



I-ISSN 2590-7379 (Electrónico)

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

Volumen 42, No. 4 - Diciembre de 2022, Bogotá, D.C., Colombia, S.A.

**Portada:** *Anisakis* spp., larva, estructuras anatómicas de la porción anterior, 800X

Microscopio electrónico de barrido (termoiónico) JEOL-JSM 6490LV

Centro de Microscopía Avanzada, Laboratorio SEM, Sede de Investigación Universitaria, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

# Biomédica Instituto Nacional de Salud

Volumen 42, No. 3 - Bogotá, D.C., Colombia - Diciembre de 2022

---

## Comité Editorial

<b>EDITORES</b>	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
<b>EDITORES ASOCIADOS</b>	ENRIQUE ÁRDILA Academia Nacional de Medicina Bogotá, D.C., Colombia	JULIÁN ALFREDO FERNÁNDEZ-NIÑO Bloomberg School of Public Health Johns Hopkins University Baltimore, MD, Estados Unidos	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

GERZAÍN 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

ANA MARÍA PAÉZ  
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 Seriadadas Científicas y Tecnológicas Colombianas* de Colciencias y del *Índice Latinoamericano de Revistas Científicas y Tecnológicas (LATINDEX)*.

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

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

# Contenido

## Editorial

- Reflexiones sobre innovación en salud pública: avances y retos en Colombia  
*Gabriel Parra-Henao*..... 550

## Reporte de caso

- Síndrome de Adams-Oliver y complicaciones asociadas: reporte de una familia en Colombia y revisión de la literatura  
*Olga Lucía Morales, Jerly Maybelline Díaz, Jorge Hernán Montoya*..... 554

## Ensayo

- Teoría de la complejidad en la atención del paciente con dolor musculoesquelético  
*Mauro Andreu, Pablo Polcastro, Tatiana Días, Yolanda Pardo*..... 562

## Artículo original

- Importancia pronóstica de las mutaciones del gen promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa en los meningiomas de alto grado  
*Alejandro Cañas, Enrique Jiménez, Fernando Hakim, Juan Armando Mejía, Juan Fernando Ramón, Diego Gómez, Daniel Jaramillo-Velásquez, Sonia Bermúdez, Nicolás Useche, Diego Pineda, Hernando Cifuentes, Antonio Becerra, Álvaro Muñoz, Nicolás Santoyo, Alejandro Ruiz-Patiño, Carolina Sotelo, Pilar Archila, July Rodríguez, Jenny Ávila, Camila Ordóñez-Reyes, Juan Esteban García-Robledo, Luisa Ricaurte, Leonardo Rojas, Óscar Feo, Remberto Burgos, Carlos Ramírez, Óscar Arrieta, Lucía Zatarain-Barrón, Carlos Vargas, Hernán Carranza, Jorge Otero, Andrés F. Cardona*..... 574

- Parásitos anisákidos en filetes de pescado congelado destinados a consumo humano  
*Patricia Betancourth, Jairo Gómez, Jorge A. Fernández-Silva, Juliana González*..... 591

- NTD Health: un sistema de historias clínicas electrónicas para enfermedades tropicales desatendidas  
*Rodrigo Ochoa, Alessa Álvarez, Jordan Freitas, Saptarshi Purkayastha, Iván D. Vélez*..... 602

- Validez y reproducibilidad de un método para estimar la capacidad cardiorrespiratoria en adultos universitarios  
*Eliana Arcila, Carlos Restrepo, Luis Valbuena, Mario Andrés Quintero, Felipe Marino, Jorge Alberto Osorio, Jaime Gallo-Villegas, Juan Fernando Saldarriaga Franco*..... 611

- Análisis de mutaciones en los genes *SOD1* y *C9orf72* en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica, Antioquia, Colombia  
*Jimena Jaramillo, Juan M. Solano, Alejandra Aristizábal, Juliana Martínez*..... 623

- Circulación de *Leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi* en perros domésticos de áreas urbanas de Sincelejo, región Caribe de Colombia  
*Karol Liseth Rueda-Concha, Ana Payares-Mercado, Jesús Guerra-Castillo, Jesús Melendrez, Yasmit Arroyo-Munive, Lily Martínez-Abad, Suljey Cochero, Eduar Elías Bejarano, Luis Enrique Paternina*..... 633

- Sincronización entre la videodeglución y la electromiografía de superficie en pacientes con afectación neurológica y síntomas de disfagia  
*Laura V. Suárez-Patiño, Andrés Orozco-Duque, Estefanía Pérez-Giraldo, Sebastián Roldán-Vasco, Juan Camilo Suárez-Escudero, Lillyana Martínez-Moreno*..... 650

- Análisis de las interacciones entre los actores de la Red de Gestión del Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria de Colombia  
*Mayra Jiménez-Manjarrés, Diana M. Santana, Mario J. Olivera, Luz Stella Cantor-Poveda, Carlos A. Castañeda-Orjuela*..... 665

- Condiciones de salud de los indígenas hitnū potencialmente expuestos a petróleo crudo (Arauca, Colombia)  
*Carolina Rivero-Rubio, Angélica I. Navarro-Rodríguez, María C. Castro-Reyes, Óscar Araújo-Quintana, José Moreno-Montoya, Jesús A. Estévez-García, Pablo A. Martínez-Silva, Álvaro J. Idrovo, Claudia Amaya-Castellanos*..... 679

- Perfiles de expresión de los genes *ERG11*, *MDR1* y *AFR1* en *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* aislados de pacientes con HIV  
*Isaura Torres, Juan E. Gallo, Óscar Mauricio Gómez, Álvaro Rúa-Giraldo, Juan G. McEwen, Ana María García*..... 697

- Costo-efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda en Colombia  
*Alex García, Nelson Darío Giraldo*..... 707

- Índices..... 717

# Contents

## Editorial

- Reflections on public health innovations: Progress and challenges for Colombia  
*Gabriel Parra-Henao*..... 550

## Case report

- Adams-Oliver syndrome and associated complications: Report of a family in Colombia and review of the literature  
*Olga Lucía Morales, Jerly Maybelline Díaz, Jorge Hernán Montoya*..... 554

## Essay

- Complexity theory in the management of patients with musculoskeletal pain  
*Mauro Andreu, Pablo Policastro, Tatiana Díaz, Yolanda Pardo*..... 562

## Original article

- Prognostic significance of telomerase reverse transcriptase promoter gen mutations in high grade meningiomas  
*Alejandro Cañas, Enrique Jiménez, Fernando Hakim, Juan Armando Mejía, Juan Fernando Ramón, Diego Gómez, Daniel Jaramillo-Velásquez, Sonia Bermúdez, Nicolás Useche, Diego Pineda, Hernando Cifuentes, Antonio Becerra, Álvaro Muñoz, Nicolás Santoyo, Alejandro Ruiz-Patiño, Carolina Sotelo, Pilar Archila, July Rodríguez, Jenny Ávila, Camila Ordóñez-Reyes, Juan Esteban García-Robledo, Luisa Ricaurte, Leonardo Rojas, Óscar Feo, Remberto Burgos, Carlos Ramírez, Óscar Arrieta, Lucía Zatarain-Barrón, Carlos Vargas, Hernán Carranza, Jorge Otero, Andrés F. Cardona*..... 574

- Anisakidae parasites in frozen fish fillets intended for human consumption  
*Patricia Betancourth, Jairo Gómez, Jorge A. Fernández-Silva, Juliana González*..... 591

- NTD Health: An electronic medical record system for neglected tropical diseases  
*Rodrigo Ochoa, Alessa Álvarez, Jordan Freitas, Saptarshi Purkayastha, Iván D. Vélez*..... 602

- Validity and reproducibility of a method to estimate cardiorespiratory fitness in college adults  
*Eliana Arcila, Carlos Restrepo, Luis Valbuena, Mario Andrés Quintero, Felipe Marino, Jorge Alberto Osorio, Jaime Gallo-Villegas, Juan Fernando Saldarriaga Franco*..... 611

- Analysis of *SOD1* and *C9orf72* mutations in patients with amyotrophic lateral sclerosis in Antioquia, Colombia  
*Jimena Jaramillo, Juan M. Solano, Alejandra Aristizábal, Juliana Martínez*..... 623

- Silent circulation of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi* among urban dogs from Sincelejo city, Caribbean region of Colombia  
*Karol Liseth Rueda-Concha, Ana Payares-Mercado, Jesús Guerra-Castillo, Jesús Melendrez, Yasmit Arroyo-Munive, Lily Martínez-Abad, Suljey Cochero, Eduar Elías Bejarano, Luis Enrique Paternina*..... 633

- Synchronization between videofluoroscopic swallowing study and surface electromyography in patients with neurological involvement presenting symptoms of dysphagia  
*Laura V. Suárez-Patiño, Andrés Orozco-Duque, Estefanía Pérez-Giraldo, Sebastián Roldán-Vasco, Juan Camilo Suárez-Escudero, Lillyana Martínez-Moreno*..... 650

- Analysis of interactions between actors of the *Red de Gestión del Conocimiento e Innovación en Malaria de Colombia*  
*Mayra Jiménez-Manjarrés, Diana M. Santana, Mario J. Olivera, Luz Stella Cantor-Poveda, Carlos A. Castañeda-Orjuela*..... 665

- Health conditions of Hitnü indigenous people potentially exposed to crude oil in Arauca, Colombia  
*Carolina Rivero-Rubio, Angélica I. Navarro-Rodríguez, María C. Castro-Reyes, Óscar Araújo-Quintana, José Moreno-Montoya, Jesús A. Estévez-García, Pablo A. Martínez-Silva, Álvaro J. Idrovo, Claudia Amaya-Castellanos*..... 679

- Gene expression profiles of *ERG11*, *MDR1* and *AFR1* in *Cryptococcus neoformans* var. *grubbi* isolated from HIV patients  
*Isaura Torres, Juan E. Gallo, Óscar Mauricio Gómez, Álvaro Rúa-Giraldo, Juan G. McEwen, Ana María García*..... 697

- Cost-effectiveness of extracorporeal membrane oxygenation in patients with acute respiratory distress syndrome in Colombia  
*Alex García, Nelson Darío Giraldo*..... 707

- Indexes**..... 717

## Editorial

### **Reflexiones sobre innovación en salud pública: avances y retos en Colombia**

La innovación técnico-científica es esencial para potenciar el desarrollo social y económico de un país (1). Tanto en el sector público como en el privado, la innovación es una fuente constante de crecimiento, ahorro de costos y mejoras en la calidad de los servicios que se prestan. Es por esto que existe un consenso mundial sobre la necesidad de potenciar los procesos de creatividad e innovación en las diferentes instituciones, partiendo de las exigencias y necesidades de las nuevas realidades (2) y abarcando la aceptación del riesgo, la incertidumbre y la posibilidad de fracaso; todos estos, inherentes al proceso de innovación para la creación de nuevos bienes y servicios gubernamentales, mejoras en la calidad de los bienes y servicios existentes y en la gestión de los procesos del gobierno (3).

El concepto de innovación en salud abarca una serie de nuevas estrategias, perspectivas, comportamientos y formas de trabajo orientadas a la solución de los diferentes problemas en salud, incluyendo, no solo tecnologías sino también mejores sistemas y políticas en salud (4). Según Garney, *et al.* (5), la innovación en salud se enmarca en un proceso cíclico de retroalimentación, el cual parte de una condición existente bajo la cual se presenta una insatisfacción con las circunstancias actuales, impulsando el deseo de cambio. Para que estas innovaciones se desarrollen, se requiere de varios aspectos. Por un lado, son necesarios un clima y un contexto, es decir, unas normas sociales y culturales que las limiten o las impulsen, tales como subvenciones, apoyos económicos y restricciones. Además, son necesarios los espacios, esto es, la aprobación por parte de las organizaciones, la presencia de incentivos, recursos y habilidades para el desarrollo de la innovación. Igualmente, son imprescindibles los procesos, los cuales hacen referencia a la iteración de reflexión a partir del error, empleando el pensamiento sistémico y de diseño; y las asociaciones, que son las personas o grupos de trabajo con capacidades y prácticas para la innovación.

Este marco planteado puede ser extendido a diferentes temáticas en salud pública, donde toda innovación parte de un *status quo* y de una participación activa de las agencias o entidades gubernamentales que aportan a la generación de lineamientos y políticas públicas. En cuanto al análisis holístico y el pensamiento de diseño, es necesaria la identificación de relaciones y patrones en los problemas de salud pública, evitar el enfoque de búsqueda de una causalidad lineal y tener en cuenta las interacciones de diferentes factores, siempre partiendo de las necesidades de la población objetivo, sus comentarios y apreciaciones para satisfacer directamente a los pacientes y a la comunidad en general a la cual está dirigida la innovación. Finalmente, cabe destacar que el desarrollo de las capacidades de innovación solo se produce con la experiencia y que las personas sean flexibles en su pensamiento; por

#### **Citación:**

Parra-Henao G. Reflexiones sobre innovación en salud pública: avances y retos en Colombia. *Biomédica*.2022;42:550-3.

tanto, se debe evitar ingresar a un proyecto con un resultado predefinido en mente para luego alcanzarlo (5).

En Colombia, se han dado avances en ciencia, tecnología e innovación. En el 2021 se actualizó la política nacional de ciencia, tecnología e innovación y se emitió el documento CONPES 4069 (6), el cual busca convertirnos en uno de los tres países líderes de Latinoamérica y lograr una inversión nacional del 1 % del PIB en investigación y desarrollo, lo cual impactaría positivamente al país en lo social, lo económico y lo ambiental. El documento incluye el incremento de las capacidades de las instituciones generadoras del conocimiento y de las entidades de soporte a través de una estrategia para fortalecer el ecosistema científico del país que incluye:

“[...] la formulación e implementación del plan estratégico para la integración de Institutos y centros públicos de investigación, que, manteniendo su identidad y autonomía, les permita compartir capacidades e infraestructuras para el desarrollo de proyectos de CTI [...]” (Consejo Nacional de Política Económica y Social, 2021) (6).

En el marco de este CONPES, el ecosistema de ciencia, tecnología e innovación en Colombia cuenta con un amplio escenario de posibilidades de desarrollo de innovación en salud. De acuerdo con las cifras de la última medición de grupos de investigación de Minciencias (7), de los 6.160 grupos de investigación reconocidos en Colombia, el 17 % pertenece a las ciencias médicas y de la salud. Estos pertenecen a las universidades y centros e institutos, mixtos o privados, que desarrollan investigación e innovación en el área. En cuanto al sector público, en el área de salud, cinco instituciones generadoras del conocimiento cuentan con capacidades, conocimientos, personal y líneas de investigación y equipos para aportar a la generación de bienes públicos en el área de la salud: Instituto Nacional de Cancerología, Centro Dermatológico Federico Lleras Acosta, Instituto de Evaluación de Tecnologías en Salud, Instituto Nacional de Salud y el Instituto Nacional de Medicina y Ciencias Forenses (8).

