colombia. *Biomédica.* 2017;37:416-24. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i3.3397>

Original article

Prevalence of intestinal parasites in a cohort of HIV-infected patients from Antioquia, Colombia

Jorge Botero-Garcés^{1,2}, Esteban Villegas-Arbeláez¹, Sofía Giraldo¹, Johanna Urán-Velásquez^{2,3}, Laura Arias-Agudelo³, Juan Carlos Alzate-Ángel^{1,4}, Gisela María García-Montoya⁵, Ana Luz Galván-Díaz⁶

¹ Unidad de Investigación Clínica, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia

² Grupo de Parasitología, Facultad de Medicina, Corporación Académica para el Estudio de las Patologías Tropicales, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

³ Centro Nacional de Secuenciación Genómica, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

⁴ Unidad de Micología Médica y Experimental, Corporación para Investigaciones Biológicas-Universidad de Santander, Medellín, Colombia.

⁵ Grupo Pediaciencias, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

⁶ Grupo de Microbiología Ambiental, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Introduction: HIV infection is still a public health problem worldwide and co-infections with other infectious agents including intestinal parasites are of particular concern, mainly in developing countries like Colombia.

Objective: To conduct a cross-sectional study in patients attending an HIV care program in Antioquia given that there have been few intestinal parasites prevalence studies among the HIV population in the country.

Material and methods: We evaluated stool samples from 192 patients by direct wet mount and concentration, modified Ziehl Neelsen staining, and agar plate culture. Univariate and correlation analyses were done to explore the association between socio-demographic and clinical characteristics and parasitological data.

Results: The overall prevalence of intestinal parasites in HIV-positive subjects was 29.2% (56/192; 95% CI: 22.8% - 35.6%). *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii* with 13.0% (25/192; 95% CI: 8.2% - 17.8%) and *Blastocystis* with 12.0% (23/192; 95% CI: 7.4% - 16.6%) were the most frequent. Opportunistic parasites like *Cryptosporidium* spp. and *Cystoisospora belli* were less prevalent, each one with 0.5% of positive samples (1/192; 95% CI: 0.1% - 1.5%). Commensal protozoa were also detected with a prevalence of 18.8% (36/192; 95% CI: 13.3% - 24.3%). Most of the individuals in the study had a controlled viral load and an LTCD4 count greater than 200 cel/μL. A small percentage (9.3%) had diarrhea. Bivariate analysis and multivariate logistic regression showed that only age and having pets had a significant association with intestinal parasites in this cohort.

Conclusions: Our results confirmed that the evaluated population is at high risk of intestinal parasite infection, which highlights the need for routine screening of gastrointestinal parasites to provide prompt treatment and reduce possible complications.

Keywords: Intestinal diseases, parasitic; HIV; AIDS-related opportunistic infections; diarrhea; prevalence; Colombia.

Prevalencia de parásitos intestinales en una cohorte de pacientes positivos para HIV en Antioquia, Colombia

Introducción. La infección por HIV y las coinfecciones con otros agentes infecciosos, incluidos los parásitos intestinales, son motivo de especial preocupación en países en desarrollo como Colombia.

Objetivo. Hacer un estudio global de parásitos intestinales en pacientes que asisten a un programa de atención de HIV en el departamento de Antioquia, dado que los estudios de prevalencia de parásitos intestinales en la población con HIV son escasos en el país.

Materiales y métodos. Se evaluaron 192 muestras de materia fecal mediante examen coprológico directo y por concentración, tinción de Ziehl-Neelsen modificada, y aislamiento en agar. Se hicieron análisis univariados y de correlación, para explorar la asociación entre las características sociodemográficas y clínicas, y los datos parasitológicos.

Resultados. La prevalencia global de parásitos intestinales en pacientes positivos para VIH fue del 29.2 % (56/192; IC_{95%} 22.8-35.6 %), siendo *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii*, con 13.0 % (25/192; IC_{95%} 8.2-17.8 %), y *Blastocystis*, con 12.0 % (23/192; IC_{95%} 7.4-16.6 %), los más frecuentes. Los parásitos oportunistas *Cryptosporidium* spp. y *Cystoisospora belli* fueron menos prevalentes, cada uno con 0.5 % (1/192; IC_{95%} 0.1-1.5 %) de muestras positivas. También, se detectaron protozoos comensales, con una prevalencia

Received: 31/01/2021

Accepted: 26/07/2021

Published: 27/07/2021

Citation:

Botero JH, Villegas-Arbeláez E, Giraldo S, Urán-Velásquez J, Arias-Agudelo L, Alzate JC, et al. Prevalence of intestinal parasites in a cohort of HIV-infected patients from Antioquia, Colombia. Biomédica. 2021;41(Supl.2):153-64.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5992>

Corresponding author:

Ana Luz Galván-Díaz, Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Calle 67 N° 53-108, Ciudad Universitaria, bloque 5-410, Medellín, Colombia
Teléfono: (574) 219 5495
ana.galvan@udea.edu.co

Author contributions:

Jorge Botero, Juan Carlos Alzate and Gisela María García-Montoya: study formulation and design
Esteban Villegas and Sofía Giraldo: patient care
Johanna Urán-Velásquez and Laura Arias-Agudelo: parasitological analysis
Ana Luz Galván: study formulation, design and coordination
All authors contributed to data gathering and analysis and manuscript drafting.

Funding:

This work was supported by the Colombian Ministry of Science, Technology and Innovation through a Colciencias grant in 2017 (Project ID 1115-777-57608).

Conflicts of interest:

The authors declare no conflict of interest.

del 18,8 % (36/192; IC_{95%} 13,3-24,3 %). La mayoría de los individuos tenía una carga viral controlada y un recuento de linfocitos T CD4 superior a 200 células/ μ l. Un pequeño porcentaje (9,3 %) presentó diarrea. La edad y el tener mascotas mostraron una asociación significativa con la presencia de parásitos intestinales.

Conclusión. Se confirmó que la población evaluada tiene un alto riesgo de infección por parásitos intestinales, lo que resalta la necesidad de un protocolo de diagnóstico para el cribado de dichos agentes, con el fin de brindar un tratamiento rápido y reducir las posibles complicaciones.

Palabras clave: parasitosis intestinales; VIH; infecciones oportunistas relacionadas con el sida; prevalencia; diarrea; Colombia.

The human immunodeficiency virus (HIV) is the etiological agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and causes dysregulation of the immune system killing CD4 T lymphocytes, which predisposes sufferers to opportunistic infections (1). Such co-infections are associated with severe clinical symptoms that are usually unnoticed or mild in healthy patients and whose treatment is a challenge due to the difficulties regarding a successful scheme. Co-infections of HIV and parasites including intestinal protozoa and helminths are of particular concern, mainly in low-income areas where they can be major causes of death among AIDS patients (2).

Intestinal parasites are still a public health problem worldwide, particularly in third-world countries like Colombia, where inadequate sanitary conditions facilitate their transmission. Several intestinal helminths and protozoa affect humans causing a wide range of symptoms, among them diarrhea, abdominal pain, weight loss, and malnutrition, whose severity also depends on demographic, socio-economic, physiological conditions, and immunological status (3).

According to the estimates of the *Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo*, there are 109,056 people living with HIV in the country with a prevalence in adults of 0.23%. Despite the advances in antiretroviral therapy and diagnostic techniques, 50% of newly diagnosed people are detected in stage 3 of the infection (4). Additionally, the national survey of intestinal parasitism in Colombia, 2012-2014, estimated a national prevalence of soil-transmitted helminths of 29.6%, *Trichuris trichiura* (18.4%) being the most frequent followed by *Ascaris lumbricoides* (11.3%), and hookworms (6.4%). Regarding protozoans, this survey reports a prevalence of 60.3%, *Blastocystis* sp. (57,6%), *Giardia intestinalis* (15,4%), and *Entamoeba histolytica/disparl moshkovskii* (12.9%) being the most frequent (5). These data confirm the high risk of parasite infection in the Colombian population.

Given the spread of HIV in Colombia, people living with this disease could be coinfecting with parasites; however, recent prevalence studies (less than ten years old) among the HIV population are scarce in the country (6). In this context, our objective was to determine the prevalence of gastrointestinal parasitic infections among a cohort of HIV patients attending a care program at the *Corporación para Investigaciones Biológicas* (CIB) in Medellín, Colombia. We also evaluated associated socio-demographic factors. This information would widen the knowledge of the epidemiology of parasitic infections in this group of patients.

Materials and methods

Characterization of patients and study site

Participants were both male and female with a confirmed HIV/AIDS diagnosis according to the clinical practice guidelines of the Colombian

Ministry of Health. They had not used antiparasitic drugs in the previous six months and were followed up at the specialized assistance service (SAE) program for patients living with HIV at CIB in Medellín and other municipalities of Antioquia between May 2018 and April 2019.

Study design, sample size, and sampling

We conducted a cross-sectional study. The sample size was 222 individuals calculated using the statistical software Epidat 4.0, with a 95% level of confidence ($z = 1.96$), a confidence interval precision of 5%, and a prevalence of intestinal parasites of 21.4% for HIV patients from Medellín (7). Patients were selected from the CIB HIV patient care program database using a simple random sampling technique. The recruitment period went from May 2018 to April 2019.

We weighed the total sample size (222) against the number of patients contributed by subregion (stratum) and then carried out a simple random sampling within each stratum. The patients were randomly selected from the database mentioned above and then invited to meet the researchers to clarify the study objectives and resolve their doubts. Individuals who agreed to participate in the study signed the informed consent and answered a socio-epidemiological survey to gather the data on their gender, age, type of residence, water supply, sewerage system, hand washing, clinical status, CD4+ T-cell count, viral load, Anti-Retroviral Treatment (ART), and HIV infection status following the World Health Organization (WHO) guidelines. Patients were instructed on how to collect their stool samples and received screw-capped containers identified with a sample number.

We recruited 204 patients who completed the clinical-epidemiological survey, but only 192 of the samples had the size needed for the parasitological analyses (figure 1). Fecal samples were stored, further processed, and analyzed in the parasitology laboratory at *Universidad de Antioquia*.

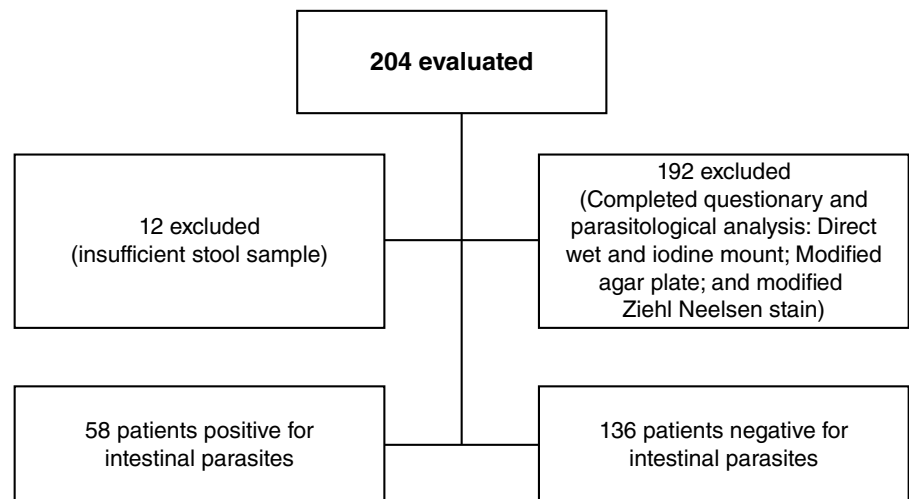


Figure 1. Participation in a survey on HIV and intestinal parasites co-infection in a cohort regularly attending an HIV care program, CIB, Medellín, Colombia

Techniques for the parasitological diagnosis of fecal samples

We collected a stool sample from each participant on the day of their medical appointment. Each fresh stool specimen was processed using the following methods:

1. Direct saline and iodine wet mounts using a commercial sedimentation kit (Mini Parasep SFSolvent Free™, Diasys) for the diagnosis of protozoa and helminths; the total amount of sediment obtained in the concentration was evaluated (8).
2. Modified agar plate was used for *Strongyloides stercoralis* detection (8), and
3. the Ziehl-Neelsen stain method was used for intestinal apicomplexa detection (*Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora belli*, and *Cyclospora cayetanensis*) (8)

Two stained slides of each sample were prepared and examined by two analysts.

Statistical analysis

Statistical analyses of the epidemiologic, clinical, and parasitological data were performed using the Statistical Package for the Social Sciences™ (SPSS) (version 25, SPSS Inc., Chicago, Illinois) software. Overall socio-demographic and clinical characteristics, as well as specific prevalence, were calculated using descriptive statistics through frequencies and cross-tabulations. The bivariate association of parasitic infections with the independent variables was calculated using t test (student), chi-square, or Fisher's exact tests, and associations using multivariate logistic regression analysis; 95% confidence intervals (CI) and $p < 0.05$ were considered statistically significant.

Ethical considerations

The study protocol was approved by the institutional review board of the CIB ethics committee (approval number 19-06–760). Participants were contacted by the researchers who explained the study objectives, procedures, and potential risks. Interested individuals provided written informed consent and, in the case of minors, their parents did. Antiparasitic drugs (albendazole, ivermectin, trimethoprim-sulfamethoxazole, and/or tinidazole) were offered for free to all participants found infected with protozoans and/or helminths through local health care institutions.

Results

Baseline characteristics of participants

A total of 204 volunteers were enrolled with a confirmed diagnosis of HIV. Except for one patient, all were receiving some ART regime. The sex ratio (M/F) was approximately 2:1 and 68.6% (95%CI: 62.2% - 75.0%) were men; the average age (\pm SD) was 48.6 (\pm 11.7) years ranging from 13 to 80 years; 179 individuals, i.e., 87.7% (179/204; 95%CI: 83.2% - 92.2%) lived in urban areas. Only 9.3% (19/204; 95%CI: 5.3% - 13.3%) of the patients had diarrhea, 13 of them, acute (1-14 days duration), four, chronic diarrhea (> 30 days), and two, subacute diarrhea (15-30 days).

Table 1. Immunological status of the evaluated patients

Immunological status	n (%; 95%CI)
LTCD4+ count	
≤200	26 (12.7; 8.1 to 17.3)
201-499	79 (38.7; 32.0 to 45.4)
≥500	99 (48.6; 41.7 to 55.5)
Total	204 (100)
Viral load	
Controlled (<50 copies/ml)	169 (82.9; 77.7 to 88.1)
Low viremia (50-200 copies/ml)	8 (3.9; 1.2 to 6.6)
Virological failure (>200copies/ml)	27 (13.2; 8.6 to 17.8)
Total	204 (100)

Table 2. Frequency of the types of intestinal parasitism

Parasite type	n (%; 95%CI)
Potentially pathogenic and comensal	27 (14.1; 9.2 to 19.0)
Potentially pathogenic only	18 (9.4; 5.3 to 13.5)
Comensal only	9 (4.7; 1.7 to 7.7)
Opportunistic only	2 (1.0; 0.1 to 2.4)
Negative	136 (70.8; 64.4 to 77.2)
Total	192

Table 1 shows the viral load values and LTCD4+ count. Most of the patients had LTCD4 counts over 200 cel/μL (178/204; 87.3%; 95%CI: 82.7% - 91.9%); we collected stool samples from 94.1% (192/204) of the participants for the parasitological analysis (figure 1).

Prevalence of intestinal parasites

The overall prevalence of intestinal parasites in HIV-positive subjects was 29.2% (56/192; 95%CI: 22.8% - 35.6%). Potentially pathogenic parasites in the cohort (9.4%; 95%CI: 5.3% - 13.5%) were more frequent than commensal parasites (4.7%; 95%CI: 1.7% - 7.7%) while opportunistic parasites were the least common (1.0%; 95%CI: 0.1% - 2.4%). Six different species of potentially pathogenic intestinal parasites were identified with the following order of prevalence: *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii*, 13.0% (25/192; 95%CI: 8.2 - 17.8); *Blastocystis*, 12.0% (23/192; 95%CI: 7.4% - 16.6%), and *Cystoisospora belli* (1/192), *Cryptosporidium* spp. (1/192), *Strongyloides stercoralis* (1/192), and *Trichuris trichiura* (1/192), all with 0.5% (95%CI: 0.1% - 1.5%). The global prevalence of commensal parasites was 18.8% (36/192; 95%CI: 13.3% - 24.3%) and only *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, *Endolimax nana*, and *Iodamoeba butschlii* were found (table 2).

Multiparasitism

As mentioned, the prevalence of intestinal parasite infections among the HIV-positive patients was 29.2%. Single-species infections were the most common with 97.4% (187/192; 95%CI: 95.1% - 99.7%) while 2.6% (5/192; 95%CI: 0.35% - 4.9%) were infections by two species: *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii* and *Blastocystis*.

Socio-demographic and clinical characteristics, environmental variables, and laboratory profile

We analyzed these parameters along with the intestinal parasite prevalence. In the bivariate analysis, no statistically significant association was found with gender, residence, diarrhea, type of diarrhea, LTCD4 count, or viral load category (table 3). Furthermore, there was no evidence of an association between intestinal parasitism and occupation, marital and educational status,

the habit of washing before meals, water supply, and feces consistency (data not shown). However, age and having pets showed a significant association (table 3).