No obstante, las ideas valiosas pueden provenir de adentro de la entidad o instituciones generadoras del conocimiento, o fuera de esta. Actualmente, una de las estrategias de innovación que ha cobrado fuerza es la innovación abierta, en la cual, mediante la colaboración, se reducen riesgos y se aprovechan conocimientos, capacidades y experiencias que pueden aportar actores externos involucrados en la solución de un problema a través de un clúster de innovación, el cual reúne una serie de partes interesadas que comparten desafíos y proponen iniciativas e intervenciones para solucionarlo (9). La pandemia, por ejemplo, ha sido un desafío para muchos sistemas de salud pública. La innovación en salud y la articulación de diferentes actores son una forma eficiente y efectiva de dar respuesta donde se requiere la capacidad de asociación para concebir ideas disruptivas, crear estrategias y políticas que permitan la incorporación de soluciones a corto, mediano y largo plazo para los diferentes problemas que se avecinan en esta época de postpandemia (10).

Además, la evolución y los constantes cambios de las nuevas tecnologías como el internet de las cosas, la nube, el *Big Data*, las *smart cities*, la inteligencia artificial, la impresión 3D, la medicina personalizada, el *blockchain* y los robots, entre otras, siguen modelos basados en plataformas tecnológicas, la cual es otra estrategia que permite la generación de innovaciones a través de procesos de colaboración con socios o partes interesadas de un ecosistema; esto para promover estilos de vida saludables, prevención primaria y secundaria y el diagnóstico temprano, donde se

involucran diferentes componentes que permiten crear modelos de asociación técnico-científico y que complementen las capacidades resolutorias (11).

Por otra parte, otra de las estrategias aplicadas a la salud pública es la innovación social. Esta permite encontrar nuevas y efectivas soluciones a problemas de salud generando impactos sociales tangibles. La innovación social ha ganado fuerza a nivel gubernamental debido a experiencias anteriores que resultaron en la ineficiencia de algunas políticas públicas, las cuales han buscado alcanzar metas que distan ampliamente de la realidad de las comunidades. Esta estrategia demanda la desaparición de la inmediatez, la reducción de la certidumbre y la necesidad de continuidad de las políticas. Asimismo, involucra a la sociedad para resolver problemas a través de metodologías abiertas que van desde lo digital hasta lo ancestral y que estrechan vínculos entre el gobierno, la sociedad civil, las empresas privadas y las organizaciones no gubernamentales (12).

Como se puede evidenciar, la innovación en salud pública en el país puede apalancarse con estrategias que dan cabida a la participación de múltiples actores en búsqueda del beneficio de las comunidades. De esta manera, instituciones como el Instituto Nacional de Salud han creado dependencias como la Subdirección de Innovación en Salud Pública para apoyar este aspecto importante para el avance del ecosistema de salud del país. Asimismo, desde el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación del país se han impulsado estrategias innovadoras propuestas desde universidades y centros de investigación para afrontar la reciente pandemia por COVID-19. Todas estas estrategias, sumadas a otras iniciativas en innovación en salud pública de diferentes entidades, nos permite ver con optimismo el avance del ecosistema de innovación en el país. El reto futuro es continuar apoyando las estrategias de innovación en salud pública y asegurar su financiamiento a través de diferentes mecanismos del orden nacional, departamental, municipal y del sector privado.

Gabriel Parra-Henao

Instituto Nacional de Salud, Subdirección de Innovación en Salud Pública, Dirección de Investigación en Salud Pública, Bogotá, D.C., Colombia

## Referencias

1. German-Soto V, Rubio MS, Flores LG. Innovación y crecimiento económico regional: evidencia para México. *Prob Des.* 2021;52:145-72. <https://doi.org/10.22201/iiec.20078951e.2021.205.69710>
2. de Almeida OG. El financiamiento, la ciencia, la tecnología e innovación y la educación superior en los países en vías de desarrollo. *Rev Cuba Edu Super.* 2017;36:4-19.
3. United Nations Economic Commission for Europe. *Innovation in the public sector: Country experiences and policy recommendations.* Ginebra: United Nations; 2021. p. 3-18. <https://doi.org/10.18356/9789213627990>
4. Ruiz Ibáñez C. Casos de innovación en salud en Colombia: retos y proyectos. *Rev Ing Biomédica.* 2012;6:10-21.
5. Garney WR, Wilson KL, Garcia KM, Muraleetharan D, Esquivel CH, Spadine MN, *et al.* Supporting and enabling the process of innovation in public health: The framework for public health innovation. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19:10099. <https://doi.org/10.3390/ijerph191610099>
6. Consejo Nacional de Política Económica y Social. Documento Conpes 3582: Política Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2022-2031. Bogotá: CONPES; 2021. p.108.
7. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación. Grupos de Investigación reconocidos por Minciencias. 2021. Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2022. Disponible en: <https://minciencias.gov.co/la-ciencia-en-cifras/grupos>

8. Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación. Invitación a presentar propuesta para contratación de actividades de CTel: "Diseño y formulación de un plan para el fortalecimiento y la integración de los centros e institutos públicos de investigación y desarrollo" 2022. Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2022. Disponible en: <https://minciencias.gov.co/convocatorias/invitacion-para-presentacion-propuestas/invitacion-presentar-propuesta-para-12>
9. Chesbrough HW. The open innovation paradigm. In: Open innovation: The new imperative for creating and profiting from technology. Boston, MA: Harvard Business School Press; 2003. Fecha de consulta: 9 de noviembre de 2022. Disponible en: [https://books.google.com.co/books?id=OeLIH89YiMcC&pg=PA21&hl=es&source=gbs\\_toc\\_r&cad=3#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.co/books?id=OeLIH89YiMcC&pg=PA21&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=false)
10. Guarcello C, de Vargas ER. Service innovation in healthcare: A systematic literature review. Latin American Business Review. 2020;21:353-69. <https://doi.org/10.1080/10978526.2020.1802286>
11. Viswanadham N. Ecosystem model for healthcare platform. Sādhanā. 2021;46. <https://doi.org/10.1007/s12046-021-01708-y>
12. Barzola MV, Mendoza M, Barzola MV, Mendoza M. Políticas de Estado para la innovación social a través del diseño. Cuadernos del Centro de Estudios en Diseño y Comunicación. Ensayos. 2020;83:15-24. <https://doi.org/10.18682/cdc.vi83.3727>

Reporte de caso

## Síndrome de Adams-Oliver y complicaciones asociadas: reporte de una familia en Colombia y revisión de la literatura

Olga Lucía Morales<sup>1</sup>, Jerly Maybelline Díaz<sup>2</sup>, Jorge Hernán Montoya<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Pediatría, Grupo de Investigación PEDIACIENCIAS, Universidad de Antioquia, Hospital San Vicente Fundación, Clínica Noel, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Hospital San Vicente Fundación, Medellín, Colombia

El síndrome de Adams-Oliver es un trastorno congénito raro, caracterizado por aplasia cutis congénita en el cuero cabelludo, defectos terminales transversales de las extremidades y piel *marmorata* telangiectásica congénita. Este puede presentarse debido a diferentes patrones de herencia de tipo autosómico dominante o autosómico recesivo, o por mutaciones dominantes *de novo*.

Aunque el síndrome de Adams-Oliver es una enfermedad poco frecuente, es importante conocer sus características clínicas y patrones de herencia, para así establecer un correcto diagnóstico y sus posibles complicaciones durante el seguimiento.

En el presente estudio, se describe el caso de una adolescente con síndrome de Adams-Oliver con patrón de herencia autosómica dominante, hipertensión pulmonar y bronquitis plástica. Había varios miembros de su familia con el mismo compromiso

**Palabras clave:** síndrome de Adams-Oliver; displasia ectodérmica; deformidades congénitas de las extremidades; patrón de herencia

### Adams-Oliver syndrome and associated complications: Report of a family in Colombia and review of the literature

The Adams-Oliver syndrome is a rare congenital disorder characterized by aplasia cutis congenita of the scalp, terminal transverse limb defects, and congenital telangiectatic cutis marmorata. It can occur through different inheritance patterns: autosomal dominant, autosomal recessive, or *de novo* dominant mutations.

Although the Adams-Oliver syndrome is a rare disease, it is essential to know its clinical characteristics and inheritance patterns, to establish a correct diagnosis and its possible complications during follow-up.

In the present study, we describe the case of an adolescent with Adams-Oliver syndrome with an autosomal dominant inheritance pattern, pulmonary hypertension and plastic bronchitis, and several compromised family members.

**Key words:** Adams-Oliver syndrome; ectodermal dysplasia; limb deformities, congenital; inheritance pattern.

Forrest H. Adams y C. P. Oliver describieron este síndrome por primera vez en 1945 en ocho miembros afectados de tres generaciones de una misma familia (1). Desde entonces, se han reportado más de 200 casos de pacientes con esta misma entidad, y se estima una incidencia de 0,44 por 100.000 nacidos vivos. El síndrome de Adams-Oliver se caracteriza por aplasia cutis congénita del cuero cabelludo y defectos terminales transversales de las extremidades. Asimismo, existe un espectro amplio de afectaciones con compromiso cutáneo, neurológico, cardiovascular, locomotor, renal y ocular (2).

Esta enfermedad se ha asociado con diversos patrones de herencia, los cuales dependen de los genes implicados. Las mutaciones en los genes *ARHGAP31* (3), *NOTCH1* (4,5), *DLL4* (6) o *RBPJ* (7) se han correlacionado con la herencia autosómica dominante, mientras que las mutaciones en los genes *DOCK6* (8) o *EOGT* (9) se asocian con la herencia autosómica recesiva. Asimismo, en algunos estudios se ha evidenciado una fuerte correlación entre el genotipo y la expresión del fenotipo, como el hallazgo de una proporción significativamente mayor de anomalías cardíacas congénitas en pacientes con *AOS5* —una variante del gen *NOTCH1*— lo que podría

**Recibido:** 08/03/2022

**Aceptado:** 13/10/2022

**Publicado:** 18/12/2022

**Citación:**

Morales OL, Díaz JM, Montoya JH. Síndrome de Adams-Oliver y complicaciones asociadas: reporte de una familia en Colombia y revisión de la literatura. *Biomédica*. 2022;42:554-61.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6524>

**Correspondencia:**

Olga Lucía Morales, Diagonal 75 C N° 2A-14, interior 320, Medellín, Colombia  
Teléfonos: (604) 341 9677 y (300) 481 9423  
olmunera@yahoo.com

**Contribución de los autores:**

Olga Lucía Morales y Jerly Maybelline Díaz: recolección de datos, localización de los pacientes y evaluación estadística

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

**Financiación:**

No se recibió ninguna financiación.

**Conflicto de intereses:**

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

representar un subtipo distinto de síndrome de Adams-Oliver asociado con malformaciones cardíacas (5). De igual manera, la aparición aislada de este síndrome en algunas familias sugiere mutaciones dominantes *de novo* (4,10).

Teniendo en cuenta la poca frecuencia de este síndrome, así como su relación familiar, se describe el caso de una adolescente y su familia, para que se tenga en cuenta como sospecha diagnóstica de nuevos casos.

### **Caso clínico**

Se trata de una paciente de sexo femenino de 13 años, producto del tercer embarazo, a término, cuya talla al nacer fue de 47 cm y cuyo peso fue de 2.470 g. Se practicó una cesárea debido a sufrimiento fetal agudo y sangrado genital masivo posterior a la amiotomía, que laceró estructuras varicosas del cuero cabelludo de la paciente.

Al nacimiento, fue hospitalizada por choque hipovolémico, y se evidenció aplasia cutis congénita, vasos prominentes y tortuosos en el cuero cabelludo (figura 1), defectos transversales en los dedos de los pies, hipoplásicos, presencia de sindactilia y *cutis marmorata* telangiectásica (figura 2). En la angiorresonancia cerebral, no se observaron lesiones vasculares intracraneanas.

A los dos meses de vida, presentó episodios de apnea y cianosis con recuperación espontánea, con resultados normales en la ecocardiografía y demás estudios clínicos. A los cuatro meses, presentó paro respiratorio con recuperación rápida tras el inicio de oxígeno suplementario y presión positiva. Una nueva ecocardiografía reportó signos indirectos de hipertensión pulmonar. Los resultados de la angiorresonancia de tórax y abdomen, y la polisomnografía, fueron normales.



**Figura 1.** Paciente con síndrome de Adams-Oliver con dilatación y tortuosidad venosa en el cuero cabelludo



**Figura 2.** *Cutis marmorata* telangiectásica y defectos transversales en los dedos de los pies. En el pie derecho se observa sindactilia entre el segundo y el tercer dedo, hipoplasia del tercero y uñas displásicas, con un pliegue cutáneo profundo que rodea el primer dedo o dedo gordo.

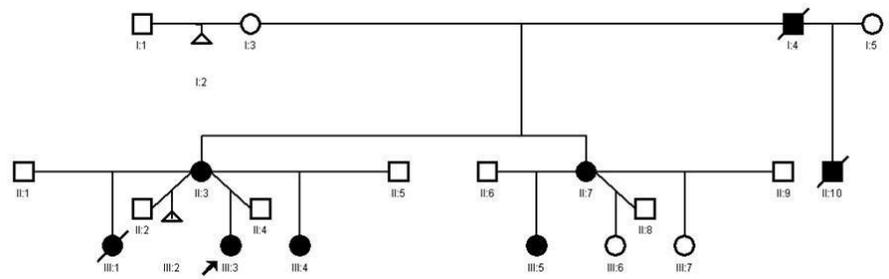
A los 3 años consultó por tos de dos días de evolución, con expectoración de moldes de fibrina hemoptoicos, y se diagnosticó bronquitis plástica. Este diagnóstico se confirmó por medio de estudios de histopatología, en los cuales se observaron moldes de tejido con presencia de fibrina y algunos linfocitos acompañados de células espumosas. Se inició tratamiento con dornasa alfa, N-acetilcisteína nebulizada y terapia respiratoria. Hasta el presente, la paciente continúa presentando periodos con expectoración de membranas.

A los 3 años, el resultado de la ecocardiografía reportó hipertensión pulmonar moderada y dilatación de cavidades derechas, por lo que se inició su manejo con sildenafil. En los controles ecocardiográficos, se reportó una disminución del grado de hipertensión pulmonar, de leve hasta nula.

A los 5 años, presentó fatiga y cianosis cuando realizaba alguna actividad física. En el ecocardiograma se encontró una hipertensión pulmonar moderada; en el electrocardiograma, hipertrofia ventricular derecha, y en el cateterismo cardíaco, una hipertensión pulmonar moderada con reactividad vascular al oxígeno. Por estos hallazgos, se continuó el tratamiento con sildenafil y oxígeno domiciliario. Posteriormente, en el mismo año, en el ecocardiograma de control se encontraron signos indirectos de hipertensión pulmonar y la caminata de 6 minutos fue normal.

A los 7 años, se observaron várices y edema de miembros inferiores, descartándose trombosis venosa profunda.

A la misma edad, y posteriormente a los 13 años, los resultados del ecocardiograma de control informaron signos indirectos de hipertensión pulmonar leve y la caminata de 6 minutos fue normal. En la actualidad, el seguimiento ambulatorio y la continuidad del suministro de los medicamentos se han visto afectados por dificultades socioeconómicas e inconvenientes administrativos por parte de su aseguradora.



**Figura 3.** Árbol genealógico con patrón de herencia autosómica dominante

Entre los antecedentes familiares (figura 3), el abuelo materno presentaba una alteración vascular en el cuero cabelludo y vasos prominentes en varias partes del cuerpo; la tía materna tenía defectos transversales de los dedos de los pies, malformaciones vasculares en el cuero cabelludo y *cutis marmorata* telangiectásica.