After adjusting for socio-demographic, clinical, and immunological characteristics and potentially confounding variables using multivariate logistic regression, these variables were still significantly associated with intestinal parasitosis. Odds ratio (OR) adjusted by age and the 95% CI were near one (1) (table 4).

Table 3. Distribution of socio-demographic, clinical, and immunological parameters according to parasitism

Parameter	Intestinal parasite		DP (95%CI)	p
	Positive	Negative		
Patients, n (%): 192 (100)	56 (29.2)	136 (70.8)		
Gender, n (%)				
Male	44 (78.6)	88 (64.7)	-0.8 to 27.5	0.06
Female	12 (21.4)	48 (35.3)		
Residence, n (%)				
Urban	46 (82.1)	122 (89.7)	-37.5 to 8.9	0.150
Rural	10 (17.9)	14 (11.3)		
Pet owners, n (%)				
Yes	33 (60.0)	53 (39.3)	4.6 to 32.1	0.009
No	22 (40.0)	82 (60.7)		
Diarrhea, n (%)				
Yes	7 (14.9)	12 (8.3)	-11.8 to 39.2	0.187
No	40 (85.1)	133 (91.7)		
Diarrhea condition, n (%)				
Acute	8 (88.9)	5 (50.0)	-16.2 to 99.2	0.098
Subacute	1 (11.1)	1 (10.0)		
Chronic	0 (0.0)	4 (40.0)		
Receiving ART, n (%)				
Yes	56 (100)	135 (99.3)	-2.4 to 61.0	0.978
No	0 (0.0)	1 (0.7)		
Mean age (years), X ± SD	52.6 ± 10.0	47.1 ± 10.1	5.6** (2.6 to 9.0)	0.001*
Viral load, X ± SD	230.9 ± 813.1	3394.9 ± 16008.7	3164** (-1064.5 to 7392.4)	0.492*
Viral load category, n (%)				
Controlled	48 (85.7)	112 (82.4)	-25.9 to 19.2	0.851
Low viremia	2 (3.6)	6 (4.4)		
Virological failure	6 (10.7)	18 (13.2)		
LTCD4+ category, n (%)				
≤ 200	2 (4.3)	23 (15.9)	-33.8 to 4.1	0.121
201-499	20 (42.5)	55 (37.9)		
≥ 500	25 (53.2)	67 (46.2)		

DP: difference of proportions

*: t Student test

** : Difference of means

Table 4. Multivariate analysis of the association between socio-demographic, environmental, and clinical parameters in relation to intestinal parasites prevalence

Parameter	β coefficient	OR raw	Adjusted OR	95% CI	p
Age	0.05	-	1.05	1.01 to 1.09	0.008
Sex	0.54	2.0	1.71	0.78 to 3.7	0.18
Residence	0.52	1.8	1.68	0.65 to 4.3	0.281
Having pets	1.07	2.3	2.90	1.4 to 6.0	0.003
Diarrhea	0.61	1.9	1.84	0.64 to 5.3	0.257
LTCD4 category					
≥500	-	-	-	-	-
200-499	-0.84	1.02	0.43	0.133 to 1.4	0.162
<200	0.21	4.1	1.23	0.60 to 2.5	0.571
Viral load					0.954
Controlled					-
Low viremia	0.08	1.3	1.08	0.23 to 7.2	0.89
Viral failure	0.25	1.2	1.02	0.37 to 3.2	0.772

Discussion

Intestinal parasitic infections are one of the most common health problems in patients with HIV/AIDS. The immunodeficiency associated with this virus favors the development of moderate to severe, sometimes fatal, infections, which are generally asymptomatic or mild in an immunocompetent host. Recent data on the prevalence of opportunistic/nonopportunistic intestinal parasites in the HIV/AIDS population are scarce in Colombia.

The aim of this work was to study the presence of enteroparasites in a cohort of HIV/AIDS patients from Antioquia including its capital city, Medellín.

The overall prevalence of intestinal parasites (29.2%) was lower than that reported by other authors in the HIV population in Colombia. Flórez, *et al.* (9) reported a prevalence of intestinal parasites of 59.1% in HIV-infected patients from Bogotá, and Botero, *et al.*, described a prevalence of 32.43% (3) and 39.8% (10) in immunocompromised individuals (acute and chronic myeloid leukaemia, HIV, and other immunodeficiencies), and HIV patients from Medellín, respectively.

It is important to highlight that most of the patients evaluated in these studies showed intestinal symptoms including chronic diarrhea, which increases the probability of parasite detection; in our cohort, however, only 9.3% of the patients reported this symptom. In the Latin American context, prevalence studies conducted in Brazil have reported HIV patients data that have remained similar in the last 20 years: 28.9% in 1996 (11) and 28.88% in 2018 (12). Other countries have reported remarkably high parasitic infection rates with prevalences of 67.9% and 73.1% in some areas of Venezuela (13) and Perú (14), respectively.

Among the intestinal parasites detected in the HIV population in our study, *Entamoeba histolytica/dispar/moshkovskii* and *Blastocystis* were the most frequent, which agrees with the results obtained by Flórez, *et al.* (9) who also described these parasites as the most common in HIV patients from different hospitals in Bogotá, with prevalences of 25.2% and 13% for *Blastocystis* and *E.histolytica/dispar/moshkovskii*, respectively. Botero, *et al.* (3,10) also reported *E.histolytica/dispar/moshkovskii* as one of the most frequent parasites in immunocompromised patients from Medellín, most of them HIV-positive individuals.

Among the *Entamoeba* species infecting humans, *E. histolytica* is so far the only one associated with amoebiasis, one of the most problematic parasitic infections worldwide, particularly in poor communities from developing countries, resulting in severe conditions such as amebic colitis and amebic liver abscess and even in fatal cases (15). The impact of HIV infection on amoebiasis occurrence remains controversial. Several studies have shown an increased prevalence of *E. histolytica* infection among HIV-positive patients in México, China, South Africa, and Ethiopia (16-19). However, most of these countries are considered endemic for amoebiasis, i.e., there is a high risk of infection for their population including those with HIV.

Blastocystis is one of the most frequent intestinal protists in humans; its prevalence is even higher than that of the other protists commonly reported in man (20). In Colombia, the national survey of intestinal parasitism revealed *Blastocystis* as the most prevalent intestinal protist among the children evaluated with 52.1% of positive individuals, which exceeds the prevalence

for the *Entamoeba* complex species (*E.histolytica/ dispar/moshkovskii*) with 17% (5). Thought to have a commensal relationship with humans initially, the results and observations from different studies have shown that *Blastocystis* is a potentially pathogenic parasite associated with a variety of intestinal symptoms including watery diarrhea, abdominal pain, flatulence, nausea, vomiting, and constipation, among others (21). The prevalence of *Blastocystis* infection worldwide is high in HIV/AIDS patients, although data are limited. In a study by Fontanelli, et al. (22), *Blastocystis* infection was common in HIV-positive patients on ART with a prevalence of 25% and homosexual behavior represented a risk factor for its transmission while CD4 count and viremia did not correlate with the presence of this protist. The only symptom associated with *Blastocystis* was flatulence.

Diarrhea caused by opportunistic intestinal protozoa is a common problem in HIV patients with *C. belli* and several species of *Cryptosporidium* among the most frequent pathogens responsible for significant morbidity and mortality in them (23,24). However, in our study, there was a low infection frequency by these protozoa with a 0.5% prevalence for each parasite. Data from Colombia on *Cryptosporidium* prevalence in HIV patients varies ranging from 2.5 to 51.4% (3,6,9,10,25-28). Although molecular methods (namely PCR) have shown great sensitivity for *Cryptosporidium* detection allowing species identification, most of the studies in the HIV population in Colombia are based on staining techniques. Therefore, the variability in prevalence values in the country may be related more to the clinical, immunological, and virological conditions of the patients than to the diagnostic techniques used. In the case of *C. belli*, studies have registered prevalences between 1.9 and 7.9% in our country (10,25,29).

Data from a global systematic review and meta-analysis on the opportunistic protozoa infection in HIV patients worldwide showed a prevalence of *Cryptosporidium* ranging from 0 to 78.1% and from 0.2 to 26.9% for *C. belli* (24). In Latin America and the Caribbean, the estimated pooled prevalence was 13% (95%CI: 7.3–18.7%) and 0.8% (4/436; 95%CI: 0–2.0%) for *Cryptosporidium* spp. and *C. belli*, respectively (24). Additionally, a meta-regression analysis showed that patients with diarrhea may be a source of heterogeneity (24).

As previously mentioned, in our study, only a small percentage of the patients had intestinal symptoms, which can explain the data reported. Another factor that may be associated with the low prevalence of these protozoa was that most of the patients had CD4+ T cell counts over 200 cel/μL (178/204; 87.3%; 95%CI: 82.7 - 91.9%). Opportunistic parasites are most common in HIV patients with a CD4+ T cell count below 200 cells/μL resulting in chronic diarrhea, extraintestinal localizations, and death (23,24).

Regarding helminths, only *T. trichiura* and *S. stercoralis* were detected in our study with a 0.5% prevalence each. These are soil-transmitted nematodes frequent in tropical and subtropical areas from developing countries. *Strongyloides stercoralis* is considered an opportunistic parasite in immunocompromised individuals who are at risk of developing complicated strongyloidiasis when the cell-mediated immunity is altered (30). Some studies have shown an increased risk of *S. stercoralis* infection in HIV-positive individuals compared to HIV-negative ones (31,32) and a meta-analysis of case-control studies found that the risk for HIV/AIDS patients was twice as high as that for individuals without HIV/AIDS (30). However, HIV infection is

mainly associated with local intestinal strongyloidiasis and rarely progresses to disseminated disease, a condition with high morbidity and mortality (30,33), probably associated with the modulation of the immune system by HIV, which increases TH2 cytokines and decreases TH1 ones favoring intracellular microorganism infections rather than helminthic infections (30).

Among the risk factors evaluated in our study, only age and having pets showed a significant association with intestinal parasitic infection. Zoonotic enteric parasites are ubiquitous and remain a public health threat to humans due to their close contact with domestic and wild animals (34). Intestinal parasites such as *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis*, and *Giardia* have animal hosts that facilitate their human transmission; in this sense, several studies have shown an important role of domestic animals as reservoirs in the transmission of numerous enteroparasites (9,35,36). In our study, all the patients evaluated were adults (over 18 years old) and, on average, the parasitized individuals were older than those non-parasitized, which was statistically significant. These differences could be related to the immunosenescence that occurs with age and the decreased response to infectious agents, i.e., bacteria, viruses, fungi, and parasites, in older people (37).

The introduction of the highly active antiretroviral therapy (HAART) as the main treatment for HIV has led to a reduction in infections frequency including those caused by enteroparasites and has improved the clinical and laboratory outcomes of the patients (38). In our study, most of the subjects were under HAART treatment, so their viremia was controlled, and we found no statistically significant association between the presence of parasites and these variables. Adherence to HAART treatment has become crucial in the clinical and public health management of HIV infection.

A cross-sectional study in HIV-infected children under antiretrovirals treatment in Cameroon determined that long-term HAART decreased the chances of intestinal parasite infection (39). Zorbozan, *et al.* (40) investigated the presence of intestinal protozoa in HIV-positive patients with gastrointestinal complaints and found that the duration of antiretroviral treatment was significantly higher in non-infected patients suggesting an important role of this therapy in the reduction of the risk of intestinal parasitic infection. Taye, *et al.* also found that the magnitude of intestinal parasitic infection was slightly higher in ART-naïve HIV-positive individuals than HIV-positive patients on ART (41).

Our study found an intestinal parasite prevalence of 29.2% in a cohort of HIV-positive patients, the protists *Blastocystis* spp. and *E.histolytica/dispar/moshchovskii* being the most frequent. Opportunistic protozoa like *Cryptosporidium* and *C.belli* had a low frequency, which could be related to the normal CD4+ counts of most of these patients. A strength of the study was the use of different techniques for the intestinal parasite diagnosis including the sedimentation protocol and modified agar plate, which increased the detection sensitivity for protozoa helminths and nematode larvae, respectively. Additionally, modified Ziehl Neelsen staining allowed the identification of intestinal apicomplexa including *Cryptosporidium* spp. DNA from samples of our study is available for future analysis to compare the performance of conventional and molecular techniques and give information about circulating species and genotypes contributing to the intestinal parasite molecular epidemiology in the population evaluated.

Considering that several regions of Colombia are at high risk of intestinal parasite infection, routine screening for gastrointestinal parasites in HIV patients should be implemented to contribute to their proper management. Additionally, we should emphasize that despite the appropriate virologic control, patients with HIV continue to have parasitic infections, especially in low-income countries. These infections, specifically helminths infections, can be detrimental to the human host thus increasing the susceptibility to coinfections and reducing vaccine response. On account of these data and our results, we think it is necessary to further study the factors associated with these coinfections and their effects on the chronic response to HIV.

Acknowledgments

We thank the CIB care program for people living with HIV and the medical staff that attended the patients.

References

1. Nwosu FC, Avershina E, Wilson R, Rudi K. Gut microbiota in HIV infection: Implication for disease progression and management. *Gastroenterol Res Pract.* 2014;2014:1-6. <https://doi.org/10.1155/2014/803185>
2. Tian L-G, Wang T-P, Lv S, Wang F-F, Guo J, Yin X-M, *et al.* HIV and intestinal parasite co-infections among a Chinese population: An immunological profile. *Infect Dis Poverty.* 2013;2:18. <https://doi.org/10.1186/2049-9957-2-18>
3. Botero JH, Castaño A, Montoya MN, Ocampo NE, Hurtado MI, Lopera MM. A preliminary study of the prevalence of intestinal parasites in immunocompromised patients with and without gastrointestinal manifestations. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2003;4:197-200. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652003000400004>
4. Valbuena AM, Ramírez PX, Castillo JC, Trujillo SJ. Situación del VIH Sida en Colombia 2019. Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo. Cuenta Alto Costo. Consulted: Oct 30 2020. Available from: <https://cuentadealtocosto.org/site/wp-content/uploads/2020/08/VIH2019.pdf>.
5. Ministerio de Salud y Protección Social, Universidad de Antioquia. Encuesta Nacional de Parasitismo Intestinal en Población Escolar, Colombia, 2012-2014. 2015. p. 1-174. Accessed on: October 30, 2020. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/encuesta-nacional-de-parasitismo-2012-2014.pdf>
6. Agudelo-González S, Murcia-Sánchez F, Salinas D, Osorio J. Infecciones oportunistas en pacientes con VIH en el hospital universitario de Neiva, Colombia. 2007-2012. *Infectio.* 2015;19:52-9. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2014.11.008>
7. Navarro-i-Martínez L, Da Silva AJ, Botero-Garcés JH, Montoya-Palacio MN, Del Águila C, Bornay-LLinaires FJ. Cryptosporidiosis in HIV-positive patients from Medellín, Colombia. *J Eukaryot Microbiol.* 2006;53(Suppl.1):S37-9. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2006.00167.x>
8. García LS, Arrowood M, Kokoskin E, Paltridge GP, Pillai DR, Procop GW, *et al.* Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Laboratory diagnosis of parasites from the gastrointestinal tract. *Clin Microbiol Rev.* 2018;31. <https://doi.org/10.1128/CMR.00025-17>
9. Flórez AC, García DA, Moncada L, Beltrán M. Prevalence of microsporidia and other intestinal parasites in patients with HIV infection, Bogotá, 2001. *Biomédica.* 2003;23:274-82. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v23i3.1221>
10. Botero JH, Montoya MN, Vanegas AL, Díaz A, Navarro-i-Martínez L, Izquierdo F, *et al.* Frecuencia de microsporidiosis intestinal en pacientes positivos para VIH mediante las técnicas de Gram cromotopo rápido y PCR. *Biomédica.* 2004;24:375. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v24i4.1287>
11. Costa-Cruz JM, Ferreira MS, Rossin IR. Intestinal parasites in AIDS and +HIV patients in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91:685-6. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000600004>
12. Barcelos NB, Silva L de F e, Dias RFG, Menezes Filho HR de, Rodrigues RM. Opportunistic and non-opportunistic intestinal parasites in HIV/ AIDS patients in relation to their clinical and epidemiological status in a specialized medical service in Goiás, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2018;60:1-9. <https://doi.org/10.1590/s1678-9946201860013>

13. Rivero-Rodríguez Z, Hernández A, Bracho Á, Salazar S, Villalobos R. Prevalencia de microsporidios intestinales y otros enteroparásitos en pacientes VIH positivos de Maracaibo, Venezuela. *Biomédica*. 2013;33:538-45. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.1468>
14. Silva-Díaz H, Failoc-Rojas VE. Frequency and etiology of enteroparasitosis in patients with human immunodeficiency virus at a hospital of Lambayeque, Perú. *Rev Habanera Ciencias Médicas*. 2019;18:418-27.
15. Shirley D-AT, Farr L, Watanabe K, Moonah S. A Review of the global burden, new diagnostics, and current therapeutics for amebiasis. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5:ofy161. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy161>
16. Moran P, Ramos F, Ramiro M, Curiel O, González E, Valadez A, et al. *Entamoeba histolytica* and/or *Entamoeba dispar*: Infection frequency in HIV+/AIDS patients in México city. *Exp Parasitol*. 2005;110:331-4. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2005.03.023>
17. Samie A, Barrett LJ, Bessong PO, Ramalivhana JN, Mavhandu LG, Njayou M, et al. Seroprevalence of *Entamoeba histolytica* in the context of HIV and AIDS: The case of Vhembe district, in South Africa's Limpopo province. *Ann Trop Med Parasitol*. 2010;104:55-63. <https://doi.org/10.1179/136485910X12607012373911>
18. Cheng X, Tachibana H, Chen Y, Zhang Y, Yang B, Qi T, et al. Seroprevalence of *Entamoeba histolytica* infection in HIV-infected patients in China. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77:825-8. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.11-0626>
19. Abdollahi A, Saffar HH, Saffar HH, Sheikhabahaei S, Rasoulinejad M. Is the evaluation of *Entamoeba histolytica* infection in HIV-positive patients of any clinical significance? *Acta Med Iran*. 2015;53:46-50.
20. Skotarczak B. Genetic diversity and pathogenicity of Blastocystis. *Ann Agric Environ Med*. 2018;25:411-6. <https://doi.org/10.26444/aaem/81315>
21. Kumarasamy V, Anbazhagan D, Subramaniyan V, Vellasamy S. Blastocystis sp., Parasite associated with gastrointestinal disorders: An overview of its pathogenesis, immune modulation, and therapeutic strategies. *Curr Pharm Des*. 2018;24:3172-5. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180807101536>
22. Fontanelli-Sulekova L, Gabrielli S, Furzi F, Milardi GL, Biliotti E, De Angelis M, et al. Molecular characterization of Blastocystis subtypes in HIV-positive patients and evaluation of risk factors for colonization. *BMC Infect Dis*. 2019;19:876. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4537-7>
23. Laksemi DA, Suwanti LT, Mufasirin M, Suastika K, Sudarmaja M. Opportunistic parasitic infections in patients with human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome: A review. *Vet World*. 2020;13:716-25. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.716-725>
24. Wang Z-D, Liu Q, Liu H-H, Li S, Zhang L, Zhao Y-K, et al. Prevalence of *Cryptosporidium*, microsporidia and *Isospora* infection in HIV-infected people: A global systematic review and meta-analysis. *Parasit Vectors*. 2018;11:28. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2558-x>
25. Arzuza O, Arroyo B, Villegas S, Rocha A, Díaz H. Infecciones parasitarias intestinales en pacientes positivos para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en la ciudad de Cartagena de Indias, Colombia. *Infectio*. 2003;7:58-63.
26. Siuffi M, Angulo M, Velasco CA, López P, Dueñas VH, Rojas C. Relación entre los niveles de carga viral y los niveles de linfocitos CD4 en el diagnóstico de *Cryptosporidium* spp. en heces de niños de la Clínica pediátrica de VIH/SIDA del Hospital Universitario del Valle, Cali, Colombia. *Colomb Med*. 2006;37:15-20. <https://doi.org/10.25100/cm.v37i1.407>
27. Velasco CA, Méndez F, López P. Cryptosporidiosis in Colombian children with HIV/AIDS infection. *Colomb Med*. 2011;42:1-13. <https://doi.org/10.25100/cm.v42i4.942>
28. Montúfar Andrade F, Quiroga A, Builes C, Saldarriaga C, Aguilar C, Mesa M, et al. Epidemiología de la infección por el virus de inmunodeficiencia humana en pacientes hospitalizados en una institución de alta complejidad y enseñanza universitaria en Medellín, Colombia. *Infectio*. 2016;20:9-16. <https://doi.org/10.1016/j.infect.2015.05.004>
29. López MC, Moneada LI, Murcia MI, Saravia J, Nicholls RS. Frecuencia de parásitos intestinales en pacientes VIH+ en la ciudad de Santa Fe de Bogotá. *Rev Fac Med*. 1999;47:9-12.
30. Schär F, Trostorf U, Giardina F, Khieu V, Muth S, Marti H, et al. *Strongyloides stercoralis*: Global distribution and risk factors. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7:e2288. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002288>

31. Feitosa G, Bandeira AC, Sampaio DP, Badaró R, Brites C. High prevalence of giardiasis and strongyloidiasis among HIV-infected patients in Bahia, Brazil. *Brazilian J Infect Dis.* 2001;5:339-44. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702001000600008>
32. Pinlaor S, Mootsikapun P, Pinlaor P, Pipitgool V, Tuangnadee R. Detection of opportunistic and non-opportunistic intestinal parasites and liver flukes in HIV-positive and HIV-negative subjects. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2005;36:841-5.
33. Aru RG, Chilcutt BM, Butt S, DeShazo RD. Novel findings in HIV, immune reconstitution disease and *Strongyloides stercoralis* infection. *Am J Med Sci.* 2017;353:593-6. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2016.05.021>
34. Barnes AN, Davaasuren A, Baasandagva U, Gray GC. A systematic review of zoonotic enteric parasitic diseases among nomadic and pastoral people. *PLoS ONE.* 2017;12:e0188809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188809>
35. Harvey TV, Tang AM, da Paixao Sevá A, Albano dos Santos C, Santos Carvalho SM, Magalhães da Rocha CMB, *et al.* Enteric parasitic infections in children and dogs in resource-poor communities in northeastern Brazil: Identifying priority prevention and control areas. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14:e0008378. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008378>
36. Lowenstein C, Vasco K, Sarzosa S, Salinas L, Torres A, Perry MJ, *et al.* Determinants of childhood zoonotic enteric infections in a semirural community of Quito, Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.* 2020;102:1269-78. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0690>
37. Witkowski JM, Bryl E, Fulop T. Should we try to alleviate immunosenescence and inflammaging - Why, how, and to what extent? *Curr Pharm Des.* 2019;25:4154-62. <https://doi.org/10.2174/138161282566619111153016>
38. Suleiman BA, Yahaya M, Olaniyan FA, Sule AG, Sufiyan MB. Determinants of health-related quality of life among human immunodeficiency virus-positive (HIV-positive) patients at Ahmadu Bello University teaching hospital, Zaria, Nigeria- 2015. *BMC Public Health.* 2020;20:531. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-08659-9>
39. Abange WB, Nkenfou CN, Gonsu-Kamga H, Nguedia CA, Kamgaing N, Lozupone C, *et al.* Intestinal parasites infections among HIV infected children under antiretrovirals treatment in Yaounde, Cameroon. *J Trop Pediatr.* 2020;66:178-86. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmz048>
40. Zorbozan O, Quliyeva G, Tunali V, Ozbilgin A, Turgay N, Gokengin AD. Intestinal protozoa in HIV-infected patients: A retrospective analysis. *Turkish J Parasitol.* 2018;42:187-90. <https://doi.org/10.5152/tpd.2018.5835>
41. Taye B, Desta K, Ejigu S, Dori GU. The magnitude and risk factors of intestinal parasitic infection in relation to human immunodeficiency virus infection and immune status, at ALERT Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *Parasitol Int.* 2014;63:550-6. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2014.02.002>

Artículo original

Distribución y caracterización fenotípica y genotípica de *Listeria monocytogenes* en aislamientos de alimentos, Colombia, 2010-2018

Ana Isabel Muñoz, Edna Catering Rodríguez

Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos, INVIMA, Bogotá, D.C., Colombia

Introducción. *Listeria monocytogenes* es un patógeno transmitido por alimentos que causa infecciones en humanos, entre ellas, meningitis, meningoencefalitis y septicemias, así como abortos. Con la tipificación serológica se han identificado 13 serotipos, siendo el 4b el causante de la mayoría de los brotes en el mundo.

Objetivo. Determinar la frecuencia y la distribución de los serotipos y subtipos moleculares de *L. monocytogenes* aislados de alimentos en Colombia entre el 2010 y el 2018.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo y retrospectivo a partir del análisis de 2.420 aislamientos que fueron identificados como *L. monocytogenes* y otras especies, por medio de pruebas bioquímicas, serológicas y de subtipificación molecular mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).

Resultados. De los 2.420 aislamientos recibidos, 2.326 fueron confirmados como *L. monocytogenes*. Los serotipos encontrados fueron: 4b (52 %), 4d-4e (14,5 %), 1/2a (11 %), 1/2c (9,4 %), 1/2b (9 %), y 3a, 3b, 3c, 4c, 4d, 4e y 7 (menos de 2 %). Procedían de Bogotá (43 %), Antioquia (25 %), Valle (10 %), Nariño (9 %) y otros departamentos (7 %). La caracterización genotípica agrupó los aislamientos evaluados en 167 patrones de PFGE; los perfiles más frecuentes se presentaron en productos lácteos, cárnicos y alimentos preparados.

Conclusión. El 96,1 % de los aislamientos correspondieron a *L. monocytogenes*, con una buena concordancia entre el aislamiento y la identificación; el serotipo 4b, extremadamente virulento, fue el más frecuente. El análisis molecular evidenció la posible diseminación y permanencia en el tiempo de varios serotipos, lo que resalta la importancia de incluir este patógeno en los programas de vigilancia epidemiológica en alimentos.

Palabras clave: *Listeria monocytogenes*; enfermedades transmitidas por alimentos; electroforesis en gel de campo pulsado.

Distribution and phenotypic and genotypic characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from food, Colombia, 2010-2018

Introduction: *Listeria monocytogenes* is a food-borne pathogen that may cause infections in humans such as meningitis, meningoencephalitis, and septicemia, as well as abortions. By serological typing 13 serotypes have been identified of which 4b is responsible for most of the outbreaks in the world.

Objective: To determine the frequency and distribution of serotypes and molecular subtypes of *L. monocytogenes* isolated in Colombia from food from 2010 to 2018.

Materials and methods: We conducted a retrospective and descriptive study based on the analysis of 2,420 isolates confirmed as *L. monocytogenes* and other species using biochemical and serological tests, and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) for molecular subtyping.

Results: Of the 2,420 isolates received, 2,326 were confirmed as *L. monocytogenes*. The serotypes found were 4b (52%), 4d-4e (14.5%), 1/2a (11%), 1/2c (9.4%), 1/2b (9%), and 3a, 3b, 3c, 4c, 4d, 4e and 7 (less than 2%). The isolates came from Bogotá (43%), Antioquia (25%), Valle (10%), Nariño (9%), and other departments (7%). The genotypic characterization grouped the isolates in 167 PFGE patterns. The most frequent patterns were identified in various dairy and meat products, and in prepared foods.

Conclusion: A 96.1% of the isolates corresponded to *L. monocytogenes* showing good agreement between isolates and identification. Serotype 4b, highly virulent, was the most frequent. The molecular analysis showed the possible dissemination and permanence over time of several serotypes, which highlights the importance of including this pathogen in epidemiological food surveillance programs.

Keywords: *Listeria monocytogenes*; foodborne diseases; electrophoresis, gel, pulsed-field.

Recibido: 24/05/2021
Aceptado: 02/08/2021
Publicado: 03/08/2021

Citación:

Muñoz AI, Rodríguez EC. Distribución y caracterización fenotípica y genotípica de *Listeria monocytogenes* en aislamientos de alimentos, Colombia, 2010-2018. Biomédica. 2021;41(Supl.2):165-79.
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6152>

Correspondencia:

Ana Isabel Muñoz, Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos-INVIMA, Carrera 10 N° 64-28, Bogotá, D.C., Colombia
Teléfono: (310) 270 2147
anisabel2001@yahoo.com

Contribución de los autores:

Ana Isabel Muñoz realizó el diseño del estudio y la elaboración del manuscrito, la producción de antisueros factoriales de *Listeria* spp., la caracterización fenotípica, la emisión de resultados y el análisis de ellos; el diseño del tamaño de la muestra y el muestreo aleatorio de los aislamientos de *Listeria monocytogenes* para análisis de PFGE.

Edna Catering Rodríguez estandarizó la metodología de PFGE en *Listeria monocytogenes* y participó en la elaboración del manuscrito.

Financiación:

Este estudio fue financiado por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos como parte de sus actividades misionales.

Conflicto de intereses:

Las autoras declaramos que no hubo ningún conflicto de intereses durante la realización del trabajo.

El género *Listeria* está conformado por bacterias Gram positivas con un bajo contenido de G+C (1). Hasta 1984, se incluían en él seis especies (1): *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, *L. grayi* y *L. ivanovii* (2-6). En el 2009, se describieron otras dos especies: *L. rocourtiae* y *L. marthii* (7-8), y posteriormente, se reconocieron nueve más: *L. aquatica*, *L. cornellensis*, *L. floridensis*, *L. grandensis*, *L. riparia*, *L. booriae*, *L. newyorkensis*, *L. fleischmannii* y *L. weihenstephanensis* (9-12). Recientemente, mediante estudios filogenéticos y a partir de la información de la secuencia genómica completa, se identificaron las siguientes nuevas especies: *L. costaricensis*, *L. goaensis*, *L. thailandensis*, *L. valentina*, *L. cossartiae*, *L. farberi*, *L. immoviles*, *L. portnoyi* y *L. rustica* (13-17).

Listeria monocytogenes se considera una especie patógena para los humanos y los animales, y *L. ivanovii*, para los animales (1). No obstante, existen reportes de listeriosis humanas ocasionadas por *L. ivanovi* y *L. innocua* (1,18,19). *L. monocytogenes* es un microorganismo ubicuo, facultativo, intracelular y oportunista, que causa graves infecciones en humanos y animales (1). Su principal ruta de transmisión es el consumo de alimentos contaminados (20). Tiene la capacidad de adaptarse a condiciones extremas, lo que permite su supervivencia en la cadena de producción de una gran variedad de alimentos de origen animal y vegetal (20,21). Puede ocasionar grandes pérdidas económicas en la industria a nivel nacional e internacional, dada la obligación de retirar del mercado los alimentos contaminados con el microorganismo (22,23).

Este patógeno causa infecciones sistémicas graves, como meningitis, meningoencefalitis, encefalitis y septicemia (1,20,24-26). La diseminación bacteriana subclínica puede causar endocarditis, e infecciones cutáneas, osteoarticulares o de las vías biliares (24). Además, las infecciones de la madre y del recién nacido pueden producir aborto espontáneo, meningitis, septicemia neonatal e, incluso, la muerte fetal (1,20,24-27).

Listeria monocytogenes ocupa el tercer lugar como agente etiológico causante de meningitis neonatal, con una letalidad de hasta el 60 % (27). Las mujeres embarazadas tienen diez veces más probabilidades de contraer infecciones por listeriosis que otras personas (25).

A pesar de que la listeriosis continúa siendo una enfermedad poco frecuente, con una morbilidad baja comparada con otras enfermedades transmitidas por alimentos, la mortalidad por esta causa está entre el 20 y el 30 % (1,23,26,28), y en el 95 % de los casos requiere hospitalización (28).

En el mundo se han reportado muchos brotes de listeriosis humana asociados con diferentes tipos de alimentos, como quesos y otros derivados lácteos, frutas (melones), productos cárnicos, mariscos y pescados ahumados (20,29-36).

Para identificar las cepas de *L. monocytogenes*, se utilizan diferentes métodos fenotípicos como las pruebas bioquímicas de identificación y confirmación de especies (37); y la de tipificación serológica, muy útil para determinar los serotipos mediante el esquema de Paterson. Esta metodología, que fue modificada por Seeliger y Höhne (38,39) y aún está vigente, ha permitido caracterizar 13 serotipos de la especie: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e y 7 (1,23,26,28,38,39).

Para la caracterización genotípica de *L. monocytogenes* en este estudio, se utilizó la electroforesis en gel de campo pulsado (*Pulsed-Field Gel Electrophoresis*, PFGE). En el estudio multicéntrico de subtipificación de *L. monocytogenes* de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 1996, se determinó que la PFGE era un método preciso y reproducible para comparar molecularmente los aislamientos de este agente patógeno, utilizando las enzimas de restricción *Ascl* y *Apal* (40).

En Colombia, la listeriosis no es una enfermedad de notificación obligatoria; sin embargo, en el periodo 2010-2018 se notificaron al Sistema de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila) 42 brotes de enfermedad transmitida por alimentos ocasionados por *L. monocytogenes*, los cuales afectaron a 1.255 personas por el consumo de alimentos como quesos frescos, derivados cárnicos, comidas de restaurantes y, en general, alimentos listos para el consumo (41).

Para el estudio, se hizo una búsqueda institucional activa en el Sistema de Información de Apoyo a la Notificación e Investigación de Eventos de Interés en Salud Pública (SIANIESP) del Sivigila en los registros individuales de prestación de servicios de salud (RIPS), para: listeriosis cutánea (A230), otras formas de listeriosis (A328), listeriosis no específica (A329), listeriosis congénita (P372), meningitis y meningoencefalitis (A321), y septicemias (A327). Hubo un total de 696 consultas externas por listeriosis, de las cuales 487 fueron por meningitis y meningoencefalitis, y 209 por las otras formas de listeriosis. Asimismo, en este periodo los servicios de urgencias notificaron al Sivigila 85 casos de listeriosis (42).

En Colombia, la meningitis bacteriana es una enfermedad de notificación obligatoria cuando el agente causal es *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* o *Neisseria meningitidis*, pero no cuando es *L. monocytogenes*, lo cual ocasiona un vacío en la vigilancia de este microorganismo (43). El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima), consciente de la gravedad de la listeriosis y teniendo en cuenta que aún no está contemplada en la vigilancia de los alimentos, ha incluido *L. monocytogenes* como un indicador obligatorio de inocuidad en la vigilancia de los alimentos que se producen o se consumen en el país. Esta vigilancia es rutinaria y es ejercida por las entidades territoriales; además, el envío de los aislamientos de los laboratorios de salud pública al laboratorio de referencia del Invima para su confirmación, serotipificación y subtipificación molecular, es de obligatorio cumplimiento.