La madre presentaba lesiones similares en el cuero cabelludo y, en ese momento, una cicatriz alopecica en el vértice de la cabeza, anomalías de los dedos, venas prominentes en varias partes del cuerpo, con antecedente de retardo en el crecimiento intrauterino. En la actualidad, manifiesta cansancio, con limitación para realizar actividades de mediana intensidad, pero, por dificultades socioeconómicas, no tiene seguimiento médico ni ecocardiografía actualizada.

La hermana mayor murió a los 4 meses de edad, a causa de una miocarditis aguda (según el informe de patología). Sin embargo, presentaba lesiones vasculares en el cuero cabelludo y la frente, y piel *marmorata*, sin alteraciones en los dedos. Por otro lado, la hermana menor presentaba malformaciones del cuero cabelludo, sin cambios en la piel o en los dedos.

El presente estudio es una investigación de bajo riesgo, según la definición del Invima (Resolución 8430 de 1993) y los principios de la declaración de Helsinki. Se obtuvo la aceptación para la publicación de la historia clínica y las imágenes, junto con el consentimiento informado por parte de la madre de la paciente. Además, se obtuvo aprobación por parte del Comité de Ética del Hospital San Vicente Fundación.

## Discusión

En el presente estudio, se describe el caso de una paciente con síndrome de Adams-Oliver, con las características clínicas clásicas de esta entidad: aplasia cutis congénita, que se presenta en el 80 % de los casos, defectos terminales transversales de las extremidades, en el 85 %, y *cutis marmorata* telangiectásica, en 20 al 25 % de los casos (11). Entre los hallazgos que se destacan, se encuentra la hipertensión pulmonar, reportada en el 5 % de los casos, además del retardo del crecimiento intrauterino y la bronquitis plástica, no descrita en este grupo de pacientes en la literatura científica.

El síndrome de Adams-Oliver es una enfermedad rara, con amplia variedad de manifestaciones clínicas, suficientes para establecer el diagnóstico sin requerir estudios genéticos, como se evidencia en el presente caso (cuadro 1). Sin embargo, se han descrito algunos genes relacionados con hallazgos clínicos específicos (cuadro 2).

**Cuadro 1.** Criterios diagnósticos del síndrome de Adams-Oliver (2)

1. Hallazgos sugestivos de aplasia cutis congénita del cuero cabelludo y defectos terminales transversales de las extremidades
2. Aplasia cutis congénita del cuero cabelludo y defectos terminales transversales de las extremidades, y un familiar en primer grado con hallazgos consistentes con síndrome de Adams-Oliver
3. Aplasia cutis congénita del cuero cabelludo y defectos terminales transversales de las extremidades, y una variante patogénica de un gen relacionado con síndrome de Adams-Oliver autosómico dominante (*ARHGAP31*, *DLL4*, *NOTCH1* o *RBPJ*), o dos variantes patogénicas de un gen relacionado con el síndrome de Adams-Oliver autosómico recesivo (*DOCK6* o *EOGT*).

Reproducido con autorización de: Lehman A, Wuyts W, Patel MS. Adams-Oliver Syndrome. In: Adam MP, Everman DB, Mirzaa GM, *et al.*, editors. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2022. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK355754/>

**Cuadro 2.** Manifestaciones clínicas del síndrome de Adams-Oliver y mutaciones genéticas asociadas

Órgano o sistema	Afectación	Mutación genética asociada
Cutáneo o craneal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cutis marmorata telangiectásica</li> <li>• Aplasia cutis congénita</li> </ul>	DLL4 (11), AOS3, AOS4 (3)
Ocular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vasularización retiniana incompleta o anormal</li> <li>• Sangrado retiniano</li> <li>• Desprendimiento de retina</li> <li>• Retinopatía proliferativa (12)</li> <li>• Microftalmos</li> <li>• Cataratas</li> <li>• Esotropía</li> </ul>	DOCK6 (13), AOS2, AOS6 (4)
Neurológico	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Calcificaciones intracraneales</li> <li>• Discapacidad intelectual</li> <li>• Convulsiones</li> <li>• Parálisis cerebral</li> <li>• Trastornos del espectro autista</li> <li>• Microcefalia</li> <li>• Displasia cortical</li> <li>• Mielinización retardada</li> </ul>	DOCK6 (alto riesgo), ARHGAP31 (bajo riesgo), AOS2 (mal pronóstico) (4) Raro: NOTCH1, DLL4 y EOGT (14)
Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Malformaciones cardíacas (15)</li> <li>• Estenosis de la vena pulmonar</li> <li>• Hipertensión pulmonar</li> <li>• Irrigación sanguínea intestinal deficiente (16)</li> <li>• Vasos aberrantes de vellosidades coriónicas placentarias</li> <li>• Hipertensión portal idiopática</li> <li>• Venas del cuero cabelludo tortuosas y dilatadas (2)</li> </ul>	NOTCH1, (14) DOCK6, DLL4 y EOGT (alto riesgo), RBPJ y RHGAP31 (bajo riesgo), AOS5
Locomotor	<ul style="list-style-type: none"> <li>Defectos terminales transversales de las extremidades</li> <li>• Dedos hipoplásicos</li> <li>• Braquisindactilia</li> <li>• Ectrodactilia (13)</li> </ul>	ARHGAP31, AOS3, DOCK6 y EOGT (14)
Otros	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Paladar hendido</li> <li>• Gastrosquisis</li> <li>• Malformaciones renales</li> <li>• Pezones supernumerarios</li> <li>• Retraso del crecimiento intrauterino (11)</li> </ul>	

La hipertensión pulmonar es poco frecuente en este síndrome, pero se relaciona con gran morbimortalidad (2). Varios autores han propuesto una vasculopatía como causa de esta condición, incluyendo diferentes hipótesis como trombosis (17), interrupción vascular de cualquier etiología (18), hipoplasia arterial (19,20), anomalías específicas de las células endoteliales (21) y reclutamiento anormal de los pericitos en los vasos sanguíneos, lo que podría explicar los vasos dilatados y tortuosos, así como los defectos terminales de las extremidades (22).

La bronquitis plástica es una complicación rara y grave de las enfermedades respiratorias asociadas con trastornos bronquiales hipersecretorios difusos, anomalías linfáticas e infecciones, después de cirugías para cardiopatías congénitas, principalmente la de Fontan. Se caracteriza por la formación de moldes de cilindros bronquiales espesos que conducen a la oclusión total o parcial de la vía aérea, los cuales pueden ser expectorados. Se clasifican en dos tipos: en el tipo 1, más frecuente con enfermedades pulmonares, los moldes están formados por células inflamatorias, y en el tipo 2, relacionado con cardiopatías, los moldes son hipocelulares y contienen mucina (23).

Nuestra paciente presenta expectoración recurrente de dichos moldes, los que consideramos que son más probablemente del tipo 2 por el escaso número de células y podrían atribuirse a las alteraciones del endotelio con anomalías vasculares y linfáticas que pueden generar hipertensión venosa central, estasis linfática y salida de linfa al árbol bronquial, con pérdida de células linfoides e inmunoglobulinas, lo que implica mayor propensión a infecciones, como se describe en el presente caso (23). Este es el primer caso descrito de bronquitis plástica asociada con el síndrome de Adams-Oliver, según la bibliografía consultada.

Por otro lado, como se mencionó anteriormente, hay diferentes formas de herencia involucradas en este síndrome. En el presente caso, al observarse afectación de ambos sexos, sin saltos generacionales, se puede concluir que se trata de un patrón de herencia autosómica dominante, como en la mayoría de los reportes de casos (24). Asimismo, se han involucrado diferentes mecanismos fisiopatológicos con este síndrome, como los defectos del citoesqueleto de actina por los genes *ARHGAP31* y *DOCK6*, la alteración de la señalización de Notch por el *RBPJ* y el *NOTCH1*, y la alteración postraduccional de la O-acetilación por el *EOGT* (14).

De igual manera, se han propuesto otros posibles mecanismos fisiopatológicos, entre los que se encuentran la irrigación vascular anormal en la fase de embriogénesis y numerosos microtrombos en la placenta, alteración del suministro de sangre en las ramas de las arterias subclavia y vertebral, detención del desarrollo en la formación de tejidos blandos y esqueléticos, y bandas amnióticas (24).

Entre los diagnósticos diferenciales del síndrome de Adams-Oliver, se pueden encontrar el síndrome cuero cabelludo-oreja-pezones, la aplasia cutis congénita aislada (2), la secuencia de bandas amnióticas (25), el síndrome de Poland (2) y el síndrome de Goltz (25).

## Conclusiones

Aunque el síndrome de Adams-Oliver es una enfermedad poco frecuente, es importante conocer su existencia, sus características clínicas y sus patrones de herencia, para así establecer su correcto diagnóstico y posibles complicaciones durante el seguimiento. En el presente caso, la paciente presentó hipertensión pulmonar y bronquitis plástica; esta última no había sido descrita anteriormente en esta entidad. Se requieren más estudios para establecer el pronóstico de estos pacientes a corto, mediano y largo plazo.

## Referencias

1. Piazza AJ, Blackston D, Sola A. A case of Adams-Oliver syndrome with associated brain and pulmonary involvement: Further evidence of vascular pathology? *Am J Med Genet A*. 2004;130A:172-5. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30210>

2. Lehman A, Wuyts W, Patel MS. Adams-Oliver syndrome. In: Adam MP, Everman MB, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean L, *et al*, editors. Gene Reviews. Seattle (WA): University of Washington; 1993.
3. Schröder KC, Duman D, Tekin M, Schanze D, Sukalo M, Meester J, *et al*. Adams-Oliver syndrome caused by mutations of the *EOGT* gene. *Am J Med Genet A*. 2019;179:2246-51. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61313>
4. Sukalo M, Tilsen F, Kayserili H, Müller D, Tüysüz B, Ruddy DM, *et al*. *DOCK6* mutations are responsible for a distinct autosomal-recessive variant of Adams-Oliver syndrome associated with brain and eye anomalies. *Hum Mutat*. 2015;36:593-8. <https://doi.org/10.1002/humu.22795>
5. Southgate L, Sukalo M, Karountzos AS, Taylor EJ, Collinson CS, Ruddy D, *et al*. Haploinsufficiency of the *NOTCH1* receptor as a cause of Adams-Oliver syndrome with variable cardiac anomalies. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015;8:572-81. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.115.001086>
6. Meester JA, Southgate L, Stittrich AB, Venselaar H, Beekmans SJ, den Hollander N, *et al*. Heterozygous loss-of-function mutations in *DLL4* cause Adams-Oliver syndrome. *Am J Hum Genet*. 2015;97:475-82. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.07.015>
7. Hased SJ, Wiley GB, Wang S, Lee JY, Li S, Xu W, *et al*. *RBPJ* mutations identified in two families affected by Adams-Oliver syndrome. *Am J Hum Genet*. 2012;91:391-5. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2012.07.005>
8. Shaheen R, Faqeih E, Sunker A, Morsy H, Al-Sheddi T, Shamseldin HE, *et al*. Recessive mutations in *DOCK6*, encoding the guanidine nucleotide exchange factor *DOCK6*, lead to abnormal actin cytoskeleton organization and Adams-Oliver syndrome. *Am J Hum Genet*. 2011;89:328-33. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2011.07.009>
9. Shaheen R, Aglan M, Keppler-Noreuil K, Faqeih E, Ansari S, Horton K, *et al*. Mutations in *EOGT* confirm the genetic heterogeneity of autosomal-recessive Adams-Oliver syndrome. *Am J Hum Genet*. 2013;92:598-604. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2013.02.012>
10. Meester JAN, Sukalo M, Schröder KC, Schanze D, Baynam G, Borck G, *et al*. Elucidating the genetic architecture of Adams-Oliver syndrome in a large European cohort. *Hum Mutat*. 2018;39:1246-61. <https://doi.org/10.1002/humu.23567>
11. Kojmane W, Hmami F, Atmani S. Syndrome d'Adams-Oliver et cutis marmorata telangiectatica congenita [Adams-Oliver syndrome and cutis marmorata telangiectatica congenita]. *Ann Dermatol Venereol*. 2019;146:223-5. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2018.11.009>
12. Meyer BI, Williams PJ, Hanif AM, Lenhart PD, Hubbard GB 3rd, Jain N. Proliferative retinopathy in a 13-year-old with Adams-Oliver syndrome. *Retin Cases Brief Rep*. 2020. <https://doi.org/10.1097/ICB.0000000000001073>
13. Hased S, Li S, Mulvihill J, Aston C, Palmer S. Adams-Oliver syndrome review of the literature: Refining the diagnostic phenotype. *Am J Med Genet A*. 2017;173:790-800. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37889>
14. Dudoignon B, Huber C, Michot C, Di Rocco F, Girard M, Lyonnet S, *et al*. Expanding the phenotype in Adams-Oliver syndrome correlating with the genotype. *Am J Med Genet A*. 2020;182:29-37. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61364>
15. Algaze C, Esplin ED, Lowenthal A, Hudgins L, Tacy TA, Selamet-Tierney ES. Expanding the phenotype of cardiovascular malformations in Adams-Oliver syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:1386-9. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.35864>
16. O'Neill M. Adams-Oliver Syndrome 5; AOS5. Adams-Oliver syndrome 5; AOS5. Fecha de consulta: 28 de julio del 2022. Disponible en: <https://www.omim.org/entry/616028?search=SINDROME%20DE%20ADAMS%20OLIVER&highlight=adam%20de%20oliver%20sindrome>
17. Hoyme HE, Jones KL, van Allen MI, Saunders BS, Benirschke K. Vascular pathogenesis of transverse limb reduction defects. *J Pediatr*. 1982;101:839-43. [https://doi.org/10.1016/s0022-3476\(82\)80343-0](https://doi.org/10.1016/s0022-3476(82)80343-0)
18. Toriello HV, Graff RG, Florentine MF, Lacina S, Moore WD. Scalp and limb defects with cutis marmorata telangiectatica congenita: Adams-Oliver syndrome? *Am J Med Genet*. 1988;29:269-76. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320290204>
19. Chitayat D, Meunier C, Hodgkinson KA, Robb L, Azouz M. Acrania: A manifestation of the Adams-Oliver syndrome. *Am J Med Genet*. 1992;44:562-6. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320440506>

20. Fryns JP, Legius E, Demaerel P, van den Berghe H. Congenital scalp defect, distal limb reduction anomalies, right spastic hemiplegia and hypoplasia of the left arteria cerebri media. Further evidence that interruption of early embryonic blood supply may result in Adams-Oliver (plus) syndrome. *Clin Genet*. 1996;50:505-9. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.1996.tb02723.x>
21. Swartz EN, Sanatani S, Sandor GG, Schreiber RA. Vascular abnormalities in Adams-Oliver syndrome: Cause or effect? *Am J Med Genet*. 1999;82:49-52. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-8628\(19990101\)82:1<49:aid-ajmg10>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-8628(19990101)82:1<49:aid-ajmg10>3.0.co;2-m)
22. Patel MS, Taylor GP, Bharya S, Al-Sanna'a N, Adatia I, Chitayat D, *et al*. Abnormal pericyte recruitment as a cause for pulmonary hypertension in Adams-Oliver syndrome. *Am J Med Genet A*. 2004;129A:294-9. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.30221>
23. Mendoza-Soto A, Galletti L, Gómez de Quero P, Ramos-Casado MV, Velasco-Bayón JM. Bronquitis plástica. A propósito de un caso y revisión de los casos asociados a cirugía de Fontan. *An Pediatr (Barc)*. 2005;62:72-5. <https://doi.org/10.1157/13070185>
24. Saeidi M, Ehsanipoor F. A case of Adams-Oliver syndrome. *Adv Biomed Res*. 2017;6:167. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.221861>
25. Kasinathan A, Sharawat IK, Das G, Sankhyan N. Adams-Oliver syndrome: Limited expression. *Indian J Pediatr*. 2019;86:101-2. <https://doi.org/10.1007/s12098-018-2720-2>

Ensayo

## Teoría de la complejidad en la atención del paciente con dolor musculoesquelético

Mauro Andreu<sup>1,2</sup>, Pablo Policastro<sup>3,4</sup>, Tatiana Días<sup>1</sup>, Yolanda Pardo<sup>5,6,7</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Salud, Universidad Nacional de La Matanza, San Justo, Buenos Aires, Argentina

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de las Américas, Quito, Ecuador

<sup>3</sup> KINÉ- Kinesiólogía Deportiva y Funcional, Buenos Aires, Argentina

<sup>4</sup> Unidad de Kinesiólogía, Hospital Durand, Buenos Aires, Argentina

<sup>5</sup> Consorcio de Investigación Biomédica en Red, Epidemiología y Salud Pública Barcelona, España

<sup>6</sup> Grupo de Investigación en Servicios Sanitarios, Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas, Barcelona, España

<sup>7</sup> Departamento de Psiquiatría y Medicina Legal, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España

Los sistemas no lineales no son susceptibles de ser investigados con métodos reduccionistas. En este sentido, la teoría de la complejidad ofrece un enfoque alternativo para cuantificar la importancia de los factores contextuales en el paciente con dolor musculoesquelético.