En este contexto, los objetivos de este estudio fueron confirmar el resultado de los aislamientos de *L. monocytogenes* enviados por los laboratorios de salud pública, y determinar la frecuencia y distribución de los serotipos y subtipos moleculares que circulan en el país procedentes de los alimentos que son motivo de vigilancia, como también, los de aquellos asociados epidemiológicamente con los brotes en el periodo comprendido entre el 2010 y el 2018.

Materiales y métodos

Tipo de estudio

Se hizo un estudio descriptivo y retrospectivo entre el 2010 y el 2018 para confirmar la presencia de *L. monocytogenes* en los aislamientos recibidos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Invima.

Muestra

Durante este periodo, se recibieron 2.420 aislamientos de *L. monocytogenes* enviados por los laboratorios de alimentos de los departamentos adscritos a los de salud pública (LDSP) de Arauca, Antioquia, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Caldas, Caquetá, Casanare, Cauca, Cesar, Córdoba, Cundinamarca, Bogotá, La Guajira, Magdalena, Meta, Nariño, Norte de Santander, Putumayo, Quindío, Risaralda, San Andrés Islas, Santander, Sucre y Valle del Cauca, además de los aislamientos recuperados en el laboratorio de referencia. Los servicios de Amazonas, Guainía, Guaviare, Huila, Tolima, Vaupés y Vichada, no enviaron ningún aislamiento.

En el análisis de las variables, se utilizó el programa Microsoft Office Excel 2013® para calcular las frecuencias y las proporciones, y luego se hicieron un análisis univariado y uno bivariado de los datos del estudio. Se incluyeron las siguientes variables: categoría de alimentos, alimentos, procedencia, serotipos y patrones de PFGE.

Caracterización fenotípica

Para identificar los aislamientos se siguió el procedimiento del manual de bacteriología analítica (*Bacteriological Analytical Manual*): coloración de Gram, determinación de catalasa, pruebas bioquímicas (ramnosa, xilosa y manitol), crecimiento en forma de sombrilla en agar, motilidad, pruebas de hemólisis y prueba de Christie-Atkins-Much-Peterson (CAMP). Asimismo, se utilizó el sistema bioquímico API *Listeria* de Biomérieux (37).

Para la tipificación serológica de *Listeria* spp., se siguió el protocolo de Seeliger y Höhne (38) desarrollado por el Laboratorio de *Listeria* del Instituto Pasteur en París, Francia (44). Se incluyeron antiseros de factores somáticos y flagelares producidos por el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Invima, y se utilizaron cepas de referencia del Instituto Pasteur de París mediante la inmunización de conejos Nueva Zelanda; asimismo, se utilizaron los antiseros comerciales Eurobio™ y Denka Seiken™.

El control externo de calidad de la identificación y serotipificación, y su seguimiento, estuvieron a cargo del Laboratorio de *Listeria* y del Centro Colaborativo de la OMS para la listeriosis de origen alimentario del Instituto Pasteur de París.

Los alimentos de los cuales se aisló *L. monocytogenes* se clasificaron según su categoría y procedencia.

Caracterización genotípica

Los aislamientos de *L. monocytogenes* se caracterizaron con la técnica de PFGE ya descrita (45). Se seleccionó la enzima de restricción *Apal*, teniendo en cuenta que el poder discriminatorio calculado mediante el índice de Simpson no difiere entre las dos enzimas recomendadas, *Apal* y *Ascl*, cuando se evalúa *L. monocytogenes* (46); además, se ha demostrado que el número de perfiles únicos observado con *Apal* es mayor que el obtenido con *Ascl* (47), y se ha evidenciado que el análisis del serotipo 4b con la enzima *Apal* tiene mayor poder de discriminación que otros métodos de tipificación, incluida la restricción con *Ascl* (48). Los dendrogramas se generaron con el programa Bionuméric™, versión 7.5 (Applied Maths, Bélgica) mediante el método UPGMA con una optimización de tolerancia de 1,5 %.

La muestra para seleccionar los aislamientos sometidos a PFGE, se calculó utilizando Epi-Info, versión 7.2, de 2018, con una estimación del 50 % (por ser desconocida), un error esperado del 5 % y una significación del 95 %. Se le atribuyó un peso porcentual a cada categoría de alimento y a la frecuencia de sus serotipos. La selección fue aleatoria y quedó conformada por 368 aislamientos distribuidos así: leche y derivados lácteos (n=188), carne y derivados cárnicos (n=93), alimentos listos para el consumo (n=30), aves (n=15), muestras de plantas procesadoras de alimentos (n=3), y productos de panadería y pastelería (n=1). Además, se analizaron todos los aislamientos (n=38) implicados en casos y brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Resultados

De los 2.420 aislamientos recibidos, *L. monocytogenes* se confirmó en 2.326 (96,1 %) y se identificaron otras especies del género *Listeria* en 94 (3,9 %). De los 2.326 de *L. monocytogenes*, 2.288 (98,4 %) provenían de alimentos que son objeto de los programas de vigilancia del Invima como parte del control de calidad de alimentos en el país, y los 38 (1,6 %) restantes correspondían a casos y brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

Los alimentos remitidos y confirmados como *L. monocytogenes* por el laboratorio del Invima procedían, con mayor frecuencia, de Bogotá, Antioquia y Valle del Cauca (figura 1).

Las categorías de alimentos más frecuentemente contaminados por *L. monocytogenes* fueron las leches y los derivados lácteos (n=1.317; 56,6 %), las carnes y los derivados cárnicos (n=659; 28,3 %) y los alimentos listos para el consumo (n=209; 9 %) (cuadro suplementario 1).

Las categorías de alimentos en los que más frecuentemente se aisló *L. monocytogenes* fueron las leches y los derivados lácteos, con 19,91 % en Antioquia y 17,41 % en Bogotá, y las carnes y derivados cárnicos, con 17,37 % en Bogotá (cuadro suplementario 2).

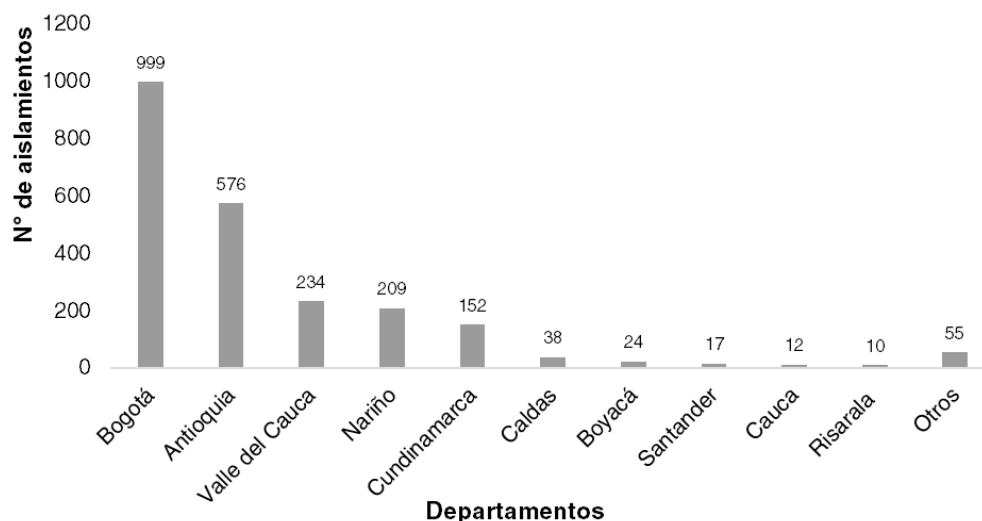


Figura 1. Presencia de *Listeria monocytogenes* aislada de alimentos según su procedencia, Colombia 2010-2018

Durante el periodo de estudio, se determinaron 12 serotipos. El serotipo más frecuente fue el 4b (n=1.208) (figura 2), y la mayor incidencia de este serotipo se encontró, en primer lugar, en la categoría de leches y derivados lácteos (n=711) y, en segundo lugar, en la de carnes y derivados cárnicos (n=327) (cuadro suplementario 1).

Los quesos campesinos fueron el alimento con mayor frecuencia (31,34 %) de aislamientos de *L. monocytogenes*. El serotipo aislado más veces en el grupo completo de alimentos, fue el 4b (51,93 %) (cuadro 1).

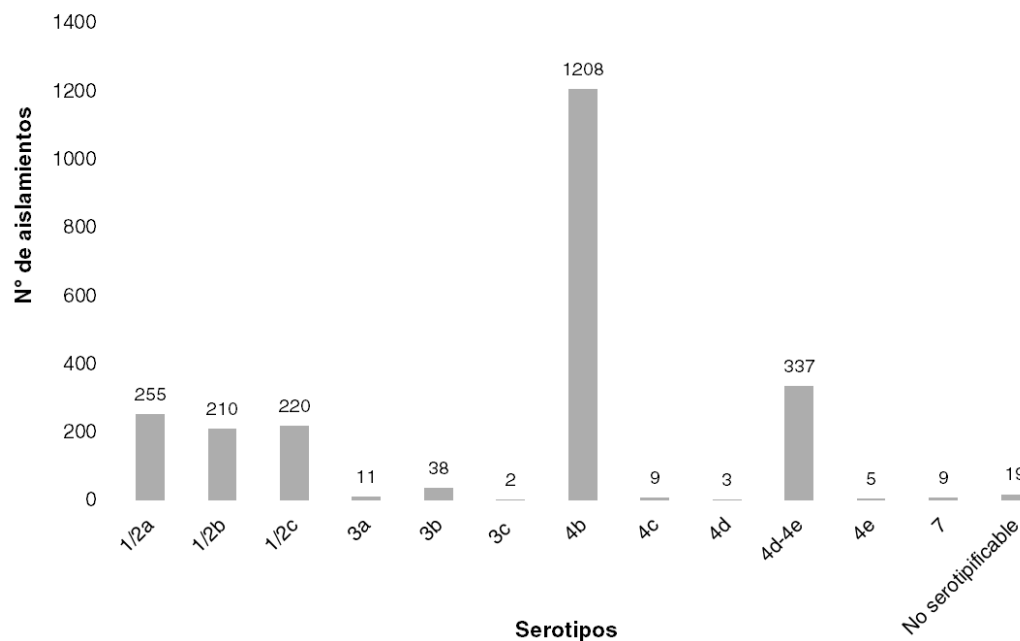


Figura 2. Determinación de serotipos de *Listeria monocytogenes* aislados de alimentos, Colombia, 2010-2018

Cuadro 1. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* y determinación de serotipos aislados de alimentos, Colombia, 2010-2018

Alimentos	1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	3c	4b	4c	4d	4d-4e	4e	7	NS	Total
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Queso campesino	2,24	2,19	4,56	0,39	0,77	0,04	16,17	0,00	0,04	4,69	0,00	0,04	0,21	31,34
Jamón cocido de cerdo, cordero, pavo y pollo	1,03	1,76	0,95	0,00	0,13	0,00	6,15	0,09	0,04	1,29	0,04	0,04	0,09	11,61
Cuajada	0,73	0,26	1,12	0,00	0,04	0,00	2,49	0,00	0,00	0,60	0,00	0,00	0,04	5,29
Leches crudas	0,52	0,09	0,04	0,00	0,04	0,04	2,71	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00	0,00	3,96
Salchichas cocidas	0,39	0,34	0,21	0,00	0,17	0,00	1,16	0,00	0,04	0,52	0,00	0,00	0,00	2,84
Jamón de cerdo ahumado o madurado	0,90	0,04	0,17	0,00	0,00	0,00	1,16	0,00	0,00	0,39	0,00	0,13	0,04	2,84
Queso mozzarella	0,21	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	1,72	0,04	0,00	0,30	0,00	0,04	0,09	2,67
Sánduche de pollo, jamón, y queso	0,09	0,13	0,30	0,00	0,00	0,00	1,20	0,04	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	2,45
Mortadela	0,26	0,09	0,04	0,00	0,17	0,00	1,42	0,00	0,00	0,39	0,00	0,04	0,00	2,41
Ensalada de verduras	0,26	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	1,07	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,00	1,85
Total	6,62	5,33	7,39	0,39	1,33	0,09	35,25	0,17	0,13	9,72	0,04	0,30	0,47	67,24
Otros	4,34	3,70	2,06	0,09	0,30	0,00	16,68	0,21	0,00	4,77	0,17	0,09	0,34	32,76
Total	10,96	9,03	9,46	0,47	1,63	0,09	51,93	0,39	0,13	14,50	0,21	0,39	0,82	100,00

NS: no serotipificable

De los 368 aislamientos seleccionados para PFGE, la técnica pudo utilizarse en 333; no fue posible hacerlo en 35 (9,5 %), probablemente por la calidad del ADN. Estos aislamientos se agruparon en 167 patrones de PFGE diferentes y se designaron de LM-001 a LM-167 (figura suplementaria 1).

Distribución de patrones frecuentes de PFGE

Para el análisis de los patrones de PFGE obtenidos, se hizo una clasificación de los cuatro patrones más frecuentes, es decir, aquellos con más de 10 aislamientos (cuadro 2) (figura suplementaria 1).

Patrón LM-076. El 81,2 % (13/16) de los aislamientos pertenecía al serotipo 4b, el cual se presentó en siete clases diferentes de alimentos y en tres departamentos (cuadro 2) (figura suplementaria 1). Este patrón únicamente se presentó en los cinco primeros años de vigilancia.

Patrón LM-0154. El 87,5 % (14/16) de los aislamientos con este patrón correspondió al serotipo 1/2c, el cual fue el más representativo, seguido por el 1/2b y el 4b. El queso campesino fue el alimento en el cual se encontró con mayor frecuencia y las muestras provenían casi exclusivamente del departamento de Antioquia (14/16) (87,5 %) (cuadro 2) (figura suplementaria 1). Este patrón únicamente se presentó en los cinco primeros años de vigilancia (cuadro 3).

Cuadro 2. Distribución de perfiles de PFGE más frecuentes según tipo de alimento, Colombia, 2010-2018

Patrón PFGE	Alimento relacionado	Número de aislamientos por patrón	Serotipos								Procedencia
			1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	4b	4d	NS	
LM 076	Ensalada de verduras (1), helado (1), jamón (3), leche cruda (1), pollo crudo (1), queso campesino (8) y queso doble crema (1)	16	1	0	0	0	0	13	0	2	Antioquia (9) Bogotá (5) Caldas (2)
LM 154	Cuajada (1), jamón de cerdo (1), queso campesino (14)	16	0	1	14	0	0	1	00	0	Antioquia (14) Bogotá (2)
LM 047	Agua de panela (1), carne cocinada (1), carne cruda (1), crema de leche (1), flan de leche (1), jamón (2), queso campesino (2), salami (1), sánduche (1), tocineta (1)	12	0	0	0	0	0	6	6	0	Bogotá (11) Valle (1)
LM 072	Arroz con pollo (1), ensalada de frutas (1), ensalada de verduras (1), jamón cocido (1), menú (1), pechuga de pollo cocinada (1), queso campesino (4)	10	0	0	0	0	0	10	0	0	Antioquia (6) Bogotá (1) Caldas (1) Cundinamarca (1) Valle (1)
Otros patrones n=163	67 diferentes tipos de alimentos, el queso campesino concentró el mayor número de muestras: 69 en total	279	34	37	21	2	5	146	32	2	Antioquia (66) Bogotá (108) Nariño (36) Valle (28) Cundinamarca (9) Caldas (7) San Andrés (3) Amazonas, Boyacá, Cauca, Magdalena, Quindío, Risaralda y Putumayo (2 aislamientos cada uno) Arauca, Bolívar, Caquetá, Cesar, Córdoba, Magdalena, Norte de Santander, San Andrés (1 aislamiento cada uno)
Total de aislamientos		333	35	38	35	2	5	176	38	4	

NS: no serotipificable

Cuadro 3. Distribución de perfiles de PFGE más frecuentes por serotipo y año en aislamientos de *Listeria monocytogenes*, Colombia, 2010-2018

Año/patrón de PFGE	Serotipos														Número de aislamientos			
	1/2a		1/2b		1/2c		3a		3b		4b		4d			NS		
	76	O	154	O	154	O	O	O	47	72	76	154	O	47		O	76	O
2010	0	5	1	11	2	1	1	2	0	0	1	1	32	3	7	0	0	67
2011	0	8	0	9	2	3	1	1	1	3	1	0	25	2	6	0	0	62
2012	0	5	0	3	4	5	0	2	1	0	5	0	20	0	2	1	1	49
2013	0	7	0	5	2	3	0	0	0	5	6	0	18	0	8	0	0	54
2014	1	4	0	6	4	6	0	0	0	1	0	0	23	1	8	1	1	56
2015	0	2	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	11	0	1	0	0	18
2016	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	9
2017	0	2	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	7	0	0	0	0	12
2018	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0	0	0	0	6
Total	1	34	1	37	14	21	2	5	6	10	13	1	146	6	32	2	2	333

NS: no serotificable; patrón de PFGE: (047/072/076/154); O: otros, corresponde a 163 perfiles que contenían menos de 10 aislamientos cada uno

Patrón LM-047. Se encontraron 12 aislamientos con este patrón, seis del serotipo 4b y seis del 4d, en 10 alimentos diferentes y casi exclusivamente (91,6 %) en Bogotá (cuadro 2) (figura suplementaria 1).