El resultado del uso positivo (placebo) o negativo (nocebo) de factores contextuales en el entorno terapéutico, podría ser responsable de gran parte de un componente inespecífico en la eficacia del tratamiento, afectando directamente la calidad de los resultados relacionados con la salud del paciente (por ejemplo, dolor, funcionalidad o satisfacción).

En los últimos años, se ha incrementado la comprensión del valor de estos efectos. A pesar del creciente interés, el conocimiento y el reconocimiento de los efectos terapéuticos, continúan siendo limitados y heterogéneos entre los fisioterapeutas, lo cual reduce su valor traslacional en el campo de la fisioterapia.

El propósito de este estudio es presentar el abordaje del paciente con dolor musculoesquelético desde la perspectiva de la teoría de la complejidad.

**Palabras clave:** análisis de sistemas; dolor musculoesquelético; modelos de fisioterapia; placebos; efecto nocebo

### Complexity theory in the management of patients with musculoskeletal pain

Nonlinear systems are not susceptible to research with a reductionist approach. In this sense, the complexity theory provides an alternative approach to quantify the importance of contextual factors in patients with musculoskeletal pain. The use of positive (placebo) or negative (nocebo) contextual factors in the therapeutic setting could largely account for the non-specific component of treatment efficacy, directly affecting the quality of patients' health-related outcomes (e.g., pain, disability, or satisfaction). In recent years, there has been a better understanding of the effects of contextual factors. However, the knowledge and awareness of them is limited and heterogeneous among physical therapists, reducing their translational value in the field of physiotherapy.

The purpose of this essay is to describe the management of patients with musculoskeletal pain from the complexity theory perspective.

**Keywords:** Systems analysis; musculoskeletal pain; physical therapy modalities; placebos; nocebo effect

Las ciencias de la salud están en constante cambio y el dinamismo conceptual y físico de las enfermedades no debe considerarse meramente como un proceso biocientífico, sino que también implica una amplia gama de experiencias humanas y sociales (1). En estudios recientes se ha demostrado que la complejidad se origina en la interacción entre los propios factores del paciente y otros factores contextuales (2). Sin embargo, las ciencias de la salud, al igual que muchas otras disciplinas científicas, aún optan por métodos clásicos (como el cartesiano) que representan procesos, análisis e interpretaciones desde una perspectiva reduccionista.

La esencia de la susodicha perspectiva radica en que, un problema o el análisis de un objeto, se divide en sus componentes más pequeños, se examina y, luego, la información recopilada se utiliza para sacar conclusiones sobre la naturaleza de una realidad más amplia.

**Recibido:** 25/01/2022

**Aceptado:** 05/09/2022

**Publicado:** 07/09/2022

#### Citación:

Andreu M, Policastro P, Días T, Pardo Y. Teoría de la complejidad en la atención del paciente con dolor musculoesquelético. *Biomédica*. 2022;42:562-73. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6440>

#### Correspondencia:

Mauro Andreu, Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de La Matanza, Florencio Varela, 1903, San Justo, Buenos Aires, Argentina (+54) (11) 6878 8298 [mfandreu@gmail.com](mailto:mfandreu@gmail.com)

#### Contribución de los autores:

Todos los autores han contribuido de forma significativa a la idea, el diseño, la concepción y la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Este proyecto fue parte del "Programa Formando UNLaM" (edición 2021), que tiene como finalidad el otorgamiento de becas para el avance y la finalización de las tesis de posgrado de docentes de la Universidad Nacional de La Matanza, Buenos Aires, Argentina. Esta ayuda fue otorgada al autor Mauro Andreu.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Es fundamental para este enfoque, que el problema se examine por medio de un sistema lineal (3,4). Cuando este es el caso, el enfoque reduccionista es un gran éxito y el profesional de la salud puede, con razón, sentirse seguro al predecir el resultado de una intervención. Sin embargo, las frustraciones aparecen cuando el problema que deseamos examinar no es un sistema lineal simple, sino que, muestra un comportamiento no lineal. Esta problemática de nuestra incapacidad para predecir el resultado en estas situaciones dio nacimiento a la teoría de la complejidad (3).

El dolor es una experiencia subjetiva modulada por una variedad de factores cognitivos, emocionales y sensorio-perceptivos, que surgen del contexto que rodea a la experiencia dolorosa (5,6). El comprender la complejidad del paciente con dolor musculoesquelético es una de las cuestiones más desafiantes, aunque en gran medida poco explorada, pues, los sistemas de salud actuales todavía se centran en las enfermedades individuales y no están equipados para manejar la complejidad (7). En los últimos años, se ha incrementado la comprensión del valor de estos efectos terapéuticos. A pesar del creciente interés, su conocimiento y reconocimiento continúan siendo limitados y heterogéneos entre los fisioterapeutas, lo cual reduce su valor traslacional en el campo de la fisioterapia.

El propósito de este estudio es presentar una visión actual de la teoría de la complejidad durante el tratamiento del paciente con dolor musculoesquelético.

### **Teoría del caos y sistemas complejos**

El desarrollo de la teoría del caos y de la complejidad se dio gracias a la habilidad de las computadoras para llevar a cabo cálculos que rebasan, con mucho, la capacidad del cerebro humano. El experimento clásico de Edward Lorenz formalizó su gestación. Lorenz introdujo variables atmosféricas en un programa computacional, intentando predecir los cambios climáticos. Observó que una minúscula modificación en una de las variables al inicio de los cálculos (en el rango de milésimas de unidad), daba como resultado un algo totalmente diferente (8). Esta sensibilidad a las condiciones de partida, conocida popularmente como el «efecto mariposa», es una manifestación de caos. El caos se define como el comportamiento imprevisible de los sistemas complejos gobernados por leyes deterministas (9).

Un sistema complejo puede definirse como una red de factores individuales de cuya interacción dinámica emergen nuevas propiedades del propio sistema, y cuyos resultados observables son diferentes a la suma de sus partes individuales (2,10). En otras palabras, es una colección de factores con libertad para actuar de formas que no siempre son totalmente predecibles, y cuyas acciones están interconectadas de modo que las acciones de un factor cambian el contexto para otros factores (10). En este sentido, el paciente con dolor musculoesquelético y su interacción con el entorno terapéutico durante la consulta en fisioterapia, también pueden considerarse como un sistema complejo caracterizado por un alto grado de variabilidad biológica, entropía negativa y orden emergente.

En un sistema complejo, los agentes responden a su entorno mediante el uso de un conjunto de reglas internalizadas que impulsan acción. En un sistema bioquímico, las “reglas” son una serie de reacciones químicas. A nivel humano, las reglas pueden expresarse como instintos, construcciones y modelos mentales. “Explorar las experiencias previas, las expectativas y preferencias del paciente”, es un ejemplo de una regla internalizada que podría impulsar las acciones de un fisioterapeuta (cuadro 1) (10).

**Cuadro 1.** Complejidad en un día común en un consultorio de fisioterapia

Una tarde reingresa un paciente consultando por la misma dolencia por la que había consultado el año anterior. El paciente deseaba repetir el mismo tratamiento que habíamos hecho anteriormente pues, según él, la experiencia previa había resultado positiva. Sin embargo, dicho tratamiento no parecía tener sustento científico de efectividad. El paciente, no totalmente de acuerdo, acepta una nueva propuesta de tratamiento recomendada en la literatura. Después de algunas sesiones, los síntomas no disminuían y el paciente solicitó retomar el tratamiento que previamente había resultado efectivo. En las siguientes sesiones, y habiendo retomado el tratamiento anterior, los síntomas del paciente comenzaron a mejorar.

Basándonos en este caso, pareciera que el tratamiento que se opone a la evidencia científica disponible ha triunfado. ¿Es este paciente un caso clínico particular? ¿Existen otros factores que hayan podido influir en la evolución del cuadro clínico del individuo? ¿han podido influir en la evolución del cuadro clínico del individuo?

**Cuadro 2.** Características de un sistema complejo en la atención del paciente con dolor musculoesquelético**Característica Ejemplo**

Gran número	El paciente con dolor musculoesquelético y el terapeuta que lo atiende están conformados por múltiples subelementos (células, moléculas, átomos) y, a la vez, son parte de otros estímulos y sistemas complejos como el entorno del encuentro terapéutico.
Dinamismo	La alianza terapéutica empática o la comunicación verbal y no verbal entre el terapeuta y el paciente pueden condicionar y cambiar el resultado terapéutico.
Penetrancia	En el encuentro terapéutico, las actitudes y los comportamientos positivos hacia el paciente (por ejemplo, con respecto a las afecciones que refiere el paciente, refuerzos positivos) afectan la expectativa del paciente ante el tratamiento y esto condiciona su resultado terapéutico. A su vez, la comunicación del resultado de un tratamiento a otros pacientes puede condicionar la expectativa de estos hacia el resultado terapéutico (por ejemplo, conversación y experiencias de pacientes en la sala de espera o en el gimnasio de rehabilitación).
Falta de linealidad	Un mismo tratamiento puede tener diferentes resultados terapéuticos según el estado biopsicosocial del paciente (por ejemplo, ausentismo laboral por su condición) y del terapeuta que lo atiende (por ejemplo, estrés, burnout).
Interacciones recursivas	La expectativa previa ante un tratamiento puede modificarse después de una experiencia con el mismo.
Abiertos	El ambiente confortable (poco ruido, música, fragancias, temperatura), la arquitectura adecuada (casilleros privados, equipamiento moderno, espacioso, ventanales), y el diseño ambiental planificado cuidadosamente (decoraciones, adornos y colores), son aspectos que pueden favorecer el resultado terapéutico.
Falta de equilibrio	Un dolor musculoesquelético que mejoró después del encuentro terapéutico puede retornar fácilmente a la condición dolorosa ante diferentes y múltiples estímulos (movimiento, estrés laboral, situación familiar, descanso incorrecto).
Historicidad	Las experiencias previas del paciente (por ejemplo, un resultado positivo o negativo de un tratamiento previo) pueden condicionar el resultado terapéutico (cuadro 1).
Información local	El paciente con dolor musculoesquelético y el fisioterapeuta actúan con la información inmediata de la condición del paciente (por ejemplo, el movimiento que activó la aparición del dolor), pero, a su vez, se hallan inmersos en la interacción con otros sistemas.

Muchas veces, nos vemos desafiados por situaciones complejas durante el abordaje del dolor musculoesquelético de nuestros pacientes. Con el objetivo de resolverlas, seguimos las recomendaciones de la literatura científica. Sin embargo, muchas veces la evolución clínica tiene desenlaces que son difíciles de entender, pues, los síntomas pueden mejorar o empeorar por muchas razones no relacionadas con el tratamiento (11-13).

De acuerdo con Barochiner J., los resultados terapéuticos podrían ser más satisfactorios, tanto para el paciente como para el profesional, si el abordaje terapéutico se realiza comprendiendo las características del sistema complejo (14) (cuadro 2). Estas características son las siguientes (3,10,14,15):

1. *Gran número de elementos.* Estos tienden a mostrar un importante grado de similitud en los diferentes niveles del sistema (2), lo que se conoce como fractales (14). Los fractales pueden ser geométricos, es decir, una forma divisible en partes, las cuales son una copia a pequeña escala del todo (3). En el dolor musculoesquelético, es esencial evaluar la interacción de los individuos y su entorno, lo que incluye infinidad de variables, como ambiente, clima, entorno laboral, familiar y otros.
2. *Dinamismo.* Por su propia naturaleza de actividad constante, los sistemas complejos nunca se encuentran exactamente en el mismo estado. Con el tiempo, pueden cambiar a un estado diferente, o pueden cambiar permanentemente a un estado nuevo y diferente (16). Debido a que los agentes dentro de él pueden cambiar, un sistema complejo puede adaptar su comportamiento a lo largo del tiempo (17).
3. *Penetrancia.* Las interacciones entre las partes son simultáneas y transversales. La evolución de un sistema influye y es influenciado por la de otro sistema (8). Dado que cada agente y cada sistema está anidado dentro de otros sistemas, todos evolucionando juntos e interactuando, no podemos comprender completamente ninguno de los agentes o sistemas sin hacer referencia a los demás (18).
4. *Falta de linealidad.* El comportamiento de un sistema complejo comúnmente no es lineal. Los mismos estados pueden tener diferentes respuestas según las características de los elementos del sistema (10). Por ejemplo, en la previsión meteorológica, las leyes fundamentales que gobiernan los gases contienen términos no lineales que conducen a lo que los científicos han llamado: “dependencia sensible a las condiciones iniciales.” De modo que, una mínima diferencia en las variables iniciales conduce a enormes diferencias en el comportamiento futuro (15,19). Esa idea es mundialmente conocida como «efecto mariposa», ya que el proverbio popular chino «el aleteo de las alas de una mariposa pueden provocar un tsunami al otro lado del mundo», parece reflejar el hecho de que con pequeñas variaciones iniciales podemos conseguir resultados totalmente inesperados.
5. *Interacciones recursivas.* El sistema se retroalimenta (15). Esta retroalimentación puede ser positiva o negativa. La respuesta de un sistema complejo puede presentarse como nuevo estímulo al mismo sistema.
6. *Abiertos.* Los sistemas complejos son abiertos e interactúan con su entorno. No tienen límites precisos y se encuentran en permanente intercambio con el medio que los rodea (2). No podremos entenderlos sin considerar que se encuentran “anidados” en otros sistemas, y que todos interactúan y evolucionan conjuntamente.
7. *Falta de equilibrio.* Los equilibrios son temporales. Se requiere una gran cantidad de energía para mantener al sistema en un estado de poca entropía.
8. *Historicidad.* Los sistemas complejos tienen una historia dado que evolucionan en el tiempo (16). El pasado es importante para entender el estado actual.
9. *Información local.* Los sistemas complejos actúan con información simple y local de su entorno inmediato. El orden, la innovación y el progreso pueden surgir naturalmente de las interacciones dentro de un sistema complejo; no es necesario que se impongan de forma centralizada o desde el exterior (10). En la vida cotidiana surgen muchos comportamientos complejos de reglas relativamente simples

en cosas como conducir en tráfico o interactuar en reuniones. Mientras nadie dirige nuestras acciones para tales situaciones, todos sabemos cómo adaptarnos y llegar a donde queremos ir (7).