Patrón LM-072. Todos los aislamientos de este patrón fueron del serotipo 4b, es decir que, en las muestras evaluadas en el estudio, este patrón se detectó exclusivamente en este serotipo. Se presentó en siete clases de alimentos diferentes y en cinco departamentos, en los años 2011, 2013, 2014 y 2015 (cuadro 2) (figura suplementaria 1).

Otros patrones. Se encontraron 163 patrones diferentes de PFGE en 279 aislamientos distribuidos en 67 diferentes tipos de alimentos, de los cuales el más frecuente fue el queso campesino. Los serotipos más frecuentes en esta categoría fueron el 4b, con 146 (52,4 %) aislamientos, el 1/2b, con 37 (13,2 %), el 1/2a, con 34 (12,2 %), y el 4d, con 32 (11,5 %). Los aislamientos de esta categoría procedían de 22 departamentos (cuadro 2) (figura suplementaria 1).

Distribución de patrones de PFGE por serotipo

Serotipo 4b. De los 333 aislamientos evaluados por PFGE, más de la mitad (n=176; 52,9 %) correspondió al serotipo 4b, recuperados durante todos los años de vigilancia (cuadro 3).

Serotipo 4d. Se procesaron 38 (11,4 %) aislamientos recuperados en el 2010, el 2011 y el 2014 (cuadro 3).

Serotipo 1/2b. Se procesaron 38 (11,4 %) aislamientos recuperados en todos los años, excepto en el 2017. Solo uno se relacionó con los patrones frecuentes.

Serotipos 1/2a y 1/2c. Del serotipo 1/2a se analizaron 35 (10,5 %) aislamientos encontrados en todos los años de estudio, excepto en el 2016, en tanto que el serotipo 1/2c se evaluó en todos los años de estudio, excepto en el 2018 (cuadro 3).

Otros serotipos. Los 11 aislamientos restantes correspondieron a los serotipos 3b (1,5 %) y 3a (0,6 %), y cuatro (1,2 %) no pudieron ser serotificados (cuadro 3). Del serotipo 4c no se evaluaron aislamientos con la PFGE.

Patrones de PFGE en aislamientos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos

Los 38 aislamientos clasificados en esta categoría fueron relacionados epidemiológicamente con enfermedades transmitidas por alimentos por los laboratorios de salud pública. Se evaluaron 35 aislamientos mediante PFGE, los cuales se distribuyeron en cuatro serotipos y 30 patrones.

Serotipo 1/2a. Se encontraron cuatro aislamientos distribuidos en cuatro patrones de PFGE.

Serotipo 1/2b. Se encontraron cuatro aislamientos distribuidos en cuatro patrones de PFGE.

Serotipo 1/2c. Se encontraron siete aislamientos distribuidos en cinco patrones de PFGE.

Serotipo 4b. Se encontraron 20 aislamientos distribuidos en 18 patrones de PFGE (figura 3). Los serotipos 3a, 3b, 4c y 4d no se relacionaron con enfermedades transmitidas por alimentos.

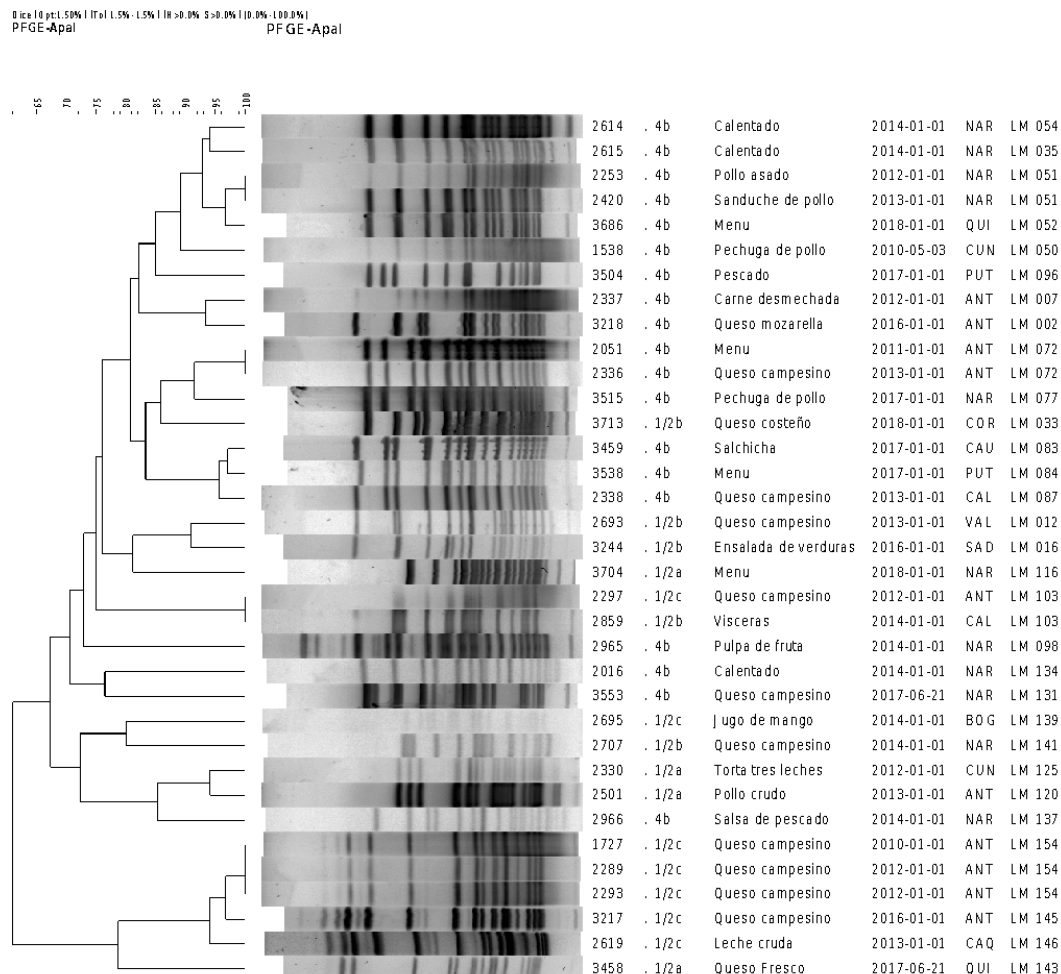


Figura 3. Patrones de PFGE de aislamientos de *Listeria monocytogenes* relacionados con brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, Colombia, 2010-2018

Los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos se relacionaron con las categorías de alimentos preparados (arroz con pollo, calentado, carne desmechada, jugo, tortas), derivados lácteos (leche cruda, queso) y derivados cárnicos (pollo) (figura 3). Los departamentos que enviaron mayor cantidad de aislamientos relacionados con este tipo de enfermedades durante este periodo de estudio, fueron Antioquia y Nariño.

Dos aislamientos del serotipo 4b presentaron el patrón LM-51 y ambos provenían del departamento de Nariño; se encontraron en alimentos que contenían pollo y se enviaron en dos años diferentes, lo cual demuestra la persistencia en el tiempo de este patrón y su relación con enfermedades transmitidas por alimentos.

Una situación similar se presentó en Antioquia con el patrón 072, el cual se recuperó en el 2011 y en el 2013 en alimentos relacionados con estas enfermedades; el patrón LM-154 se encontró en tres aislamientos con el serotipo 1/2c, todos procedentes de queso campesino en dos años diferentes.

Discusión

En Colombia, la autoridad sanitaria ha incluido *L. monocytogenes* en la vigilancia rutinaria de los alimentos como indicador de inocuidad, por ser un microorganismo causante de enfermedades transmitidas por alimentos, aunque aún no se encuentra regulado en las normas nacionales.

Los serotipos encontrados en este estudio, el 4b, el 1/2a y el 1/2b, coinciden con los reportados a nivel mundial relacionados con casos o brotes de listeriosis (1,21,23,24,26,28). Según el ciclo evolutivo de *L. monocytogenes*, hay cuatro linajes. Los serotipos 4b y 1/2b pertenecen al linaje I y son causantes de la mayoría de las listeriosis humanas transmitidas por alimentos; el serotipo 1/2a pertenece al linaje II, implicado en brotes de listeriosis humanas y también aislado del ambiente y de alimentos (49). Aunque no todos los serotipos de *L. monocytogenes* tienen factores de virulencia similares, para efectos de la salud pública, todos ellos se consideran potencialmente patógenos (1,23,26).

En la vigilancia rutinaria de alimentos, Bogotá fue la entidad territorial que envió el mayor número de aislamientos de *L. monocytogenes*, seguida por Antioquia, lo que posiblemente se debe a que existe un mejor programa de vigilancia de este agente patógeno en estas dos seccionales.

Los derivados lácteos, principalmente el queso campesino y las cuajadas, fue el grupo de alimentos en el que más se aisló *L. monocytogenes*, principalmente del serotipo 4b, lo cual también puede deberse a que muchos son de producción artesanal, en la cual es más común el uso de leches no pasteurizadas, así como la ausencia de buenas prácticas de manufactura.

En los derivados cárnicos, las concentraciones de nitritos permitidas como conservantes no inhiben a *L. monocytogenes* (31) y permiten su crecimiento. En el presente estudio se reportaron aislamientos, principalmente del serotipo 4b, en jamones cocidos de cerdo, cordero, pavo y pollo. Es probable que esto se deba a fallas en el mantenimiento de la higiene a lo largo de la cadena de producción, conservación, transporte, fraccionamiento y manipulación en la venta de estos productos, lo cual, unido a características como el gran contenido de nutrientes, la importante actividad del agua (AW) ($\geq 0,92$ %), un pH de 4,4 o menos, y la conservación prolongada a bajas temperaturas de refrigeración, permite la supervivencia de *L. monocytogenes* (50).

En comparación con un reporte previo de la distribución de serotipos de *L. monocytogenes* en alimentos en Colombia (51), se encontró que no se han presentado variaciones en el tipo de alimento contaminado con este agente patógeno con respecto a los años anteriores y, tampoco, en los serotipos encontrados, lo cual pone en evidencia la falta de intervención en los establecimientos que son de obligatoria vigilancia y control.

Se ha sugerido que en los aislamientos de alimentos se encuentran principalmente los serotipos 1/2a, 1/2b y 1/2c (1,21). En el presente estudio, se observó con mayor frecuencia el serotipo 4b, de gran virulencia y causante de la enfermedad en humanos (1,21,23,26), como ya lo reportaron Montero, *et al.* (52), quienes evaluaron los serotipos de *L. monocytogenes* aislados de alimentos listos para el consumo y encontraron una asociación del serotipo 4b con alimentos como el queso y los mariscos congelados. Esto puede deberse a que pertenecen a uno de los clones epidémicos identificados que circulan en el mundo, característica que debería evaluarse en estudios posteriores; además, cobra importancia porque uno de los patrones frecuentes encontrados en este estudio, el LM 072, se asoció exclusivamente con aislamientos de serotipo 4b provenientes de alimentos listos para el consumo, como arroz con pollo, ensalada de frutas y verduras, menú listo para consumir, pechuga de pollo cocinada y queso campesino. Ello evidencia la necesidad de incluir a la ausencia de *L. monocytogenes* como parámetro de inocuidad obligatorio, principalmente en la categoría de alimentos listos para el consumo.

Se ha reportado que los aislamientos de origen alimentario tienen mayor diversidad genética que los de origen humano (53). Esta característica también se observó en el presente estudio, en el cual se obtuvieron más de 160 perfiles diferentes de electroforesis, lo que sugiere diversas fuentes y condiciones de selección para los genotipos específicos encontrados en alimentos y ambientes de plantas de producción; además, sugiere que solo ciertos grupos de alimentos están relacionados con la enfermedad en humanos (54,55).

Los aislamientos caracterizados mediante PFGE permitieron identificar patrones moleculares que pueden indicar contaminación y persistencia de clones en el tiempo. La persistencia de ciertos genotipos en las instalaciones destinadas a la producción de alimentos, puede ser un signo de fallas en el control del proceso de fabricación o indicar resistencia de los microorganismos a los métodos de limpieza utilizados. Tal persistencia puede deberse a la supervivencia y crecimiento de ciertas cepas en biopelículas o nichos dentro del entorno alimentario, las cuales pueden ser difíciles de limpiar y desinfectar, así como a la reintroducción repetida de tales cepas del ambiente externo en las instalaciones de procesamiento de alimentos a lo largo del tiempo (54).

La cantidad de patrones caracterizados como no persistentes, que en este trabajo se clasificaron como “otros”, indica la diversidad de aislamientos que existen en el entorno del procesamiento de alimentos, así como una probable contaminación esporádica continua, lo que indicaría falta de cumplimiento de los protocolos de higiene y limpieza y, por lo tanto, el riesgo de contaminación de los productos alimenticios (54).

Los patrones de PFGE clasificados como más frecuentes en este estudio, se presentaron por lo menos una vez en la mayoría de los años en varios departamentos y en alimentos listos para consumir, como quesos, carnes, comidas preparadas y sánduches, entre otros. La permanencia de estos patrones de PFGE en el tiempo, sugiere que los aislamientos de *L.*

monocytogenes implicados tienen un reservorio permanente en los intervalos de tiempo, por lo general largos, entre sus apariciones (53,54).

Este estudio brinda información importante sobre la epidemiología de *L. monocytogenes* y puede ayudar a adoptar decisiones sanitarias en Colombia, así como servir de base para estudios posteriores de identificación de los clones epidémicos. Consideramos que los resultados de la genotipificación se pueden utilizar como información de base para hacer análisis genéticos ampliados, por ejemplo, la secuenciación completa del genoma de *L. monocytogenes*.

La clasificación de algunos alimentos, como los 'menús,' se dificultó porque la información enviada al laboratorio no estaba completa. Los resultados obtenidos indican la necesidad de implementar buenas prácticas de manufactura con procedimientos estandarizados, en las fábricas artesanales del país (20); además, que las autoridades sanitarias del país deben continuar implementando programas eficaces de vigilancia frente a la prohibición de la venta informal de leche cruda, y de la de quesos o cuajadas elaboradas con leche sin pasteurizar.

Se recomienda, al Ministerio de Salud y Protección Social, incluir la listeriosis entre las enfermedades de notificación obligatoria. Asimismo, incluir en la legislación colombiana la ausencia de *L. monocytogenes* como parámetro de inocuidad en el análisis de los alimentos que, por sus características intrínsecas y extrínsecas, permiten su crecimiento, como es el caso de aquellos listos para el consumo.

Agradecimientos

A los laboratorios de salud pública de Arauca, Antioquia, Atlántico, Bolívar, Boyacá, Caldas, Caquetá, Cauca, Casanare, Cesar, Córdoba, Cundinamarca, Bogotá, La Guajira, Magdalena, Meta, Nariño, Norte de Santander, Putumayo, Quindío, Risaralda, Santander, Sucre, San Andrés Islas y Valle del Cauca; y al laboratorio de referencia para *Listeria* del Invima, por su activa participación en la Red Nacional de Vigilancia Microbiológica de *Listeria* y por la recuperación de los aislamientos de *L. monocytogenes* que hicieron posible este estudio. A Marc Lecuit y Alexandre Leclercq, del Centro Nacional de Referencia y del Centro Colaborativo de la OMS para *Listeria*, Instituto Pasteur (París, Francia), por su contribución en el desarrollo de este estudio mediante la implementación del control externo de calidad de los genogrupos de *L. monocytogenes*. A Jocelyne Rocourt, exjefe del Laboratorio de *Listeria* del Instituto Pasteur de París y del Centro Colaborativo de la OMS para la listeriosis de origen alimentario, por la donación de cepas de la colección de *Listeria* del Instituto Pasteur utilizadas en la producción de los sueros de listeria destinados a la serotipificación y la PFGE de *L. monocytogenes* en nuestro laboratorio. A Óscar Eduardo Pacheco García, subdirector de Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud, por la corrección y la lectura crítica del presente artículo.