### **Abordaje del paciente con dolor musculoesquelético desde la complejidad**

Los factores determinantes de la evolución clínica son un fenómeno de interés emergente entre profesionales e investigadores de fisioterapia (6). El enfoque de la complejidad reconoce al paciente como un conjunto integral, su contexto social, cultural y ambiental, que moldea la respuesta individual a la enfermedad; en esencia, un sistema de salud centrado en el paciente (20). Por otro lado, el sistema complejo entiende a la salud y el padecimiento como lo subjetivo y, a la enfermedad, como lo objetivo; existen estados emergentes de interacciones de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba entre el restrictivo contexto ambiental, sociocultural y económico-político y las recursivas interacciones fisiológicas y psicológicas de redes de funciones celulares y de órganos (16).

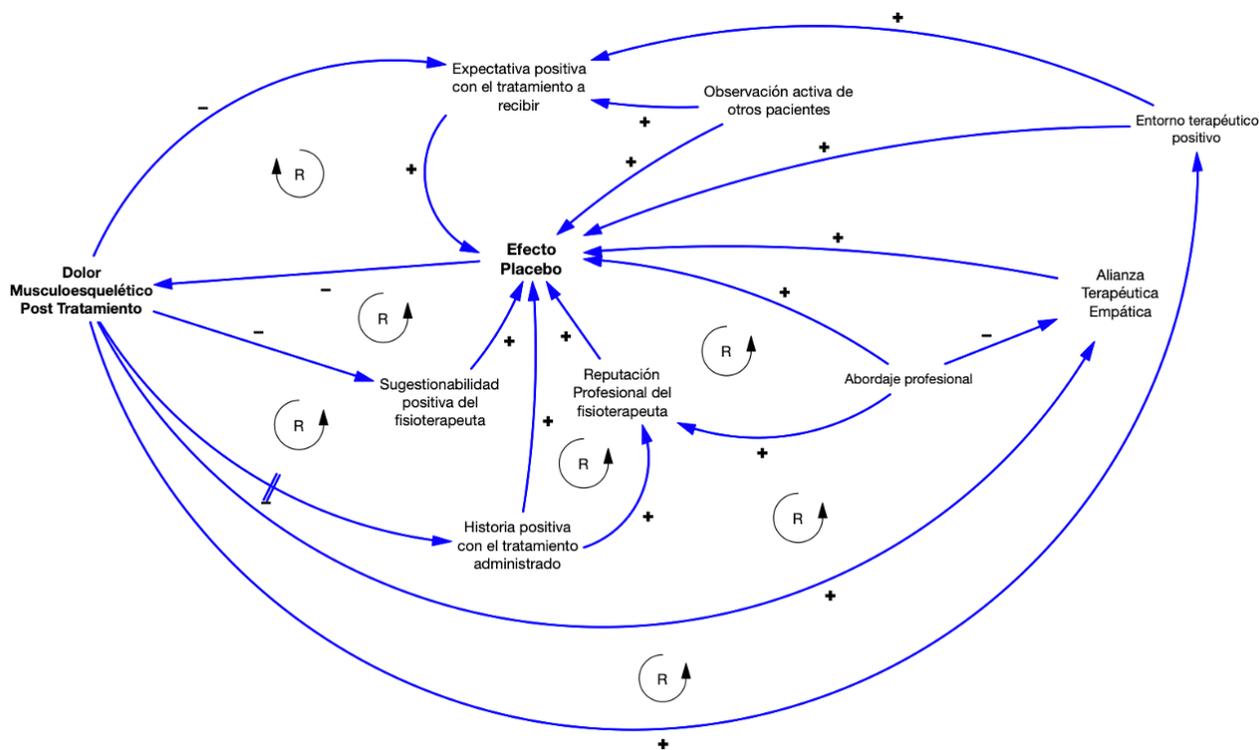
Los factores contextuales son elementos físicos, psicológicos y sociales involucrados en el encuentro clínico entre el paciente y el fisioterapeuta (21,22). En el contexto clínico, la interacción entre el componente específico de un tratamiento y los factores complejos circundantes influyen la experiencia subjetiva terapéutica (por ejemplo, el aumento o la disminución del dolor), desencadenando efectos relacionados con placebo o nocebo (23). Específicamente, los factores contextuales positivos pueden mejorar los resultados clínicos, mientras que los factores contextuales negativos pueden amplificar los síntomas del paciente impidiendo su recuperación (24). Por ejemplo, un entorno terapéutico positivo puede promover en el paciente una expectativa positiva con el tratamiento que va a recibir, lo que inicia mecanismos que desencadenan efectos placebo que disminuyen el dolor percibido. A su vez, esta disminución del dolor fortalece la alianza terapéutica empática, incrementando el efecto placebo y con mejores resultados terapéuticos (figura 1).

Los efectos placebo y nocebo incorporan fenómenos complejos y distintos en los que se producen cambios conductuales, neurofisiológicos, perceptivos y cognitivos durante el encuentro terapéutico entre el fisioterapeuta y el paciente. Por ejemplo, el ambiente confortable (poco ruido, música, fragancias, temperatura), la arquitectura adecuada (gabinetes privados, equipamiento moderno, espacioso, ventanales) y el diseño ambiental planificado cuidadosamente (decoraciones, adornos y colores), son algunos aspectos que pueden afectar el resultado terapéutico.

Estos efectos también pueden producirse cuando se administra un tratamiento activo y terapéuticamente eficaz. De hecho, cualquier tratamiento (activo o inerte) que se administre en cualquier contexto de atención puede desencadenar efectos relacionados con este contexto. Se pueden identificar factores contextuales relacionados con las características del profesional y del paciente, con la interacción paciente-profesional, con las características del tratamiento y con el entorno de tratamiento (21).

### ***El profesional***

La percepción de los pacientes con respecto a la experiencia, el profesionalismo, la apariencia y la reputación del fisioterapeuta tratante, son elementos importantes para el paciente y pueden contribuir a modificar el resultado clínico en las afecciones musculoesqueléticas (25).



**Figura 1.** Representación esquemática de algunos factores contextuales que caracterizan la complejidad de la atención del paciente con dolor musculoesquelético. Cada una de las variables mencionadas engloba, a su vez, otras variables interconectadas. Forman, así, una compleja red de sistemas; no es posible alterar una variable sin influir en todas las demás.

En un estudio cualitativo se demostró que los pacientes basan sus evaluaciones de calidad de servicio en ciertos aspectos de los fisioterapeutas: sus características personales (comunicación amigable y respetuosa, soporte emocional, sensibilidad a cambios en el estatus del paciente), su disposición a brindar información y educación, y su experiencia técnica (26). En una encuesta hecha a los pacientes se informó que el fisioterapeuta vestido con guardapolvo y el fisioterapeuta vestido de camisa, pantalón y corbata fueron clasificados como el más profesional y el más preferido, respectivamente. Por el contrario, los pacientes se mostraron menos satisfechos si vestían jeans. La edad de los encuestados y la exposición con el profesional (número de visitas) afectó la percepción reportada (27).

Otros factores, como el incremento en la duración de la sesión y el interés por el paciente y su cuidado, también tienen un rol relevante en la satisfacción del paciente hacia el tratamiento y podrían ser utilizados por los fisioterapeutas para mejorar la satisfacción del paciente (28). Los pacientes aprecian la capacidad del fisioterapeuta para animar al paciente a que pregunte, para responder a sus preguntas, para considerar su opinión, para explorar la enfermedad y para conocer la experiencia con la misma; también, su capacidad para brindar una retroalimentación positiva, dar clara información predictiva y explicar sobre la condición del paciente y de cómo el tratamiento puede afectar positivamente los resultados (28-31). Por el contrario, los fisioterapeutas deberían evitar mostrar nerviosismo, dedicar demasiado tiempo a leer las historias clínicas de los pacientes, utilizar demasiadas palabras técnicas o demostrar prisa durante la consulta (28,30).

El carisma del fisioterapeuta y su optimismo o pesimismo con respecto a la naturaleza del tratamiento, pueden tener un efecto en el resultado del

tratamiento (32). Esta es una “profecía autocumplida” en la cual la expectativa que tiene un profesional sobre el resultado del paciente puede conducir a una mejoría (efecto Pigmalión o Rosenthal) o a un empeoramiento (efecto Golem) del resultado del tratamiento (33,34). Las creencias de los profesionales sobre el dolor de espalda están relacionadas con las creencias de sus pacientes, y las creencias para evitar el miedo en los profesionales se asocian con aquellas para evitar el miedo de sus pacientes (35).

### **El paciente**

Las expectativas del paciente son un factor pronóstico importante en el tratamiento del dolor musculoesquelético (36) y, frecuentemente, es subestimado por los fisioterapeutas (37). Bishop, *et al.*, observaron que las expectativas de alivio del dolor tuvieron una influencia importante en el dolor y la incapacidad en pacientes con dolor lumbar (38) y dolor cervical (39). La experiencia del paciente con un tratamiento previo también ha demostrado ser un factor que puede afectar el resultado de la terapia (40).

La percepción de la calidad de la atención fisioterapéutica se experimenta de manera diferente en hombres y mujeres, así como en pacientes de diferentes edades (41). Para los pacientes de sexo masculino, los principales factores asociados a la satisfacción con el tratamiento fueron el resultado y las características del fisioterapeuta. Mientras que, en los pacientes de sexo femenino, los principales factores relacionados fueron la organización y la comunicación (42,43).

En otro estudio, la edad del paciente no estuvo asociada con el grado de satisfacción. No obstante, los sujetos mayores de 65 años estuvieron más satisfechos con los factores relacionados al acceso a los servicios de atención y a la efectividad en la comunicación (44).

En otro estudio, la satisfacción con la atención fue superior en pacientes con afecciones musculoesqueléticas agudas que en aquellos con afecciones crónicas. Para el grupo con afecciones agudas, las características del fisioterapeuta resultaron las más determinantes de la satisfacción, mientras que, en el grupo con afecciones crónicas, la organización del centro de atención fue el factor predictivo más significativo (43).

### **La interacción paciente-profesional**

Los fisioterapeutas destinan aproximadamente el doble del tiempo en hablar con el paciente que en el tratamiento propiamente dicho (45,46). Factores como escuchar, expresarse positivamente dando apoyo y aliento, el humor y la simpatía, permitir una discusión empática y comunicativa, establecer acuerdos, escuchar la opinión del paciente y utilizar un lenguaje común, son algunas habilidades verbales que se correlacionaron con la satisfacción del paciente y podrían influir significativamente en el resultado del tratamiento (28-30,42). Por el contrario, los fisioterapeutas deben evitar aspectos como la comunicación negativa, las expresiones verbales de ansiedad y las preguntas cerradas para obtener información (28).

Según el estudio hecho por O’Keeffe, *et al.*, los pacientes no estuvieron satisfechos con la atención cuando fueron interrumpidos y no pudieron contar su historia, cuando el fisioterapeuta carecía de empatía, cuando era demasiado confiado o cuando se comportaba de manera arrogante (30). Los aspectos no verbales, como la expresión verbal y el contacto visual, representan importantes elementos en la alianza terapéutica (29).

En el contexto de la atención, los fisioterapeutas intervienen muchas veces con el contacto visual, la sonrisa, y con expresiones de acompañamiento e interés. Además, utilizan regularmente el asentimiento de cabeza, el contacto, la inclinación del cuerpo hacia delante y la orientación corporal para facilitar e involucrar a los pacientes. Todos estos aspectos podrían contribuir al resultado terapéutico final (45).

La capacidad del terapeuta para interpretar las expresiones del lenguaje corporal no verbal de los pacientes también es un elemento importante de satisfacción durante el encuentro clínico (28).

### **El tratamiento**

El formular y comentar el diagnóstico de forma detallada, explicar sus afecciones y darle sentido a su afección es *per se* una forma de tratamiento. Estas acciones son apreciadas por los pacientes durante la primera consulta, y podría condicionar el resultado del tratamiento (29,42).

Por otro lado, también es importante adelantar al paciente que el tratamiento que se va a aplicar es importante en la modulación del efecto terapéutico. En un estudio de analgesia posoperatoria, el ocultamiento de la administración de un analgésico resultó en retraso y en menor alivio del dolor, que cuando los pacientes sabían que les estaban administrando el medicamento (47). En otro estudio, pacientes con dolor lumbar crónico reportaron menor dolor y más rápida resolución de su condición, cuando realizaron ejercicios de movilización lumbar observándose en un espejo (48).

El personalizar el tratamiento, considerar activamente las opiniones de los pacientes y centrar la atención en el paciente parecen influenciar los resultados del tratamiento de manera efectiva y exitosa (28-30,42). Aspectos como: la atención personalizada y constante con el mismo profesional, la limpieza, el adecuado tiempo de sesión, la puntualidad, la flexibilidad con la agenda personal, la efectividad del tratamiento, la frecuencia y la duración adecuada, afectan positivamente la satisfacción del paciente y el resultado terapéutico (28,30,42). Por el contrario, el centrar la atención en el profesional, la ausencia de privacidad, los tratamientos costosos, la demora en la entrega de turnos, el escaso tiempo paciente-fisioterapeuta, el ser tratado por diferentes fisioterapeutas, o un tratamiento apresurado, afectan negativamente la satisfacción del paciente y el resultado terapéutico (28,30,42).

En el contexto clínico, el fisioterapeuta aplica diferentes formas de contacto e interacción al relacionarse con el paciente en los centros terapéuticos, desde la ubicación del paciente en el lugar de la terapia, hasta la socialización de la información y las diversas indicaciones que suceden en la terapia y en la intervención. En el contexto clínico, el fisioterapeuta contacta de diferentes formas al paciente, para asistirlo, para posicionarlo y para informarlo, para percibir información, y para realizar una intervención (49). El contacto es un elemento fundamental en las relaciones interpersonales y regula los vínculos sociales (50).

### **El entorno terapéutico**

Diferentes elementos sensoriales del ambiente pueden condicionar el resultado del paciente. La iluminación natural, poco ruido, música suave y relajante, uso de aromas y una temperatura adecuada, son factores importantes que podrían ser considerados en el contexto terapéutico (51,52).

Los aspectos estructurales también parecen ser importantes para el paciente: accesibilidad, horarios convenientes de atención, ubicación, estacionamiento y personal complementario accesible (42).

Los ambientes que incluyen muchas ventanas en el lugar de trabajo y los casilleros privados y cómodos son de lo más apreciado por los pacientes (51,52). La decoración de los espacios también podría afectar la percepción del paciente. Encontrando que, las obras de arte sobre la naturaleza, que incluyen vegetación verde, flores, agua y un entorno que integre plantas o adornos de jardín, tienen un efecto relajante (51,52).