Referencias

1. Vásquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, Chakraborty T, Domínguez-Bernal G, Goebel W, et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. Clin Microbiol Rev. 2001;14:584-640. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.3.584-640.2001>
2. Murray EGD, Webb RA, Swann MBR. A disease of rabbits characterized by large mononuclear leukocytosis caused by a hitherto undescribed bacillus, *Bacterium monocytogenes*. J Path Bact. 1926;29:407-34. <https://doi.org/10.1002/path.1700290409>

3. Seeliger HP. Nonpathogenic *Listeriae*: *L. innocua* sp.n. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A. 1981;24:487-93. [https://doi.org/10.1016/S0174-3031\(81\)80108-4](https://doi.org/10.1016/S0174-3031(81)80108-4)
4. Rocourt J, Grimont PAD. *Listeria welshimeri* sp. nov. and *Listeria seeligeri* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 1983;33:866-9. <https://doi.org/10.1099/00207713-33-4-866>
5. Rocourt J, Boerlin P, Grimont F, Jacquet C, Piffaretti JC. Assignment of *Listeria grayi* and *Listeria murrayi* to a single species, *Listeria grayi*, with a revised description of *Listeria grayi*. Int J Syst Evol Microbiol. 1992;42:171-4. <https://doi.org/10.1099/00207713-42-1-171>
6. Seeliger HPR, Rocourt J, Schrettenbrunner A, Grimont PAD, Jones D. *Listeria ivanovii* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 1984;34:336-7. <https://doi.org/10.1099/00207713-34-3-336>
7. Leclercq A, Clermont D, Bizet CH, Grimont P, Le-Fléche-Matéos A, Roche S, et al. *Listeria rocourtiae* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2010;60:2210-4. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.017376-0>
8. Graves LM, Helsel LO, Steigerwalt AG, Morey RE, Daneshvar MI, Roof SE, et al. *Listeria marthii* sp. nov. isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. Int J Syst Evol Microbiol. 2010;60:1280-8. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.014118-0>
9. Den Bakker HC, Warchocki S, Wrigt EM, Allred AF, Ahlstrom C, Manuel CS, et al. *Listeria floridensis* sp. nov., *Listeria aquatic* sp. nov., *Listeria cornellensis* sp. nov., *Listeria riparia* sp. nov. and *Listeria grandensis* sp. nov., from agricultural and natural environments. Int J Syst Evol Microbiol. 2014;64:1882-9. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.052720-0>
10. Weller D, Andrus A, Wiedmann M, Den Bakker HC. *Listeria booriae* sp. nov. and *Listeria newyorkensis* sp. nov., from food processing environments in the USA. Int J Syst Evol Microbiol. 2015;65:286-92. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.070839-0>
11. Bertsch D, Rau J, Eugster MR, Haug MC, Lawson PA, Lacroix C, et al. *Listeria fleischmannii* sp. nov., isolated from cheese. Int J Syst Evol Microbiol. 2013;63:526-32. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.036947-0>
12. Halter EL, Neuhaus K, Scherer S. *Listeria weihenstephanensis* sp. nov., isolated from the water plant *Lemna trisulca* taken from a freshwater pond. Int J Syst Evol Microbiol. 2013;63:641-7. <https://doi.org/10.1099/ijms.0.036830-0>
13. Núñez-Montero K, Leclercq A, Moura A, Vales G, Peraza J, Pizarro-Cerdá J, et al. *Listeria costaricensis* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2018;68:844-50. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002596>
14. Doijad SP, Poharkar KV, Kale SB, Kerkar S, Kalorey DR, Kurkure NV, et al. *Listeria goaensis* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol. 2018;68:3285-91. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.002980>
15. Leclercq A, Moura A, Vales G, Thessaud-Rita N, Aguilhon C, Lecuit M. *Listeria thailandensis* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 2019;69:74-81. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003097>
16. Quereda JJ, Leclercq A, Moura A, Vales G, Gómez-Martín A, García-Muñoz A, et al. *Listeria valentina* sp. nov., isolated from a water trough and the faeces of healthy sheep. Int J Syst Evol Microbiol. 2020;70:5868-79. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004494>
17. Carlin CR, Liao J, Weller D, Gou X, Orsi R, Wiedmann M. *Listeria cossartiae* sp.nov., *Listeria farberi* sp. nov., *Listeria immoviles* sp.nov., *Listeria portnoyi* sp. nov., and *Listeria rustica* sp. nov., isolated from agricultural water and natural environments. Int J Syst Evol Microbiol. 2021;71:004795. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.004795>
18. Guillet C, Join-Lambert O, Le Monnier A, Leclercq A, Mechaï F, Manzer-Bruneel MF, et al. Human listeriosis caused by *Listeria ivanovii*. Emerg Infect Dis. 2010;16:136-8. <https://doi.org/10.3201/eid1601.091155>
19. Favaro M, Sarmati L, Sancesario G, Fontana C. First case of *Listeria innocua* meningitis in a patient on steroids and etanercept. JMM Case Rep. 2014;1. <https://doi.org/10.1099/jmmcr.0.003103>
20. McIntyre L, Wilcott L, Naus M. Listeriosis outbreaks in British Columbia, Canada, caused by soft ripened cheese contaminated from environmental sources. Biomed Res Int. 2015;2015:131623. <https://doi.org/10.1155/2015/131623>
21. Pan Y, Breidt F Jr, Kathariou S. Competition of *Listeria monocytogenes* serotype 1/2a and 4b strains in mixed-culture biofilms. Appl Environ Microbiol. 2009;75:5846-52. <https://doi.org/10.1128/AEM.00816-09>
22. Jemmi T, Stephan R. *Listeria monocytogenes*: Food-borne pathogen and hygiene indicator. Rev Sci Tech. 2006;25:571-80.

23. Velge P, Roche SM. Variability of *Listeria monocytogenes* virulence: A result of the evolution between saprophytism and virulence? *Fut Microbiol.* 2010;5:1799-821. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.134>
24. Charlier C, Fevre C, Travier L, Cazenave B, Bracq-Dieye H, Podevin J, *et al.* *Listeria monocytogenes*-associated biliary tract infections: A study of 12 consecutive cases and review. *Medicine (Baltimore).* 2014;93:e105. <https://doi.org/10.1097/MD.000000000000105>
25. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Listeria* (Listeriosis). Symptoms. Fecha de consulta: 24 de julio de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/index.html>
26. Doumith M, Cazalet C, Simoes N, Frangeul L, Jacquet C, Kunts F, *et al.* New aspects regarding evolution and virulence of *Listeria monocytogenes* revealed by comparative genomics and DNA arrays. *Infect Immun.* 2004;72:1072-83. <https://doi.org/10.1128/IAI.72.2.1072-1083.2004>
27. Vélez-Leal JL, Dávila-Ramírez F. Listeriosis neonatal en Colombia... ¿Igual que hace veinte años? *Rev Cien Salud.* 2015;13:301-8. <https://doi.org/10.12804/revsalud13.02.2015.11>
28. Laksanalamai P, Steyert SR, Burall LS, Datta AR. Genome sequences of *Listeria monocytogenes* serotype 4b variant strains isolated from clinical and environmental sources. *Genome Announc.* 2013;1:e00771-13. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00771-13>
29. Linnan MJ, Mascola L, Lou XD, Goulet V, May S, Salminen C, *et al.* Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *N Engl J Med.* 1988;319:823-8. <https://doi.org/10.1056/NEJM198809293191303>
30. Bille J, Blanc DS, Schmid H, Boubaker K, Baumgartner A, Siegrist HH, *et al.* Outbreaks of human listeriosis associated with tomme cheese in northwest Switzerland 2005. *Euro Surveill.* 2006;11:91-3. <https://doi.org/10.2807/esm.11.06.00633-en>
31. Rossi ML, Paiva A, Tornese M, Chianelli S, Troncoso A. *Listeria monocytogenes* outbreaks: A review of the routes that favour bacterial presence. *Rev Chil Infect.* 2008;25:328-35. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182008000500002>
32. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy -Massachusetts, 2007. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2008;57:1097-100.
33. Lomonaco S, Verghese B, Gerner-Smith P, Tarr C, Gladney L, Lavin J, *et al.* Novel epidemic clones of *Listeria monocytogenes*, United States, 2011. *Emerg Infect Dis.* 2013;19:147-50. <https://doi.org/10.3201/eid1901.121167>
34. Graves LM, Hunter SB, Ong AR, Schoonmaker-Bopp D, Hise K, Kornstein L, *et al.* Microbiological aspects of the investigation that traced the 1998 outbreak of listeriosis in the United States to contaminated hot dogs and establishment of molecular subtyping-based surveillance for *Listeria monocytogenes* in the Pulse Net Network. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2350-5. <https://doi.org/10.1128/JCM.43.5.2350-2355.2005>
35. Brett MSY, Short P, McLauchlin J. A small outbreak of listeriosis associated with smoked mussels. *Int J Food Microbiol.* 1998;43:223-9. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00116-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00116-0)
36. Desai AN, Anyoba A, Madoff LC, Lasmmann B. Changing epidemiology of *Listeria monocytogenes* outbreaks, sporadic cases, and recalls globally: A review of ProMED reports from 1996 to 2018. *Inter J Infect Dis.* 2019;84:48-53. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.04.021>
37. Food Drug Administration (FDA). Bacteriological analytical manual online. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods. Washington, D.C.: FDA; 2017. p.1-19. Fecha de consulta: 24 de julio de 2018. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
38. Seeliger HPR, Höhne K. Serotyping of *Listeria monocytogenes* and related species. En: Bergan T, Norris JR, editors. *Methods in Microbiology.* 1979;13:31-49. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70372-6](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70372-6)
39. Seeliger HP, Langer B. Serological analysis of the genus *Listeria*. Its values and limitations. *Inter J Food Microbiol.* 1989;8:245-8. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(89\)90020-2](https://doi.org/10.1016/0168-1605(89)90020-2)
40. Bille J, Rocourt J. WHO international multicenter *Listeria monocytogenes* subtyping study—rationale and set-up of the study. *Int J Food Microbiol.* 1996;32:251-62. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(96\)01140-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(96)01140-3)
41. Instituto Nacional de Salud. Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública. Grupo Gestión del Riesgo. Base de datos, 2010-2018. Bogotá: SIVIGILA; Instituto Nacional de Salud, 2019.

42. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. SIVIGILA-SIANIESP. Sistema de información de apoyo a la notificación e investigación de eventos de interés en salud pública. Registros individuales de prestación de servicios en Colombia años 2010-2018. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2018.
43. Instituto Nacional de Salud. Dirección Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública, Subdirección de Prevención, Vigilancia y Control en Salud Pública. Protocolo de Vigilancia en salud pública: meningitis bacteriana. Bogotá: Instituto Nacional de Salud, 2014.
44. Institut Pasteur. Centre National de Référence des *Listeria*. Centre collaborateur de L'OMS pour la listeriose d'origine alimentaire. Laboratoire des *Listeria*. Protocole de serotypie. Paris: Institut Pasteur; 1997. p. 22.
45. Centers for Diseases Control and Prevention (CDC). Standard operating procedure for PulseNet PFGE of *Listeria monocytogenes*. 2017. Fecha de consulta: 24 de septiembre de 2019. Disponible en: <https://www.cdc.gov/pulsenet/pdf/listeria-pfge-protocol-508c.pdf>
46. Fugett EB, Schoonmaker-Bopp D, Dumas NB, Corby J, Wiedmann M. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis of temporally matched *Listeria monocytogenes* isolates from human clinical cases, foods, ruminant farms, and urban and natural environments reveals source-associated as well as widely distributed PFGE types. J Clin Microbiol. 2007;45:865-73. <https://doi.org/10.1128/JCM.01285-06>
47. Londero A, Costa M, Sucari A, Leotta G. Comparison of three molecular subtyping techniques for *Listeria monocytogenes*. Rev Argent Microbiol. 2019;51:359-62. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.01.003>
48. Grif K, Heller I, Wagner M, Dierich M, Würzner R. A comparison of *Listeria monocytogenes* serovar 4b isolates of clinical and food origin in Austria by automated ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. Foodborne Pathog Dis. 2006;3:138-41. <https://doi.org/10.1089/fpd.2006.3.138>
49. Orsi RH, Den Bakker HC, Wiedmann M. *Listeria monocytogenes* lineages: Genomics, evolution, ecology, and phenotypic characteristics. Int Med Microbiol. 2011;301:79-96. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2010.05.002>
50. Food and Drug Administration (FDA). Evaluation and definition of potentially hazardous foods. Factors that influence microbial growth. Washington: IFT/FDA; 2003. p. 21-32.
51. Muñoz AI. Distribution of *Listeria monocytogenes* serotypes isolated from foods, Colombia, 2000-2009. Biomédica. 2012;32:408-17. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v32i3.709>
52. Montero D, Boderó M, Riveros G, Lapierre L, Gaggars A, Vidal M, *et al*. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from a wide variety of ready-to-eat foods and their relationship to clinical strains from listeriosis outbreaks in Chile. Front Microbiol. 2015;6:384. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00384>
53. Bibb WF, Gellin BG, Weaver R, Schwartz B, Plikaytis BD, Reeves MW, *et al*. Analysis of clinical and food-borne isolates of *Listeria monocytogenes* in the United States by multilocus enzyme electrophoresis and application of the method to epidemiologic investigations. Appl Environ Microbiol. 1990;56:2133-41. <https://doi.org/10.1128/AEM.56.7.2133-2141.1990>
54. Kathariou S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. J Food Prot. 2002;65:1811-29. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-65.11.1811>
55. Buchanan RL, Gorris LGM, Hayman MM, Jackson TC, Whiting RC. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. Food Control. 2017;75:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>

Archivos suplementarios

Cuadro suplementario 1. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* y determinación de serotipos aislados de categorías de alimentos, Colombia, 2010-2018

Categorías	1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	3c	4b	4c	4d	4d-4e	4e	7	NS	Total
	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°	N°
Alimentos listos para consumo	25	15	14	0	0	0	115	2	0	35	0	0	3	209
Aves	25	17	10	1	3	0	35	0	0	1	0	0	2	94
Carnes y derivados cárnicos	92	74	50	0	13	0	327	2	2	86	1	5	3	659
Grasas y aceites	0	4	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	8
Harinas	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Leches y derivados lácteos	110	90	141	10	19	2	711	5	1	211	4	2	11	1.317
Muestras de plantas procesadoras de alimentos	1	10	1	0	1	0	10	0	0	0	0	2	0	25
Productos no lácteos a base de oleaginosas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Productos de panadería y pastelería	1	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	3	0	10
Productos derivados de la pesca	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2
Total	255	210	220	11	38	2	1.208	9	3	334	5	12	19	2.326

NS: no serotificable

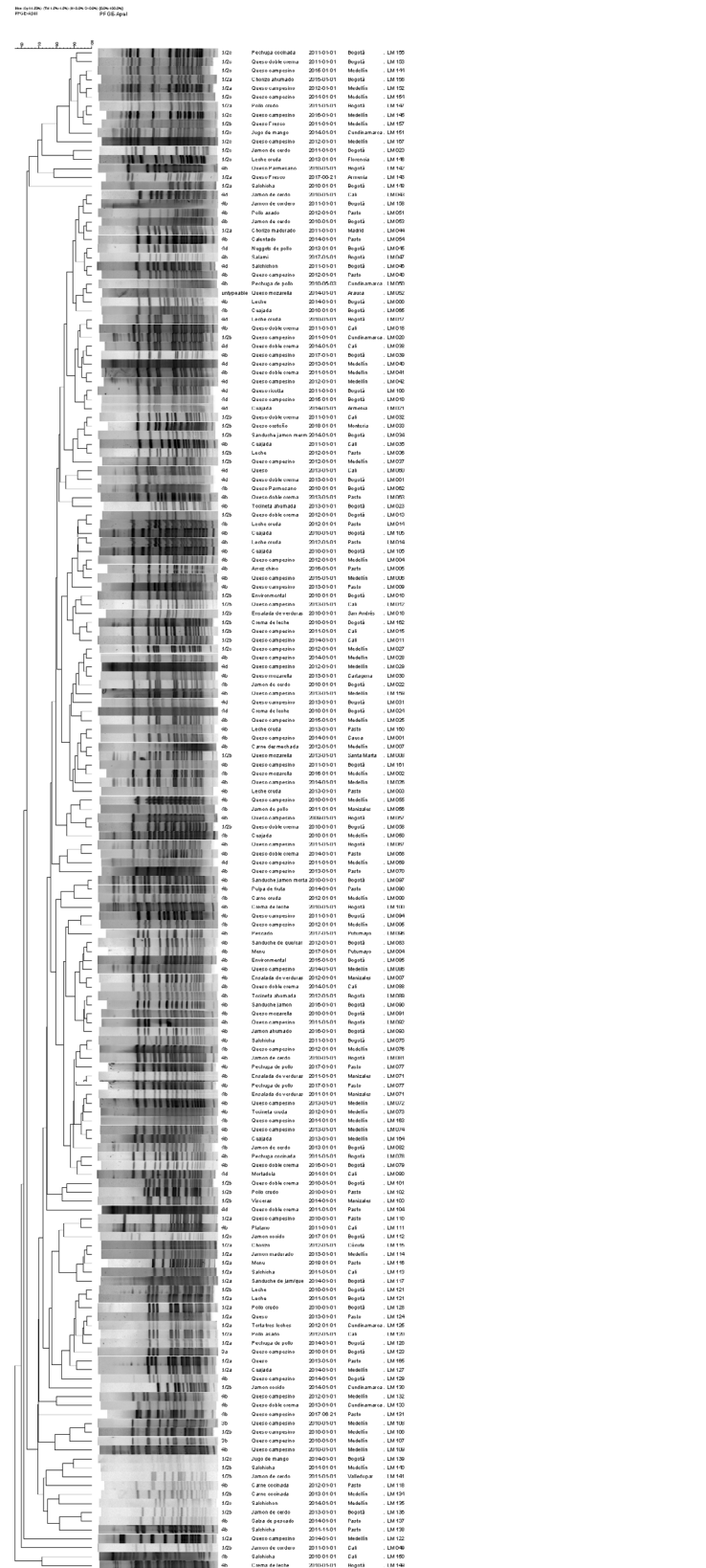
Cuadro suplementario 2. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* y determinación de serotipos aislados de categorías de alimentos según su procedencia, Colombia, 2010-2018