### **Implicancias**

Tradicionalmente, la medicina basada en la evidencia ha focalizado su atención en el efecto de los agentes farmacológicos, subestimando aquellos factores psicológicos y ambientales que contribuyen significativamente a mejorar el resultado terapéutico con nuestros pacientes (53). Por tal motivo, es importante considerar el abordaje del paciente con dolor musculoesquelético como un sistema complejo, ya que, ofrecerá oportunidades terapéuticas adicionales para manejar el dolor y podría ser fundamental para mejorar la eficacia terapéutica de diferentes intervenciones.

Es importante reflexionar sobre la importancia de los factores contextuales en el resultado terapéutico, en lugar de minimizarlos o etiquetarlos exclusivamente como factores de confusión (54,55).

Desde una perspectiva educativa, la complejidad todavía es subestimada en la mayoría de las formaciones de grado y posgrado de fisioterapia. No obstante, es un enfoque que, a la luz de la calidad formativa y la profesionalización, así como del conocimiento íntegro y la bioética, debería incluirse en los programas de estudios. Para garantizar la competencia adecuada, el conocimiento y su uso ético, debería incluirse en los programas de estudios (21,56-58).

### **Conclusión**

Los factores determinantes de la evolución clínica son un fenómeno de interés emergente entre profesionales e investigadores del campo de la fisioterapia. El interés en los factores contextuales ha crecido y es ampliamente encontrado en la literatura científica relacionada con la fisioterapia. Para hacer frente a la complejidad en la atención del paciente con dolor musculoesquelético, debemos abandonar los modelos lineales, aceptar la imprevisibilidad, respetar (y utilizar) la autonomía y la creatividad, y responder con flexibilidad a los patrones y oportunidades emergentes.

### **Referencias**

1. Jones DS, Podolsky SH, Greene JA. The burden of disease and the changing task of medicine. *N Engl J Med*. 2012;366:2333-8. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1113569>
2. Corazza GR, Formagnana P, Lenti MV. Bringing complexity into clinical practice: An internistic approach. *Eur J Intern Med*. 2019;61:9-14. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2018.11.009>
3. Tuffin R. Implications of complexity theory for clinical practice and healthcare organization. *BJA Educ*. 2016;16:349-52. <https://doi.org/10.1093/bjaed/mkw013>
4. Lipsitz LA, Goldberger AL. Loss of 'complexity' and aging. Potential applications of fractals and chaos theory to senescence. *JAMA*. 1992;267:1806-9.
5. Wiech K, Ploner M, Tracey I. Neurocognitive aspects of pain perception. *Trends Cogn Sci*. 2008;12:306-13. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2008.05.005>

6. Bushnell MC, Ceko M, Low LA. Cognitive and emotional control of pain and its disruption in chronic pain. *Nat Rev Neurosci*. 2013;14:502-11. <https://doi.org/10.1038/nrn3516>
7. Plsek PE, Wilson T. Complexity, leadership, and management in healthcare organisations. *BMJ*. 2001;323:746-9. <https://doi.org/10.1136/bmj.323.7315.746>
8. Baines PG, Lorenz, E.N. 1963: Deterministic nonperiodic flow. *Journal of the Atmospheric Sciences* 20, 130-41.1. *Progress in Physical Geography*. 2008;32:475-80. <https://doi.org/10.1177/0309133308091948>
9. Glass L, Mackey MC. *The rhythms of life. From clocks to chaos*. Princeton, N.J.: Princeton University Press; 1988.
10. Plsek PE, Greenhalgh T. Complexity science: The challenge of complexity in health care. *BMJ*. 2001;323:625-8. <https://doi.org/10.1136/bmj.323.7313.625>
11. da Silva TM, Costa Lda C, García AN, Costa LO. What do physical therapists think about evidence-based practice? A systematic review. *Man Ther*. 2015;20:388-401. <https://doi.org/10.1016/j.math.2014.10.009>
12. Rossetini G, Carlino E, Testa M. Clinical relevance of contextual factors as triggers of placebo and nocebo effects in musculoskeletal pain. *BMC Musculoskelet Disord*. 2018;19:27. <https://doi.org/10.1186/s12891-018-1943-8>
13. Kamper SJ. Engaging with research: Linking evidence with practice. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2018;48:512-3. <https://doi.org/10.2519/jospt.2018.0701>
14. Barochiner J. Teoría de la complejidad y el paciente hipertenso. *Med Fam SEMERGEN*. 2021;47:404-10. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2020.12.008>
15. Sammut-Bonnici T. Complexity theory. En: Cooper CL, McGee J, Sammut-Bonnici T, editors. *Strategic Management*. John Wiley & Sons; 2014. <https://doi.org/10.1002/9781118785317.weom120210>
16. Sturmberg JP, Picard M, Aron DC, Bennett JM, Bircher J, deHaven MJ, *et al*. Health and disease-emergent states resulting from adaptive social and biological network interactions. *Front Med (Lausanne)*. 2019;6:59. <https://doi.org/10.3389/fmed.2019.00059>
17. Holland JH. *Hidden order: How adaptation builds complexity*. Addison-Wesley, New York, NY. *Bull Sci Technol Soc*. 1997;17:205. <https://doi.org/10.1177/027046769701700420>
18. Hurst DK, Zimmerman BJ. From life cycle to ecocycle: A new perspective on the growth, maturity, destruction, and renewal of complex systems. *Journal of Management Inquiry*. 1994;3:339-54. <https://doi.org/10.1177/105649269434008>
19. Lorenz EN. *The essence of chaos*. London: UCL Press; 1995.
20. Sanders T, Foster NE, Bishop A, Ong BN. Biopsychosocial care and the physiotherapy encounter: Physiotherapists' accounts of back pain consultations. *BMC Musculoskelet Disord*. 2013;14:65. <https://doi.org/10.1186/1471-2474-14-65>
21. Testa M, Rossetini G. Enhance placebo, avoid nocebo: How contextual factors affect physiotherapy outcomes. *Man Ther*. 2016;24:65-74. <https://doi.org/10.1016/j.math.2016.04.006>
22. Di Blasi Z, Harkness E, Ernst E, Georgiou A, Kleijnen J. Influence of context effects on health outcomes: A systematic review. *Lancet*. 2001;357:757-62. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)04169-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)04169-6)
23. Carlino E, Frisaldi E, Benedetti F. Pain and the context. *Nat Rev Rheumatol*. 2014;10:348-55. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2014.17>
24. Wager TD, Atlas LY. The neuroscience of placebo effects: Connecting context, learning and health. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16:403-18. <https://doi.org/10.1038/nrn3976>
25. Andreu MF, Policastro PO. ¿Por qué son importantes los factores contextuales en el abordaje kinésico? *AJRPT*. <https://doi.org/10.58172/ajrpt.v2i3.125>
26. Del Baño-Aledo ME, Medina-Mirapeix F, Escolar-Reina P, Montilla-Herrador J, Collins SM. Relevant patient perceptions and experiences for evaluating quality of interaction with physiotherapists during outpatient rehabilitation: A qualitative study. *Physiotherapy*. 2014;100:73-9. <https://doi.org/10.1016/j.physio.2013.05.001>
27. Mercer E, Mackay-Lyons M, Conway N, Flynn J, Mercer C. Perceptions of outpatients regarding the attire of physiotherapists. *Physiother Can*. 2008;60:349-57. <https://doi.org/10.3138/physio.60.4.349>

28. Oliveira VC, Refshauge KM, Ferreira ML, Pinto RZ, Beckenkamp PR, Negrao Filho RF, *et al.* Communication that values patient autonomy is associated with satisfaction with care: A systematic review. *J Physiother.* 2012;58:215-29. [https://doi.org/10.1016/S1836-9553\(12\)70123-6](https://doi.org/10.1016/S1836-9553(12)70123-6)
29. Pinto RZ, Ferreira ML, Oliveira VC, Franco MR, Adams R, Maher CG, *et al.* Patient-centered communication is associated with positive therapeutic alliance: A systematic review. *J Physiother.* 2012;58:77-87. [https://doi.org/10.1016/S1836-9553\(12\)70087-5](https://doi.org/10.1016/S1836-9553(12)70087-5)
30. O’Keeffe M, Cullinane P, Hurley J, Leahy I, Bunzli S, O’Sullivan PB, *et al.* What influences patient-therapist interactions in musculoskeletal physical therapy? Qualitative systematic review and meta-synthesis. *Phys Ther.* 2016;96:609-22. <https://doi.org/10.2522/ptj.20150240>
31. Hall AM, Ferreira PH, Maher CG, Latimer J, Ferreira ML. The influence of the therapist-patient relationship on treatment outcome in physical rehabilitation: A systematic review. *Phys Ther.* 2010;90:1099-110. <https://doi.org/10.2522/ptj.20090245>
32. Witt CM, Martins F, Willich SN, Schützlér L. Can I help you? Physicians’ expectations as predictor for treatment outcome. *Eur J Pain.* 2012;16:1455-66. <https://doi.org/10.1002/j.1532-2149.2012.00152.x>
33. Rosenthal R, Jacobson L. Pygmalion in the classroom. *The Urban Review.* 1968;3:16-20. <https://doi.org/10.1007/bf02322211>
34. Sternberg E. A self-fulfilling prophecy: Linking belief to behavior. *Ann N Y Acad Sci.* 2011;1234:98-9. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06190.x>
35. Darlow B, Fullen BM, Dean S, Hurley DA, Baxter GD, Dowell A. The association between health care professional attitudes and beliefs and the attitudes and beliefs, clinical management, and outcomes of patients with low back pain: A systematic review. *Eur J Pain.* 2012;16:3-17. <https://doi.org/10.1016/j.ejpain.2011.06.006>
36. Puentedura EJ, Cleland JA, Landers MR, Mintken PE, Louw A, Fernández-de-Las-Peñas C. Development of a clinical prediction rule to identify patients with neck pain likely to benefit from thrust joint manipulation to the cervical spine. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2012;42:577-92. <https://doi.org/10.2519/jospt.2012.4243>
37. Bialosky JE, Bishop MD, Cleland JA. Individual expectation: An overlooked, but pertinent, factor in the treatment of individuals experiencing musculoskeletal pain. *Phys Ther.* 2010;90:1345-55. <https://doi.org/10.2522/ptj.20090306>
38. Bishop MD, Bialosky JE, Cleland JA. Patient expectations of benefit from common interventions for low back pain and effects on outcome: Secondary analysis of a clinical trial of manual therapy interventions. *J Man Manip Ther.* 2011;19:20-5. <https://doi.org/10.1179/106698110X12804993426929>
39. Bishop MD, Mintken PE, Bialosky JE, Cleland JA. Patient expectations of benefit from interventions for neck pain and resulting influence on outcomes. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2013;43:457-65. <https://doi.org/10.2519/jospt.2013.4492>
40. Colloca L, Benedetti F. How prior experience shapes placebo analgesia. *Pain.* 2006;124:126-33. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2006.04.005>
41. Stenberg G, Fjellman-Wiklund A, Ahlgren C. “Getting confirmation”: gender in expectations and experiences of healthcare for neck or back patients. *J Rehabil Med.* 2012 Feb;44:163-71. <https://doi.org/10.2340/16501977-0912>
42. Hush JM, Cameron K, Mackey M. Patient satisfaction with musculoskeletal physical therapy care: A systematic review. *Phys Ther.* 2011;91:25-36. <https://doi.org/10.2522/ptj.20100061>
43. Hills R, Kitchen S. Satisfaction with outpatient physiotherapy: Focus groups to explore the views of patients with acute and chronic musculoskeletal conditions. *Physiother Theory Pract.* 2007;23:1-20. <https://doi.org/10.1080/09593980601023705>
44. McKinnon AL. Client satisfaction with physical therapy services. *Physical & Occupational Therapy in Geriatrics.* 2001;19:23-37. [https://doi.org/10.1080/j148v19n02\\_02](https://doi.org/10.1080/j148v19n02_02)
45. Roberts L, Bucksey SJ. Communicating with patients: What happens in practice? *Phys Ther.* 2007;87:586-94. <https://doi.org/10.2522/ptj.20060077>
46. Roberts LC, Whittle CT, Cleland J, Wald M. Measuring verbal communication in initial physical therapy encounters. *Phys Ther.* 2013;93:479-91. <https://doi.org/10.2522/ptj.20120089>
47. Amanzio M, Pollo A, Maggi G, Benedetti F. Response variability to analgesics: A role for non-specific activation of endogenous opioids. *Pain.* 2001;90:205-15. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00486-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00486-3)

48. Wand BM, Tulloch VM, George PJ, Smith AJ, Goucke R, O'Connell NE, *et al.* Seeing it helps: Movement-related back pain is reduced by visualization of the back during movement. *Clin J Pain.* 2012;28:602-8. <https://doi.org/10.1097/AJP.0b013e31823d480c>
49. Roger J, Darfour D, Dham A, Hickman O, Shaubach L, Shepard K. Physiotherapists' use of touch in inpatient settings. *Physiother Res Int.* 2002;7:170-86. <https://doi.org/10.1002/pri.253>
50. Gallace A, Spence C. The science of interpersonal touch: An overview. *Neurosci Biobehav Rev.* 2010;34:246-59. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.10.004>
51. Schweitzer M, Gilpin L, Frampton S. Healing spaces: Elements of environmental design that make an impact on health. *J Altern Complement Med.* 2004;10(Suppl.1):S71-83. <https://doi.org/10.1089/1075553042245953>
52. Dijkstra K, Pieterse M, Pruyn A. Physical environmental stimuli that turn healthcare facilities into healing environments through psychologically mediated effects: Systematic review. *J Adv Nurs.* 2006;56:166-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2648.2006.03990.x>
53. Carlino E, Benedetti F. Different contexts, different pains, different experiences. *Neuroscience.* 2016;338:19-26. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.01.053>
54. Linde K, Fässler M, Meissner K. Placebo interventions, placebo effects and clinical practice. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2011;366:1905-12. <https://doi.org/doi:10.1098/rstb.2010.0383>
55. Rossetini G, Testa M. Manual therapy RCTs: Should we control placebo in placebo control? *Eur J Phys Rehabil Med.* 2018;54:500-1. <https://doi.org/10.23736/S1973-9087.17.05024-9>
56. Rossetini G, Camerone EM, Carlino E, Benedetti F, Testa M. Context matters: The psychoneurobiological determinants of placebo, nocebo and context-related effects in physiotherapy. *Arch Physiother.* 2020;10:11. <https://doi.org/10.1186/s40945-020-00082-y>
57. Schedlowski M, Enck P, Rief W, Bingel U. Neuro-bio-behavioral mechanisms of placebo and nocebo responses: Implications for clinical trials and clinical practice. *Pharmacol Rev.* 2015;67:697-730. <https://doi.org/10.1124/pr.114.009423>
58. Durning SJ, Artino AR Jr, Pangaro LN, van der Vleuten C, Schuwirth L. Perspective: Redefining context in the clinical encounter: Implications for research and training in medical education. *Acad Med.* 2010;85:894-901. <https://doi.org/10.1097/ACM.0b013e3181d7427c>

Artículo original

## Importancia pronóstica de las mutaciones del gen promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa en los meningiomas de alto grado