Categorías de alimentos	1/2a	1/2b	1/2c	3a	3b	3c	4b	4c	4d	4d-4e	4e	7	NS	Total
	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
Bogotá D.C.														
Alimentos listos para el consumo	0,26	0,26	0,52	0,00	0,00	0,00	1,59	0,04	0,00	0,99	0,00	0,00	0,13	3,78
Aves	0,64	0,56	0,43	0,04	0,13	0,00	1,03	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	2,88
Carnes y derivados cárnicos	2,84	1,42	1,59	0,00	0,17	0,00	8,56	0,09	0,09	2,28	0,04	0,17	0,13	17,37
Leches y derivados lácteos	1,42	1,20	0,95	0,13	0,26	0,00	9,72	0,00	0,04	3,48	0,04	0,09	0,09	17,41
Muestras ambientales de plantas procesadoras de alimentos	0,04	0,43	0,00	0,00	0,04	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,77
Otras categorías	0,04	0,17	0,00	0,00	0,09	0,00	0,30	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,69
Total	5,25	4,04	3,48	0,17	0,69	0,00	21,37	0,13	0,13	6,88	0,09	0,34	0,34	42,91
Antioquia														
Alimentos listos para el consumo	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,43	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,47
Aves	0,13	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17
Carnes y derivados cárnicos	0,47	0,52	0,60	0,00	0,04	0,00	2,45	0,00	0,00	0,13	0,00	0,00	0,00	4,21
Leches y derivados lácteos	1,20	1,20	4,77	0,09	0,34	0,04	10,06	0,00	0,00	1,98	0,13	0,00	0,09	19,91
Total	1,81	1,76	5,37	0,09	0,39	0,04	12,98	0,00	0,00	2,11	0,13	0,00	0,09	24,76
Valle del Cauca														
Alimentos listos para el consumo	0,60	0,09	0,08	0,00	0,00	0,00	0,73	0,04	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	1,76
Aves	0,17	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,26
Carnes y derivados cárnicos	0,21	0,06	0,00	0,00	0,21	0,00	0,82	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	0,00	2,84
Leches y derivados lácteos	0,77	0,64	0,08	0,04	0,09	0,00	2,15	0,09	0,00	1,25	0,00	0,00	0,09	5,16
Productos de panadería y pastelería	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04
Total	1,76	1,33	0,15	0,04	0,03	0,00	3,74	0,13	0,00	2,49	0,00	0,00	0,17	10,06
Nariño														
Alimentos listos para el consumo	0,09	0,0	0,0	0,00	0,00	0,00	0,73	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,90
Aves	0,04	0,04	0,0	0,00	0,00	0,00	0,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30
Carnes y derivados cárnicos	0,09	0,21	0,04	0,00	0,00	0,00	0,47	0,00	0,00	0,17	0,00	0,00	0,00	0,99
Leches y derivados lácteos	0,69	0,39	0,04	0,04	0,09	0,04	4,08	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	0,13	6,49
Otros	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,30
Total	0,90	0,64	0,13	0,04	0,09	0,04	5,76	0,00	0,00	1,25	0,00	0,00	0,13	8,99
Cundinamarca														
Alimentos listos para el consumo	0,04	0,13	0,04	0,00	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,64
Aves	0,04	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,21
Carnes y derivados cárnicos	0,17	0,09	0,04	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,99
Leches y derivados lácteos	0,43	0,17	0,09	0,13	0,04	0,00	2,67	0,00	0,00	0,99	0,00	0,00	0,00	4,51
Productos de panadería y pastelería	0,04	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	0,00	0,09
Otros	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09
Total	0,73	0,43	0,17	0,13	0,04	0,00	3,87	0,00	0,00	1,16	0,00	0,00	0,00	6,53
Otros														
Total	0,52	0,82	0,21	0,00	0,13	0,00	4,17	0,13	0,00	0,64	0,00	0,04	0,09	6,75
Total	10,95	9,03	9,46	0,47	1,63	0,09	51,89	0,39	0,13	14,5	0,21	0,39	0,82	100

NS: no serotificable

Nota: los datos presentados corresponden a frecuencias acumuladas.

Figura suplementaria 1. Dendrograma de los 167 patrones únicos de PFGE en aislamientos de *Listeria monocytogenes*, Colombia, 2010-2018



Comunicación breve

Caracterización molecular de enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana

Diana León-Luna¹, Alexander Fajardo-Loyola¹, José Yareta-Yareta², Antonio Burgos-Espejo⁴, Carlos Peralta-Siesquen⁵, Marco Galarza-Pérez^{2,3}, Pool Marcos-Carbajal^{2,6}

¹ Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, Lima, Perú

² Universidad Peruana Unión, Escuela Profesional Medicina Humana, Laboratorio de Investigación en Biología Molecular, Lima, Perú

³ Laboratorio de Referencia Nacional de Biotecnología y Biología Molecular, Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú

⁴ Sección de Microbiología, Hospital Regional de Pucallpa, Pucallpa, Perú

⁵ Laboratorio de Microbiología, IPRESS Jorge Chávez, Madre de Dios, Perú

⁶ Universidad San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Centro de Investigación en Medicina Tradicional y Farmacología, Lima, Perú

Introducción. La aparición de enterobacterias multirresistentes y productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en pacientes de consulta externa con infecciones urinarias, representa un problema de salud pública en Perú.

Objetivos. Caracterizar molecularmente enterobacterias multirresistentes aisladas de pacientes con diagnóstico de infección urinaria y procedentes de dos departamentos de la selva peruana.

Materiales y métodos. Se hizo un estudio descriptivo, observacional y retrospectivo de 61 aislamientos de urocultivo procedentes de la selva peruana durante 2017 y 2018. Los perfiles de resistencia se identificaron utilizando el sistema automatizado MicroScan™ y para la detección de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} se empleó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional.

Resultados. Las enterobacterias positivas para BLEE más frecuentes por departamento fueron *Escherichia coli* en Madre de Dios (25 %, 10/40) y Ucayali (76,2 %, 16/21). En ambos departamentos, el gen *bla*_{CTX-M} fue el más frecuente (25/61; 41 %), seguido por *bla*_{TEM} (15/61; 24,6 %) y *bla*_{SHV} (10/61; 16,4 %). En el perfil de sensibilidad antimicrobiana, se detectó 72,6 % de resistencia contra ampicilina, 82,3 % contra cefalotina y 88,7 % contra nitrofurantoína.

Conclusiones. El porcentaje de cepas de enterobacterias multirresistentes productoras de BLEE en ambos departamentos fue del 57,4 % y el gen *bla*_{CTX-M} fue el más frecuente.

Palabras clave: Enterobacteriaceae; farmacorresistencia microbiana; resistencia betalactámica; genes.

Molecular characterization of multiresistant enterobacteria in two departments of the Peruvian jungle

Introduction. The emergence of multiresistant enterobacteria producing extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in outpatients with urinary tract infections represents a public health problem in Perú.

Objectives. To characterize multiresistant enterobacteria isolated from patients diagnosed with urinary tract infection in two Peruvian jungle departments using molecular techniques.

Materials and methods. We conducted a descriptive, observational, and retrospective study of 61 urine culture isolates from two departments in the Peruvian jungle during 2017-2018. Resistance profiles were identified using the MicroScan™ automated system and a conventional polymerase chain reaction (PCR) was used for the detection of *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} and *bla*_{SHV} genes.

Results. The most common positive ESBL enterobacteria for each department were *Escherichia coli* in Madre de Dios (10/40; 25%) and Ucayali (16/21; 76.2%). Gene *bla*_{CTX-M} was the most prevalent in both departments (25/61; 41%), followed by *bla*_{TEM} (15/61; 24.6%), and *bla*_{SHV} (10/61; 16.4%). As for the antimicrobial susceptibility profile, we detected resistance levels of 72.6% for ampicillin, 82.3% for cephalothin, and 88.7% for nitrofurantoin.

Conclusions. BLEE-producing multi-resistant enterobacteria strains in both departments were 57.4% and *bla*_{CTX-M} was the most common gene.

Keywords: Enterobacteriaceae; drug resistance, microbial; beta-lactam resistance; genes.

Recibido: 15/07/2021

Aceptado: 03/08/2021

Publicado: 03/08/2021

Citación:

León-Luna D, Fajardo-Loyola A, Yareta-Yareta J, Burgos-Espejo A, Peralta-Siesquen C, Galarza-Pérez M, et al. Caracterización molecular de enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana. Biomédica. 2021;41(Supl.2):180-7.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.5720>

Correspondencia:

Pool Marcos Carbajal, Universidad Peruana Unión, Escuela Profesional Medicina Humana, Laboratorio de Investigación en Biología Molecular, Lima, Perú
Teléfono: (019) 9332 8351
poolmarcos@upeu.edu.pe y poolmarcoscarbajal@gmail.com

Contribución de los autores:

Pool Marcos: idea original y escritura del manuscrito
Antonio Burgos, Carlos Peralta, Alexander Fajardo y José Yareta: desarrollo experimental
José Yareta y Marco Galarza: escritura del manuscrito
Diana León participó en todas las etapas del estudio. Todos los autores revisaron y aprobaron la versión final.

Financiación:

Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana Unión

Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

La resistencia a los antibióticos es hoy una de las mayores amenazas para la salud mundial (1). Las infecciones de las vías urinarias se encuentran entre las infecciones bacterianas más comunes en todo el mundo y su tratamiento constituye un reto cada vez mayor, a medida que aumentan las tasas de resistencia a los antibióticos estándar (2,3).

Las betalactamasas son enzimas bacterianas capaces de hidrolizar los antibióticos betalactámicos, inhibiendo su mecanismo de acción y haciéndolos inefectivos (4,5). Las enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) están entre las de mayor relevancia clínica e incluyen tres tipos principales: TEM, SHV y CTX-M. Hasta la fecha, se han reportado más de 400 tipos de estas enzimas y la CTX-M es la que más frecuentemente se reporta en todo el mundo (6).

Según los datos de la Organización Panamericana de Salud (OPS) recolectados por la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA), en Latinoamérica, la resistencia a los betalactámicos ha demostrado ser más grave que en otras regiones del mundo (7,8,9). En Perú, por ser un país megadiverso, es necesario hacer estudios por regiones (costa, sierra y selva), porque los factores ambientales y socioeconómicos intervienen en el perfil de sensibilidad de cada agente patógeno (10). En la región de la selva, es necesario controlar la propagación de las bacterias multirresistentes y actualmente no se hace vigilancia epidemiológica molecular que brinde datos confiables para mitigar el problema, debido a la falta de insumos, infraestructura y recursos humanos en los laboratorios.

Los estudios se han centrado hasta ahora en la región de la costa, y es necesario hacer los análisis genotípicos de los agentes patógenos en otros establecimientos de salud de la sierra y la selva, para establecer la prevalencia y el alcance de la resistencia bacteriana, cerrar la brecha de información y proporcionar una base que oriente el tratamiento empírico (11).

En ese contexto, el objetivo del estudio fue caracterizar molecularmente enterobacterias multirresistentes aisladas de pacientes con diagnóstico de infección urinaria procedentes de dos departamentos de la selva peruana.

Materiales y métodos

Pacientes y material biológico

Se hizo un estudio descriptivo, observacional y retrospectivo en aislamientos bacterianos de muestras de orina procedentes de los hospitales públicos regionales de nivel II de Santa Rosa y Pucallpa, en los departamentos de Madre de Dios y Ucayali, respectivamente. Se analizaron 61 aislamientos de enterobacterias exclusivamente de pacientes adultos (mayores de 18 años) con diagnóstico de infección urinaria, atendidos en consulta externa durante 2017 y 2018 y procedentes de la región de selva. Se excluyeron las cepas aisladas que no fueran enterobacterias.

Identificación bacteriana

La identificación y el perfil de sensibilidad se determinaron seleccionando las colonias en agar MacConkey mediante el uso del sistema automatizado MicroScan™ (AutoScan-4) y de paneles para bacterias Gram negativas (Dade MicroScan™), siguiendo las indicaciones del manual estandarizado (12). Se utilizaron 26 antimicrobianos para cada cepa y, con los valores de la

concentración inhibitoria mínima (CIM), se interpretó el perfil de resistencia antibiótica según los puntos de corte recomendados por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* 2020 (13). La presencia de BLEE se detectó mediante la lectura de los paneles MicroScan Type 66 (SMN:1711680) con el programa “LabPro Command Center”, los cuales constituyen un método confirmatorio de detección para las bacterias de tipo BLEE que puede personalizarse. Este método de detección utiliza la CMI de los antibióticos ceftazidima, aztreonam, cefotaxima, cefpodoxima y ceftriaxona.

Para el control de calidad de las pruebas de sensibilidad, se usaron la cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo para la producción de BLEE y, la de *Escherichia coli* ATCC 25922, como control negativo.

Extracción de ADN genómico

En la extracción del ADN genómico de las cepas de enterobacterias, se utilizó el método basado en columnas de silicagel del estuche innuPREP Bacteria DNA™ (Analytikjena, Alemania), con el cual fue necesario que el crecimiento bacteriano se encontrara en la fase logarítmica. El ADN aislado se almacenó a -20 °C hasta la amplificación de cada gen por PCR convencional.

Reacción en cadena de la polimerasa

La amplificación mediante PCR se utilizó para detectar los genes BLEE (*bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*); los iniciadores empleados fueron los descritos por Kiratisin, et al. (14), y Arce, et al. (15) (cuadro 1).

La mezcla de la reacción se ajustó a una concentración final de 25 µl según las condiciones descritas en el protocolo. La mezcla maestra fue la siguiente: 10 µl de solución tampón para PCR 10x incluido Mg (abm), 1 µl de dNTP (abm), 0,5 µl de Primer-F, 0,5 µl de Primer-R (Macrogen, South Korea), 17,3 µl de agua ultrapura (Invitrogen), 0,2 µl de Taq ADN polimerasa (abm) y 2,5 µl de ADN genómico previamente extraído de cada cepa bacteriana.

La PCR se llevó a cabo en un termociclador T100™ (Thermal Cycler, Bio-Rad, Estados Unidos) bajo las siguientes condiciones: predesnaturalización a 94 °C por 7 minutos, desnaturalización a 94 °C por 50 s, hibridación a 52-55 °C por 1 minuto, extensión a 72 °C por 60 s repetidos en 35 ciclos, y un ciclo de extensión final de 5 minutos a 72 °C y un tiempo infinito a 8 °C.

Cuadro 1. Iniciadores utilizados para la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Gen	Iniciadores	Secuencia	Amplicón (pba)	Referencia
blaCTX-M	CTX-M-F	GAAGGTCATCAAGAAGGTGCG	544	13
	CTX-M-R	GCATTGCCACGCTTTTCATAG		
blaSHV	SHV-F	TGGTTATGCGTTATATTCGCC	868	12
	SHV-R	GGTTAGCGTTGCCAGTGCT		
blaTEM	TEM-F	TCCGCTCATGACAATAACC	931	12
	TEM-R	TTGGTCTGACAGTTACCAATGC		

F: Forward; R: Reverse; CTX-M: cefotaximasas; TEM: temoniera; SHV: sulfhidrilo variable; pb: pares de bases; bla: genes de resistencia a betalactamasas

Electroforesis

El producto de amplificación se analizó por electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % (Cleaver Scientific), usando como solución tampón de carga y revelador el Safe-Green™ (abm). Para verificar el tamaño del ADN amplificado, se empleó el marcador de peso molecular de 100 pb (opti DNA Marker - abm™). La corrida electroforética se llevó a 120 V por 40 minutos en el sistema de electroforesis con documentación runSTATION complete (Cleaver Scientific, United Kindom).

Análisis estadístico

La base de datos se analizó con el programa Stata 15.0. Las medidas de frecuencia se presentan como frecuencias relativas (porcentajes). El gráfico de barras se elaboró con el programa Microsoft Excel. 2019. Por ser un estudio observacional, no requirió de variables dependientes e independientes.

Consideraciones éticas

Los dos establecimientos de salud aprobaron el protocolo de estudio. Se garantizó la confidencialidad de los datos de los pacientes. El estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Unión (N2019-CEUPeU-0001).

Resultados

De los 61 pacientes que acudieron a consulta externa, el 65,6 % (40/61) provenía del departamento de Madre de Dios (Hospital Regional de Santa Rosa) y el 34,4 % (21/61) del departamento de Ucayali (Hospital Regional de Pucallpa). El 57,4% (35/61) resultó ser positivo para BLEE, y la edad media fue de 41 años. Las enterobacterias identificadas como positivas para BLEE fueron: *E. coli* con 42,6 % (26/61), *K. pneumoniae* con 8,2 % (5/61), *Enterobacter cloacae* con 1,6 (1/61), *Acinetobacter baumannii* con 1,6 % (1/61), *Klebsiella oxytoca* con 1,6% (1/61), y *Enterobacter aerogenes* con 1,6 % (1/61) (cuadro 2).

El gen más frecuente en los aislamientos fue el *bla*_{CTX-M} con 41 % (25/61) seguido por el *bla*_{TEM} con 24,6 % (15/61) y el *bla*_{SHV} con el 16,4 % (10/61). En el departamento de Madre de Dios, los genes detectados en *E. coli* fueron *bla*_{CTX-M} (n=6; 15 %), *bla*_{TEM} (n=8; 20 %) y *bla*_{SHV} (n=4; 10 %) y en *K. pneumoniae* los genes *bla*_{CTX-M} (n=2; 5 %), *bla*_{TEM} (n=2; 5 %) y *bla*_{SHV} (n=4, 10 %). En el departamento de Ucayali los genes detectados en *E. coli* fueron *bla*_{CTX-M} (n=16, 76,2 %), *bla*_{TEM} (n=2, 9,5 %) y *bla*_{SHV} (n=4, 10 %), en tanto que en *K. pneumoniae* no se detectó ninguno de estos (cuadro 3).

Cuadro 2. Frecuencia de enterobacterias BLEE y no BLEE aisladas por departamento

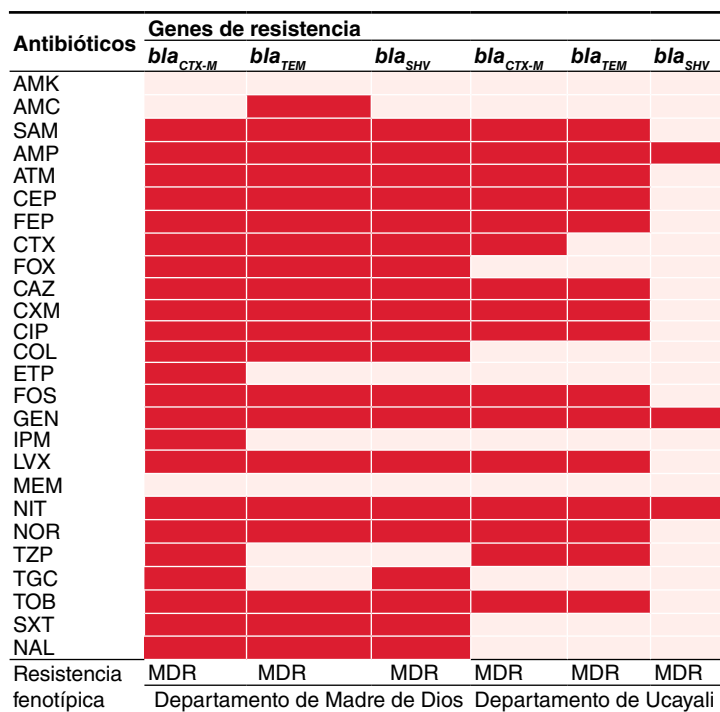
Enterobacterias (n=61)	Departamento de Madre de Dios (n=40)		Departamento de Ucayali (n=21)	
	BLEE + n (%)	BLEE - n (%)	BLEE + n (%)	BLEE - n (%)
<i>Escherichia coli</i>	10 (25)	20 (50)	16 (76,2)	3 (14,3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 (12,5)	0,0	SA	SA
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (2,5)	3 (7,5)	SA	SA
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (2,5)	0,0	SA	SA
<i>Klebsiella oxytoca</i>	SA	SA	1 (4,8)	0,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	SA	SA	1 (4,8)	0,0
Total	17 (42,5)	23 (57,5)	18 (85,7)	3 (14,3)

BLEE: betalactamasas de espectro extendido; SA: sin aislamiento bacteriano

Cuadro 3. Frecuencia de los genes de resistencia a betalactamasas detectados por enterobacteria y departamento

Enterobacterias (n=61)	Departamento de Madre de Dios (n=40)			Departamento de Ucayali (n=21)		
	<i>bla</i> _{CTX-M} n (%)	<i>bla</i> _{TEM} n (%)	<i>bla</i> _{SHV} n (%)	<i>bla</i> _{CTX-M} n (%)	<i>bla</i> _{TEM} n (%)	<i>bla</i> _{SHV} n (%)
<i>Escherichia coli</i>	6 (15)	8 (20)	4 (10)	16 (76,2)	2 (9,5)	2 (9,5)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (5)	2 (5)	4 (10)	0,0	0,0	0,0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,0	1 (2,5)	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1 (2,5)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	1 (4,8)	0,0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	1 (4,8)	0,0
Total	9 (22,5)	11 (27,5)	8 (20)	16 (76,2)	4 (19)	2 (9,5)

Genes de resistencia a betalactamasas: *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} y *bla*_{SHV}



AMK: amikacina; AMC: amoxicilina con ácido clavulánico; SAM: ampicilina con sulbactam; AMP: ampicilina; ATM: aztreonam; CF: cefalotina; FEP: cefepima; CTX: cefotaxima; FOX: cefoxitina; CAZ: ceftazidima; CXM: cefuroxima; CIP: ciprofloxacina; COL: colistina; ETP: ertapenem; FOS: fosfomicina; GEN: gentamicina; IPM: imipenem; LVX: levofloxacina; MEM: meropenem; NIT: nitrofurantoína; NOR: norfloxacina; TZP: piperacilina con tazobactam; TGC: tigeciclina; TOB: tobramicina; SXT: trimetoprim sulfametoxazol; NAL: ácido nalidixico; MDR: multirresistencia (resistente, por lo menos, a uno de dos o tres clases de antibióticos)

Figura 1. Perfil de resistencia genotípica y genes de resistencia a betalactamasas (BLEE) en enterobacterias de dos hospitales de la selva peruana

Para analizar la resistencia fenotípica con base en los genes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM} y *bla*_{SHV}, se evaluaron todos los aislamientos bacterianos positivos para BLEE y se observó, por lo menos, la expresión de uno de los genes en cada aislamiento, además, se evidenció también que otros aislamientos codificaron dos o más genes de resistencia a betalactamasas siendo estos considerados multirresistentes, como se muestra en la figura 1. En el departamento de Madre de Dios y Ucayali, se observó multirresistencia a la mayoría de antibióticos, excepto frente a amikacina (AMK) y meropenem (MEM) como es el caso de Ucayali.

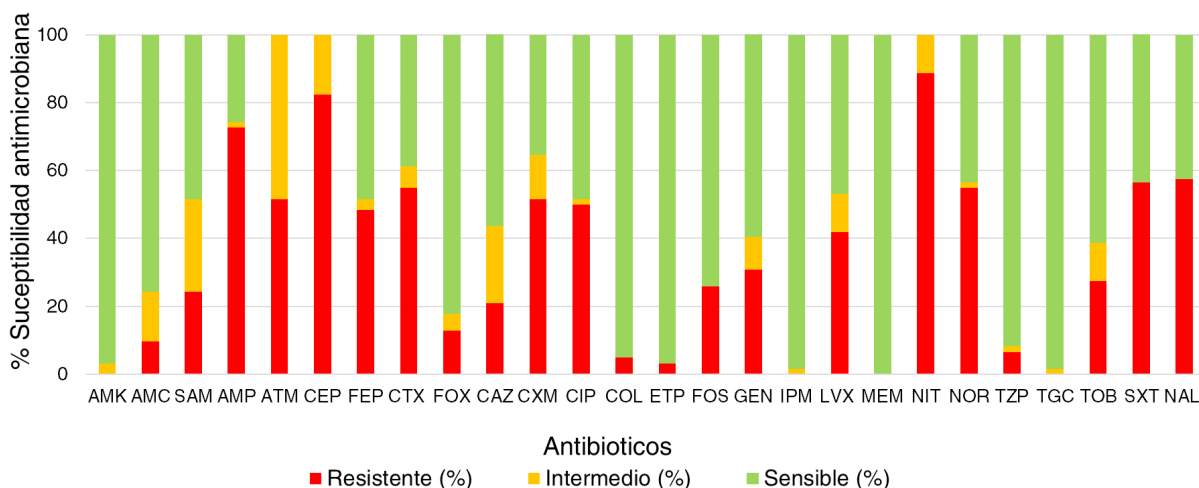
Se detectaron altos porcentajes de resistencia a ampicilina (72,6 %), aztreonam (51,6 %), cefalotina (82,3 %), cefotaxima (54,8 %), cefuroxima (51,6 %), ciprofloxacina (50 %), nitrofurantoína (88,7 %), norfloxacina (54,8 %)

y ácido nalidíxico (57,4 %). No se detectaron aislamientos resistentes a amikacina, imipenem, meropenem o tigeciclina (figura 2).

Discusión

El propósito del estudio fue determinar la aparición de enterobacterias productoras de BLEE en los pacientes de consulta externa que acudieron a los hospitales de los departamentos de Madre de Dios y Ucayali. En el 57,4 % de los aislamientos, las enterobacterias fueron productoras de BLEE, sobre todo *E. coli* y *K. pneumoniae*, lo que coincide con lo reportado por Olarte, *et al.* (9), y Arce, *et al.* (15). Morejón (16) señala que no solo *E. coli* y *K. pneumoniae* pueden ser productoras de BLEE, lo que concuerda con nuestro reporte, en el que se identificaron otras especies, como *E. cloacae*, *A. baumannii*, *K. oxytoca*, y *E. aerogenes*, las cuales, además, representaron el 11,4 % de los aislamientos positivos para BLEE.

Según García, *et al.* (17), es importante resaltar la amplia distribución de los genes responsables de la resistencia a antibióticos betalactámicos en las distintas enterobacterias, así como la presencia simultánea de varios genes. En cuanto a los aislamientos, la mayoría de los estudios muestra un predominio de BLEE de tipo CTX-M en *E. coli*. En el presente estudio, el 36,1 % de las cepas de *E. coli* expresó el gen *bla_{CTX-M}* y el 16,3 % el *bla_{TEM}*, en tanto que el 3,3 % de *K. pneumoniae* expresó los genes *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}*; además, se registraron los genes *bla_{SHV}* en el 9,9 % de *E. coli* y el 6,6 % de *K. pneumoniae*, así como la coexistencia de los tres genes: *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* y *bla_{SHV}* en el 4,9 % de *E. coli*. En su estudio Galván, *et al.* (18), reportaron una frecuencia de 55 % del gen *bla_{CTX-M}* en y la coexistencia de *bla_{CTX-M}* y *bla_{TEM}* en 24 % de los aislamientos de *E. coli* en orina. Por otro lado, nuestros resultados difieren de lo reportado por Castro, *et al.* (19) en su estudio en *E. coli* productoras de BLEE aisladas de urocultivos de pacientes de la comunidad de Chilpancingo, México, en los que registraron un 95 % de *bla_{TEM}*, el más frecuente, seguido por *bla_{CTX-M}* en el 50 % y *bla_{SHV}* en el 5,5 %.



AMK: amikacina; AMC: amoxicilina con ácido clavulánico; SAM: ampicilina con sulbactam; AMP: ampicilina; ATM: aztreonam; CF: cefalotina; FEP: cefepima; CTX: cefotaxima; FOX: cefoxitina; CAZ: ceftazidima; CXM: cefuroxima; CIP: ciprofloxacina; COL: colistina; ETP: ertapenem; FOS: fosfomicina; GEN: gentamicina; IPM: imipenem; LVX: levofloxacina; MEM: meropenem; NIT: nitrofurantoína; NOR: norfloxacina; TZP: piperacilina con tazobactam; TGC: tigeciclina; TOB: tobramicina; SXT: trimetoprim sulfametoxazol; NAL: ácido nalidíxico

Figura 2. Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana

En cuanto a la frecuencia de los genes de resistencia a betalactamasas detectados en cada departamento, el gen *bla*_{TEM} representó el 20 % en Madre de Dios y, el *bla*_{CTX-M} el 76,2 % en Ucayali. Tales registros concuerdan con lo reportado por García, et al. (17), en relación con la detección del gen *bla*_{CTX-M} en aislamientos productores de BLEE, lo cual explica suficientemente el fenotipo resistente. En el presente estudio, en el 41 % de los aislamientos analizados la enzima CTX-M fue la responsable del patrón de multiresistencia, independientemente de la presencia de las enzimas de los tipos TEM y SHV, cuyos genes también fueron detectados; este porcentaje concuerda con estudios realizados en cepas de *E. coli* comunitarias a nivel mundial, con reportes de 40 a 70 % de BLEE de tipo CTX-M (20).

Morejón (16) ha señalado que la cefepima puede ser efectiva frente a muchas cepas de BLEE, particularmente las SHV. Suarez, et al. (21), mencionan que la nitrofurantoína es la mejor opción en las infecciones urinarias de origen comunitario producidas por *E. coli*. En este sentido nuestro reporte difirió, ya que la prueba de sensibilidad antimicrobiana evidenció que la mayoría de las enterobacterias positivas para BLEE presentaron multiresistencia, siendo el aztreonam, la cefepima y la nitrofurantoína los antibióticos más sensibles, lo cual es una razón suficiente para abogar por el uso racional de los antimicrobianos para atenuar la velocidad del incremento o aparición de nuevas multiresistencias.

En conclusión, los resultados del estudio en los departamentos de la selva peruana señalan que la frecuencia de enterobacterias multiresistentes productoras de BLEE fue de 57,4 % y que el gen *bla*_{CTX-M} fue el más frecuente. Este reporte, basado en la caracterización molecular, puede contribuir a ofrecer el tratamiento antimicrobiano correcto y, además, tiene importancia epidemiológica, ya que aporta información molecular sobre la resistencia bacteriana en la comunidad.

Agradecimientos

A la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Peruana Unión.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos 2021. Fecha de consulta: 3 de mayo del 2021. Disponible en: <https://bit.ly/3h0V2Ch>
2. Yábar MN, Curi-Pesantes B, Torres CA, Calderón-Anyosa R, Riveros M, Ochoa TJ. Multiresistance and factors associated with the presence of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated from urine culture. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2017;34:660-5. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2017.344.2922>
3. Sbiti M, Lahmadi K, Louzi L. Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi. Pan Afr Med J. 2017;28:29. <https://doi.org/10.11604/pamj.2017.28.29.11402>
4. Rada AM, Hernández GC, Restrepo E, Villegas MV. Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. Biomédica. 2019;39:199-220. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4351>
5. Díaz MJ, Amar PW, Angulo LM, BS. Prevalencia de *Escherichia coli* productor de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y otras resistencias en urocultivos en un hospital general de Ica, Perú. Revista Médica Panacea. 2015;5:20-4. <https://doi.org/10.35563/rmp.v5i1.68>
6. Marcos-Carbajal P, Salvatierra G, Yareta J, Pino J, Vásquez N, Díaz P, et al. Caracterización microbiológica y molecular de la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógenas de hospitales públicos peruanos. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2021;38:119-23. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6182>

7. Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA). Magnitud y tendencias de la resistencia a los antimicrobianos en Latinoamérica. RELAVRA 2014, 2015, 2016. Fecha de consulta: 3 de mayo del 2021. Disponible en: <https://bit.ly/2R4PqfT>
8. Mostajo AG, Díaz CA, Morón PR. Frecuencia de infección del tracto urinario intrahospitalaria por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido y factores asociados en un hospital nacional. Revista de la Sociedad Peruana de Medicina Interna. 2015;28:113-20.
9. Olarte LT, Cáceres GD, Cortés JA. Nuevas cefalosporinas. Rev Chil Infectol. 2018;35:465-75. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000500465>
10. Instituto Geográfico Nacional, 1989. Atlas del Perú. Lima-Perú. Fecha de consulta: 3 de mayo del 2021. Disponible en: <https://bit.ly/3y8M2kA>
11. Astete S, Madrid L, Fukuda F, Buckley A, Meritens D, Menchola JV. Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes ambulatorios en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. Rev Soc Per Med Inter. 2004;17:5-8.
12. Beckman C. MicroScan. Manual de procedimiento para microorganismos gramnegativos, LabPro multirregional ≥ V4.42. U.S.A. August 2019. Fecha de consulta: 3 de mayo de 2021. Disponible en: <https://bit.ly/307u5Tq>
13. Clinical & Laboratory Standards Institute. M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th edition. Clinical & Laboratory Standards Institute. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2021. Disponible en: <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
14. Kiratisin P, Apisarnthanarak A, Laesripa C, Saifon P. Molecular characterization and epidemiology of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand, where the CTX-M family is endemic. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:2818-24. <https://doi.org/10.1128/AAC.00171-08>
15. Arce Z, Núñez JL, Clavo RF, Valverde DF. Detección del gen CTX-M en cepas de *Escherichia coli* productoras de β-lactamasas de espectro extendido procedentes del Hospital Regional de Lambayeque; Chiclayo-Perú: noviembre 2012-julio 2013. Revista Del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almirante Grau. 2013;6:12-5.
16. Morejón-García M. Betalactamasas de espectro extendido. Revista Cubana de Medicina. 2013;52:272-80.
17. García MH, Valdez CA, Porta TV. Detección de los genes de β-lactamasas *blaTEM*, *blaSHV* y *blaCTX-M* en aislamientos de *Escherichia coli* comunitarios. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2019;28:45-56.
18. Galván F, Agapito J, Bravo N, Lagos J, Tamariz J. Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β-Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. Revista Médica Herediana. 2016;27:22-9.
19. Alarcón NC, González JF, Sarabia RL, Sánchez JS, Rosas MR. Caracterización de β-lactamasas de espectro extendido producidas por *Escherichia coli* de infecciones del tracto urinario adquiridas en la comunidad de Chilpancingo. Guerrero, México. 2014. Fecha de consulta: 1 de mayo de 2021. Disponible en: <http://tlamati.uagro.mx/t51/t512.pdf>
20. Rodríguez-Villalobos H, Bogaerts P, Berhin C, Bauraing C, Deplano A, Montesinos I, et al. Trends in production of extended-spectrum β-lactamases among *Enterobacteriaceae* of clinical interest: Results of a nationwide survey in Belgian hospitals. J Antimicrob Chemother. 2011;66:37-47. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq388>
21. Suárez-Trueba B, Milián-Samper Y, Espinosa-Rivera F, Hart-Casares M, Llanes-Rodríguez N, Martínez-Batista ML. Susceptibilidad antimicrobiana y mecanismos de resistencia de *Escherichia coli* aisladas a partir de urocultivos en un hospital de tercer nivel. Revista Cubana de Medicina. 2014;53:3-13.