Alejandro Cañas<sup>1,f</sup>, Enrique Jiménez<sup>1</sup>, Fernando Hakim<sup>1</sup>, Juan Armando Mejía<sup>1</sup>, Juan Fernando Ramón<sup>1</sup>, Diego Gómez<sup>1</sup>, Daniel Jaramillo-Velásquez<sup>1</sup>, Sonia Bermúdez<sup>2</sup>, Nicolás Useche<sup>2</sup>, Diego Pineda<sup>3</sup>, Hernando Cifuentes<sup>4</sup>, Antonio Becerra<sup>5</sup>, Álvaro Muñoz<sup>6</sup>, Nicolás Santoyo<sup>7,8,f</sup>, Alejandro Ruiz-Patiño<sup>7,8,f</sup>, Carolina Sotelo<sup>7,8,f</sup>, Pilar Archila<sup>7,8</sup>, July Rodríguez<sup>7,8</sup>, Jenny Ávila<sup>7,8</sup>, Camila Ordóñez-Reyes<sup>7,8,f</sup>, Juan Esteban García-Robledo<sup>8,9</sup>, Luisa Ricaurte<sup>7,8,10</sup>, Leonardo Rojas<sup>8,11,12</sup>, Óscar Feo<sup>5</sup>, Remberto Burgos<sup>5</sup>, Carlos Ramírez<sup>5</sup>, Óscar Arrieta<sup>13</sup>, Lucía Zatarain-Barrón<sup>13</sup>, Carlos Vargas<sup>7,8,11</sup>, Hernán Carranza<sup>7,8,11</sup>, Jorge Otero<sup>7,8,11</sup>, Andrés F. Cardona<sup>7,8,11,\*f</sup>

**Recibido:** 27/04/2021  
**Aceptado:** 11/08/2022  
**Publicado:** 17/08/2022

**Citación:**

Cañas A, Jiménez E, Hakim F, Mejía JA, Ramón JF, Gómez D, *et al.* Importancia pronóstica de las mutaciones del gen promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa en los meningiomas de alto grado. *Biomédica.* 2022;42:574-90.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6100>

**Correspondencia:**

Andrés Felipe Cardona, Centro de Tratamiento e Investigación sobre Cáncer Luis Carlos Sarmiento Angulo (CTIC), Unidad Funcional Neuro-Oncología, Calle 168 N° 14-45, Bogotá, D.C., Colombia  
Teléfono: (571) 619 0052; fax: (571) 619 0053  
[acardona@fctic.org](mailto:acardona@fctic.org)

**Contribución de los autores:**

Enrique Jiménez, Fernando Hakim, Juan Armando Mejía, Juan Fernando Ramón, Diego Gómez, Sonia Bermúdez, Nicolás Useche, Diego Pineda, Hernando Cifuentes, Álvaro Muñoz, Pilar Archila, July Rodríguez y Andrés F. Cardona: contribuciones sustanciales a la concepción o diseño del trabajo  
Daniel Jaramillo-Velásquez, Alejandro Ruiz-Patiño, Nicolás Santoyo, Carolina Sotelo, July Rodríguez, Jenny Ávila, Camila Ordóñez-Reyes, Juan Esteban García-Robledo, Luisa Ricaurte, Leonardo Rojas, Óscar Feo, Lucía Zatarain-Barrón: adquisición, análisis o interpretación de datos  
Andrés F. Cardona, Antonio Becerra, Álvaro Muñoz, Alejandro Ruiz-Patiño, Camila Ordóñez-Reyes, Óscar Arrieta, Lucía Zatarain-Barrón, Remberto Burgos, Carlos Ramírez, Carlos Vargas, Hernán Carranza y Jorge Otero: revisión crítica del estudio y redacción del manuscrito  
Alejandro Cañas participó en todas las etapas del estudio.

**Conflicto de intereses:**

Andrés F. Cardona declara haber recibido apoyo para la investigación por parte de Merck Sharp & Dohme, Böehringer Ingelheim, Roche, Bristol-Myers Squibb, Foundation Medicine, Roche Diagnostics, Termo Fisher, Broad Institute, Amgen, Flatiron Health, Teva Pharma, Bayer, INQBox y la Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer - FICMAC. Además, ha recibido honorarios como asesor, ha participado como orador y dio testimonio experto a EISAI, Merck Serono, Janssen Pharmaceutical, Merck Sharp & Dohme, Böehringer Ingelheim, Roche, Bristol-Myers Squibb, Pfizer, Novartis, Celldex Therapeutics, Foundation Medicine, Eli Lilly, Guardant Health, Illumina, y a la Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer - FICMAC.

<sup>1</sup> Departamento de Neurocirugía, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Imágenes Diagnósticas, Sección Neuroradiología, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Radiología, Sección Neuroradiología, Clínica del Country, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Neurocirugía, Clínica del Country, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>5</sup> Departamento de Neurocirugía, Clínica Colsanitas, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>6</sup> Departamento de Radiooncología, Instituto de Cáncer Carlos Ardila Lülle, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>7</sup> Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer - FICMAC, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>8</sup> Grupo de Investigación en Oncología Molecular y Sistemas Biológicos, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>9</sup> División de Hematología y Oncología, Clínica Mayo, Scottsdale, AZ, Estados Unidos

<sup>10</sup> Departamento de Patología, Clínica Mayo, Rochester, MN, Estados Unidos

<sup>11</sup> Departamento de Oncología Clínica, Clínica Colsanitas, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>12</sup> Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Clínica del Country, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>13</sup> Laboratorio Oncología Personalizada, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México

<sup>f</sup> Los presentes autores contribuyeron de forma equitativa en el estudio.

**Introducción.** En los meningiomas, ocurren con frecuencia mutaciones en la región promotora de la transcriptasa inversa de la telomerasa.

**Objetivo.** Estimar la importancia pronóstica de las mutaciones de la transcriptasa inversa de la telomerasa en pacientes colombianos con meningiomas de grados II y III.

**Materiales y métodos.** Es un estudio de cohorte, retrospectivo y multicéntrico, que incluyó pacientes con diagnóstico de meningioma persistente o recidivante, de grados II y III, según la clasificación de la OMS, reclutados entre el 2011 y el 2018, con tratamiento sistémico (sunitinib, everolimus con octreótido o sin él, y bevacizumab). El estado de la mutación del promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa se determinó por medio de la PCR.

**Resultados.** Se incluyeron 40 pacientes, en 21 (52,5 %) de los cuales se encontraron mutaciones en la transcriptasa inversa de la telomerasa, siendo las variantes más frecuentes la C228T (87,5 %) y la C250T (14,3 %). Estas fueron más frecuentes entre los pacientes con meningiomas anaplásicos ( $p=0,18$ ), en aquellos con más de dos recurrencias ( $p=0,04$ ), y en los que presentaron lesiones en la región parasagital y la fosa anterior ( $p=0,05$ ). Los sujetos caracterizados por tener alteraciones puntuales fueron tratados con mayor frecuencia con la serie de medicamentos everolimus, sunitinib y bevacizumab ( $p=0,06$ ). Tras el inicio del tratamiento médico, la supervivencia global fue de 23,7 meses ( $IC_{95\%}$  13,1-34,2) en los pacientes con mutaciones y, de 43,4 meses ( $IC_{95\%}$  37,5-49,3), entre aquellos sin mutaciones ( $p=0,0001$ ).

Los resultados del análisis multivariado demostraron que, únicamente, el número de recurrencias y la presencia de mutaciones en el gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa, fueron factores que afectaron negativamente la supervivencia global.

**Conclusiones.** Las mutaciones en el gen promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa permiten identificar los pacientes con alto riesgo, cuya detección podría ser de utilidad para seleccionar el mejor esquema terapéutico.

**Palabras clave:** meningioma; mutación con ganancia de función; telomerasa

### Prognostic significance of telomerase reverse transcriptase promoter gen mutations in high grade meningiomas

**Introduction:** Mutations in the promoter region of telomerase reverse transcriptase occur frequently in meningiomas.

**Objective:** To estimate the prognostic importance of telomerase reverse transcriptase mutations in Colombian patients with grades II and III meningioma.

**Materials and methods:** This was a multicenter retrospective cohort study of patients diagnosed with refractory or recurrent WHO grades II and III meningiomas, recruited between 2011 and 2018, and treated with systemic therapy (sunitinib, everolimus ± octreotide, and bevacizumab). Mutation status of the telomerase reverse transcriptase promoter was established by PCR.

**Results:** Forty patients were included, of which telomerase reverse transcriptase mutations were found in 21 (52.5%), being C228T and C250T the most frequent variants with 87.5 % and 14.3 %, respectively. These were more frequent among patients with anaplastic meningiomas ( $p=0.18$ ), with more than 2 recurrences ( $p=0.04$ ); and in patients with parasagittal region and anterior fossa lesions ( $p=0.05$ ). Subjects characterized as having punctual mutations were more frequently administered with everolimus, sunitinib and bevacizumab drug series ( $p=0.06$ ). Overall survival was 23.7 months ( $CI_{95\%}$  13.1-34.2) and 43.4 months ( $CI_{95\%}$  37.5-49.3;  $p=0.0001$ ) between subjects with and without mutations, respectively. Multivariate analysis showed that the number of recurrences and the presence of telomerase reverse transcriptase mutations were the only variables that negatively affected overall survival.

**Conclusions:** Mutations in telomerase reverse transcriptase allows the identification of high-risk patients and could be useful in the selection of the best medical treatment.

**Keywords:** Meningioma; gain-of-function mutation; telomerase

Los meningiomas representan ~40 % de los tumores intracraneales, con una incidencia global próxima a los 8,1 casos por 100.000 habitantes (*Central Brain Tumor Registry of the United States*, CBTRUS). La mayoría son lesiones de bajo grado [grado I, según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud, (OMS)]; no obstante, una pequeña fracción de las neoplasias meningoteliales se categorizan como lesiones de alto grado, particularmente, tumores atípicos (OMS II, 5-20 %) y anaplásicos (OMS III, 1-3 %) (1,2). En los Estados Unidos, se diagnostican anualmente 370 adultos con meningiomas de alto grado, 2.690 sufren actualmente de la enfermedad y la supervivencia global a 5 años se estima en el 63 % (3).

Los meningiomas de grado II incluyen variantes morfológicas atípicas, con células claras y coroideas, definidos clásicamente por un índice mitótico de 4 a 19 mitosis por 10 campos de mayor aumento, por la invasión cerebral o por la presencia de tres a cinco características histopatológicas asociadas con atipia (2,4). Estas incluyen crecimiento laminar, necrosis, alteración en la relación entre núcleo y citoplasma, nucléolos prominentes y mayor celularidad (2).

Usualmente, la presencia de 1 o 2 características atípicas en un meningioma de grado I, se asocia con un mayor riesgo de progresión y recurrencia (5). Las neoplasias anaplásicas tienen un índice mitótico de 20 o más por 10 campos de mayor aumento, e incluyen las variantes papilar y rabdoide (5,6).

Con el advenimiento de la genómica tumoral, se han realizado esfuerzos para mitigar la recurrencia de los meningiomas de alto grado, incluyendo la identificación de blancos moleculares potencialmente modulables. Inicialmente, se identificaron numerosas mutaciones puntuales, deleciones y reordenamientos asociados con la neurofibromina ( $NF_2$  en 22q12.2) (7), lo que explica cerca del 50 % de los casos esporádicos. Además, se han documentado alteraciones recurrentes en  $SMO$ ,  $AKT_1$  (E17K),  $PIK_3CA$ ,  $POLR_2A$ ,  $SMARCB_1$ ,  $SWI-SNF$ ,  $KLF_4$  y  $TRAF_7$  (K409Q) (8-10). Estas alteraciones son típicas de los tumores de bajo grado, pero suelen estar ausentes en los meningiomas atípicos y anaplásicos (11).

Por el contrario, los meningiomas de alto grado presentan ganancias y pérdidas cromosómicas, y alteraciones en el número de copias. En particular, suelen tener pérdidas en el cromosoma 22 o modificaciones alélicas en 1p, 6q, 10, 14q y 18q. La pérdida de 1p predice un comportamiento biológico más agresivo, excepto en los tumores anaplásicos de patrón rabdoide. De forma similar, las pérdidas en 9p21, donde se codifican los inhibidores dependientes de ciclinas *CDKN<sub>2A</sub>* y *CDKN<sub>2B</sub>*, sugieren una mayor probabilidad de cambio en el grado de los tumores de grado I y II (12,13). En la figura suplementaria 1, se muestra el espectro de alteraciones cromosómicas de los meningiomas.

La disrupción del genoma exhibe una fuerte asociación con la ubicación del tumor primario, independientemente del grado tumoral. Los meningiomas de la base del cráneo no suelen mostrar alteraciones en el número de copias, mientras que, en los de la convexidad (falcina y parasagital), se presentan abundantes alteraciones cromosómicas; los de la región lateral se encuentran en un punto intermedio. Estos patrones sugieren que las mutaciones de los meningiomas de alto grado se agrupan en diversas ubicaciones anatómicas, lo que sugiere ontogenias divergentes (14). En concordancia, los meningiomas de alto grado se asocian con pocas mutaciones somáticas recurrentes, incluyendo *NF<sub>2</sub>*, *SMARCE<sub>1</sub>*, *BAP<sub>1</sub>*, y el gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa (*TERT*) (15); es más frecuente en las lesiones secundarias y tiene una expresión diferencial en diferentes regiones geográficas (14-18).

La pérdida de la capacidad de mantener los telómeros se considera una característica distintiva de las neoplasias, dado que, en más del 90 % de las células malignas, se sobreexpresa la enzima telomerasa, la cual contrarresta activamente su acortamiento (19). Las mutaciones del gen promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa (*TERT<sub>p</sub>*, 5p15.33), se descubrieron inicialmente en los melanomas y, posteriormente, se documentaron en diversos tumores sólidos, entre ellos, los meningiomas de alto grado. Además de las mutaciones en *TERT<sub>p</sub>*, la expresión aberrante de la telomerasa puede ser causada por reordenamientos del gen por amplificación, fusiones o metilación (19).

Las alteraciones en el *TERT* se traducen en un aumento significativo de la expresión funcional de la proteína que tiene cuatro dominios: el N-terminal, esencial para la telomerasa, el dominio de la transcriptasa inversa, el de unión al ARN y el de la extensión C-terminal (14). Las alteraciones más comunes son las mutaciones puntuales C250T y C228T, localizadas en la región promotora del gen (19). Un metaanálisis que incluyó los datos individuales de 677 pacientes con meningiomas de grados I a III, proporcionó evidencia de que las mutaciones en *TERT<sub>p</sub>* constituyen un factor pronóstico negativo, independientemente del grado tumoral (20). Los estudios iniciales para valorar la correlación genómica, los cuales incluyeron entre 21 y 58 pacientes, demostraron que la frecuencia de mutaciones en *TERT<sub>p</sub>* oscila entre el 14 y el 23 % (20-24). Por el momento, solo en un estudio se comparó la expresión de mutaciones en *TERT<sub>p</sub>* en un subgrupo de pacientes con meningiomas de alto grado, primarios y secundarios, y se sugirió que dichas mutaciones promueven la evolución clonal de las neoplasias meningoteliales (23).

Las dos mutaciones encontradas en *TERT<sub>p</sub>* permiten mantener la longitud del telómero, inmortalizando la célula tumoral mediante la formación de una superfamilia de factores de transcripción conocida como E26/complejo del factor ternario (ETS/TFC), evento que facilita la sobrerregulación del gen. Otro suceso que facilita el aumento de la expresión del ARNm de *TERT* es la hipermetilación del promotor (20).

En pocos estudios se ha validado la importancia pronóstica de la transcriptasa inversa de la telomerasa en pacientes con meningiomas de alto grado, tratados con diversas intervenciones farmacológicas en serie. De igual manera, se desconoce la frecuencia de las mutaciones puntuales C228T y C250T en meningiomas de alto grado originados en poblaciones hispanas de múltiple ancestro.

El presente estudio incluye el análisis detallado de 40 pacientes con meningiomas de alto grado caracterizados según la transcriptasa inversa de la telomerasa, tratados y seguidos de forma homogénea, en dos instituciones de Bogotá, Colombia.

## **Materiales y métodos**

### ***Diseño y población de estudio***

Este es un estudio retrospectivo multicéntrico de cohorte de 40 pacientes seleccionados de un grupo inicial de 59 con diagnóstico de meningioma de grados II y III, confirmado mediante histopatología, y tratados en dos centros de referencia de Bogotá, Colombia, entre diciembre de 2011 y enero de 2018.

Los criterios de inclusión fueron: personas mayores de 18 años y con diagnóstico histológico de meningioma atípico o anaplásico, cuyo tejido estuviese disponible para evaluar el estado de la mutación del gen promotor *TERT*. Los pacientes fueron categorizados en dos grupos para el análisis: *TERT* silvestre y *TERT* mutado. Los registros médicos se revisaron para obtener la información clínica y demográfica.

De los 59 pacientes iniciales, se incluyeron 40 (68 %) con meningiomas agresivos, recurrentes o en progresión, que fueron tratados con: 30 mg intramusculares de acetato de octreótido LAR [O] cada 28 días y 10 mg diarios de everolimus [E] por vía oral, 50 mg de sunitinib [Su] por vía oral durante los días 1 a 28 en un ciclo de 42 días, o 10 mg/kg de bevacizumab [Bev] intravenosos los días 1 y 15. De estos 49 pacientes, los 16 (40 %) expuestos al análogo de somatostatina presentaban sobreexpresión de SSTR2 (receptor 2 de la somatostatina).

La información clínica fue revisada para establecer las características sociodemográficas (edad al momento del diagnóstico, número de recurrencias y compromiso neurológico basal) y las del tratamiento previo (extensión de la resección, tipo y dosis de radioterapia), y los eventos adversos y resultados clínicos.

Todos los procedimientos que hicieron parte del estudio se practicaron bajo los estándares éticos del Comité de Investigación Institucional de la Clínica del Country (LR23-2016), conforme a la declaración de Helsinki de 1964. En todos los casos, se obtuvo la firma previa del consentimiento informado, con el fin de iniciar la recolección de la información clínica, la revisión histopatológica y la caracterización genómica. La tipificación histológica se hizo de acuerdo con los criterios de clasificación para tumores del sistema nervioso central propuestos por la Organización Mundial de la Salud, OMS 2016 (versión 1.0, 2016) (25).

En la figura suplementaria 2, se presentan las características histológicas del meningioma atípico y del anaplásico.

En este estudio se incluyeron 40 pacientes mayores de 18 años con evidencia radiológica de progresión tumoral, luego de resección quirúrgica y radioterapia (radioterapia de intensidad modulada o radiocirugía). El tratamiento fue homogéneo, de acuerdo con las recomendaciones actuales con el inhibidor mTOR, solo o en combinación, el inhibidor de tirosina-cinasa multidiaria, y el anticuerpo monoclonal antiangiogénico (anti-VEGF). Los tres esquemas terapéuticos estándar, según su secuencia, fueron los siguientes: i) everolimus, sunitinib y bevacizumab (en su orden, de primera, segunda o tercera línea); ii) sunitinib, everolimus y bevacizumab, y iii) everolimus seguido por sunitinib, elegidos según el criterio del médico tratante. El tratamiento se interrumpió por progresión de la enfermedad o por toxicidad dependiente de la dosis, de acuerdo con las recomendaciones del *Common Terminology Criteria for Adverse Events*, versión 4.0 (CTCAE) (<https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/About.html>).

En general, los pacientes fueron evaluados cada tres semanas mediante un examen físico y, cada 8 a 10 semanas, con una resonancia magnética con contraste. La evaluación de la respuesta al tratamiento se basó en los criterios de evaluación radiológica en neurooncología, diseñados para pacientes con meningiomas, que son incluidos en experimentos clínicos (26). Durante el seguimiento, se practicaron exámenes de laboratorio de rutina mensualmente o en menos tiempo, según el criterio médico.

### **Aislamiento del ADN**

EL ADN genómico se extrajo a partir de tejido tumoral embebido en parafina microseccionado (3 mm) y fijado con formalina utilizando el Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific™, Catalog number K0512). El equipo de patología tumoral analizó las muestras para garantizar un contenido de células tumorales mayor del 90 % y, así, demarcar el área del tumor. El ADN se purificó utilizando el PureLink™ Pro 96 Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific™, Catalog number K182104A) siguiendo las instrucciones del fabricante y protocolos previamente estandarizados. Posteriormente, el ADN se cuantificó mediante nanoespectrofotometría en un NanoDrop™ ND-2000 (Thermo Scientific™, Waltham, MA) usando una relación de absorbancia de 260/280 nm.

### **Análisis de mutaciones en el promotor de TERT**

La región promotora de la transcriptasa inversa de la telomerasa (*TERT*) que contiene las mutaciones C228T, C250T, 7, 8 y C229A9, así como el polimorfismo rs2853669 (c.-245T> C), se amplificaron usando 25 ng de ADN genómico previamente extraído con el kit HotStar Taq Master Mix™ y la solución aditiva Q (Qiagen, Alemania), y los cebadores S 5'-AGTGGATTCGCGGGCACAGA-3' y AS 5'-CAGCGCTGCCTGAAACTC-3'.

La amplificación de la PCR dio como resultado un producto de 235 pb. La calidad de los productos se corroboró mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida, seguida de una limpieza por PCR, utilizando el kit de un paso Illustra ExoProStar™ (GE Healthcare Life Sciences).

Los productos de la PCR fueron secuenciados usando el kit de secuenciación de ciclos BigDye™ Terminator, versión 1.1, en el analizador genético Applied Biosystems™ 3130 (Applied Biosystems, USA), siguiendo los procedimientos estándar descritos por el productor. Todas las muestras se verificaron en dirección directa e inversa, y se utilizó el *software* SeqScape,

versión 3.0 (Applied Biosystems, USA) para el análisis de mutaciones y el ensamblaje de los fragmentos (27).

En la figura suplementaria 3 se muestra el esquema de la región promotora de *TERT* con la numeración de los nucleótidos en el cromosoma 5 y, además, la secuencia de ADN de la región *hotspot* de una hebra de tipo salvaje y una mutada, así como los cromatogramas que evidencian las mutaciones heterocigotas C228T y C250T.

### Análisis estadístico

Los resultados se describieron por medio de la determinación de frecuencias absolutas, relativas, medidas de tendencia central y de dispersión. Las variables se analizaron mediante tablas de contingencia sometidas a pruebas de dependencia y asociación, usando la prueba de ji al cuadrado ( $\chi^2$ ) o el test exacto de Fisher, cuando fue necesario. Para todos los casos, el nivel de significancia estadística se determinó en  $p < 0,05$ .

Las estimaciones de supervivencia se hicieron utilizando el modelo no paramétrico del límite del producto (método de Kaplan-Meier), y sus funciones se compararon mediante la prueba *log-rank*.

Con el fin de valorar los factores que influyeron sobre la mortalidad, se hizo un análisis multivariado usando el modelo de riesgo proporcional (regresión de Cox). Todos Los análisis estadísticos se hicieron utilizando el programa SPSS™, versión 23.0 (IBM Corp. IBM SPSS Statistics for Windows, Armonk, NY, IBM Corp Released 2015).

**Cuadro 1.** Características demográficas de los pacientes

Variable	Valor	%, rango o IC <sub>95%</sub>
Edad (media) (años)	51,3 (DE $\pm$ 14,9)	28 a 88
Mujeres [n (%)]	25	62,5 %
<b>Patología</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
OMS II/atípico recurrente [n (%)]	11	27,5
OMS III/anaplásico [n (%)]	29	72,5
<b>Número de recurrencias antes de iniciar el tratamiento médico</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1	8	20,0
2	11	27,5
3	10	25,0
4	8	20,0
5	3	7,5
<b>Localización primaria</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Convexidad	4	10,0
Parasagital	10	25,0
Fosa anterior	18	45,0
Fosa media	5	12,5
Fosa posterior	3	7,5
<b>Multicentricidad</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
10	10	25
<b>Número de cirugías previas</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
1	4	10,0
2	23	57,5
3	7	17,5
4	3	7,5
5	3	7,5
<b>Extensión de la resección</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Total	20	50,0
Subtotal	20	50,0

## Resultados

### **Características demográficas de los pacientes**

De los 59 pacientes iniciales, se seleccionaron 40 pacientes con meningiomas atípicos o anaplásicos recurrentes y se incluyeron en el estudio. Sus características demográficas se resumen en el cuadro 1. La mayoría de fueron mujeres, con una distribución de 2 a 1, y hubo predominio del diagnóstico en pacientes mayores de 60 años (52,5 %).

Además, 10 de los pacientes tuvieron enfermedad multicéntrica, 8 de los cuales tenían un fenotipo anaplásico con especial localización en la fosa media y posterior ( $p=0,043$ ).

### **Tratamiento**

Todos los pacientes fueron sometidos a resección quirúrgica; la mediana del número de cirugías parciales o radicales por paciente fue de 2, con un rango de 1 a 5. En el grupo de pacientes con tumores atípicos ( $n=11$ ), todos menos uno tuvieron resecciones de grado Simpson III, en comparación con el grupo de sujetos con tumores anaplásicos, entre los cuales el 65 % ( $n=13$ ) tuvieron procedimientos quirúrgicos de grado Simpson I y II ( $p=0,0089$ ). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos, según el número de recurrencias ( $p=0,36$ ). Además, todos los pacientes fueron tratados con radioterapia de intensidad modulada ( $n=20$ , 65 %) (IMRT: frecuencia = 27; porcentaje = 67,5; SRS: frecuencia = 13; porcentaje = 32,5), y el tiempo medio transcurrido entre la radioterapia y el comienzo de la primera línea de tratamiento sistémico fue de 22,9 meses ( $IC_{95\%}$  1,8-189,0). De manera similar, no hubo diferencias de significancia estadística en la supervivencia libre de progresión entre los pacientes tratados con radioterapia de intensidad modulada o radiocirugía estereotáctica: 23,6 frente a 19,4 meses ( $p=0,47$ ), a diferencia de la supervivencia global, la cual fue superior en casos de tumores atípicos que en los de los anaplásicos ( $p=0,013$ ) (figura suplementaria 4).

Al momento de comenzar la terapia médica, el diámetro medio de los tumores era de 42,3 mm ( $DE \pm 12,2$ ), sin diferencias entre los de grados II y III ( $p=0,85$ ). Antes de recibir sunitinib o el tratamiento basado en everolimus, un sujeto (3,2 %) (1 de 40 es el 2,5 %) recibió hidroxiurea/imatinib, sin ningún beneficio. Diecinueve (61,3 %) (19 de 40 es el 47,5 %) pacientes fueron tratados con everolimus o everolimus más octreótrido como medicamentos de primera línea y 11 (35,5 %) (11 de 40 es el 27,5 %) con sunitinib. La relación para la segunda línea se invirtió: 18 (58,1 %) (18 de 40 es el 47,5 %) pacientes recibieron sunitinib, 4 (12,9 %) (4 de 40 es el 10,0 %), tratamiento basado en everolimus, y 1 (3,2 %) (1 de 40 es el 2,5 %), bevacizumab. Ocho (25,8 %) (8 de 40 es el 20,0 %) pacientes siguen al momento de realizar el estudio aún con el tratamiento de primera línea. Después de una mediana de tiempo de seguimiento de 31,8 meses ( $IC_{95\%}$  13,6-47), 10 pacientes (32,3 %) recibieron los medicamentos en el orden everolimus, sunitinib, bevacizumab; 9 pacientes (29,0 %) fueron tratados con everolimus y posteriormente sunitinib, y 4 (12,9 %) iniciaron con sunitinib seguido de everolimus y finalizaron con bevacizumab.

### **Resultados del tratamiento**

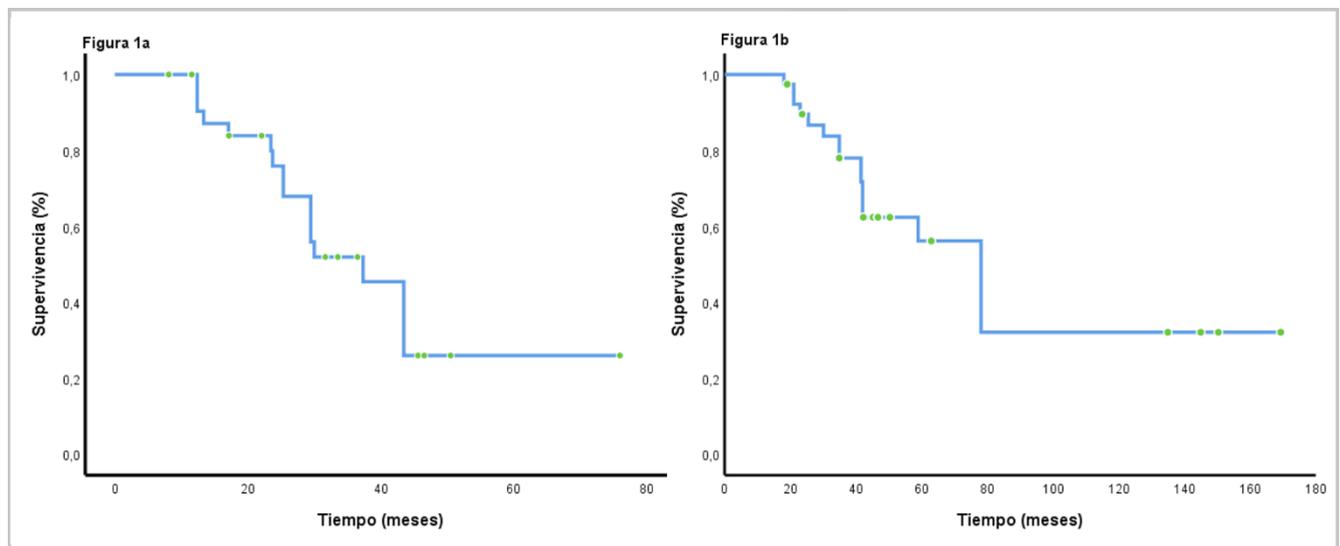
Después de iniciado el tratamiento médico, la mediana de supervivencia global para la cohorte fue de 37,3 meses ( $IC_{95\%}$  28,5-42,1) y, después del

diagnóstico inicial, fue de 78,1 meses ( $IC_{95\%}$  42,5-98,2) (figura 1, a y b). Al comparar a los pacientes con los tratamientos de primera línea más comunes (everolimus con octeótrido o sin él, o sunitinib), la mediana de la supervivencia global fue de 36 meses ( $IC_{95\%}$  25,3-41,7) y de 29,5 meses ( $IC_{95\%}$  22,5-37,5), respectivamente ( $p=0,349$ ) (figura 2a). La supervivencia libre de progresión fue de 12,1 meses ( $IC_{95\%}$  9,2-21,1), a diferencia de 9,1 meses ( $IC_{95\%}$  6,8-16,8), para las mismas intervenciones, respectivamente  $p=0,43$  (figura 2b).

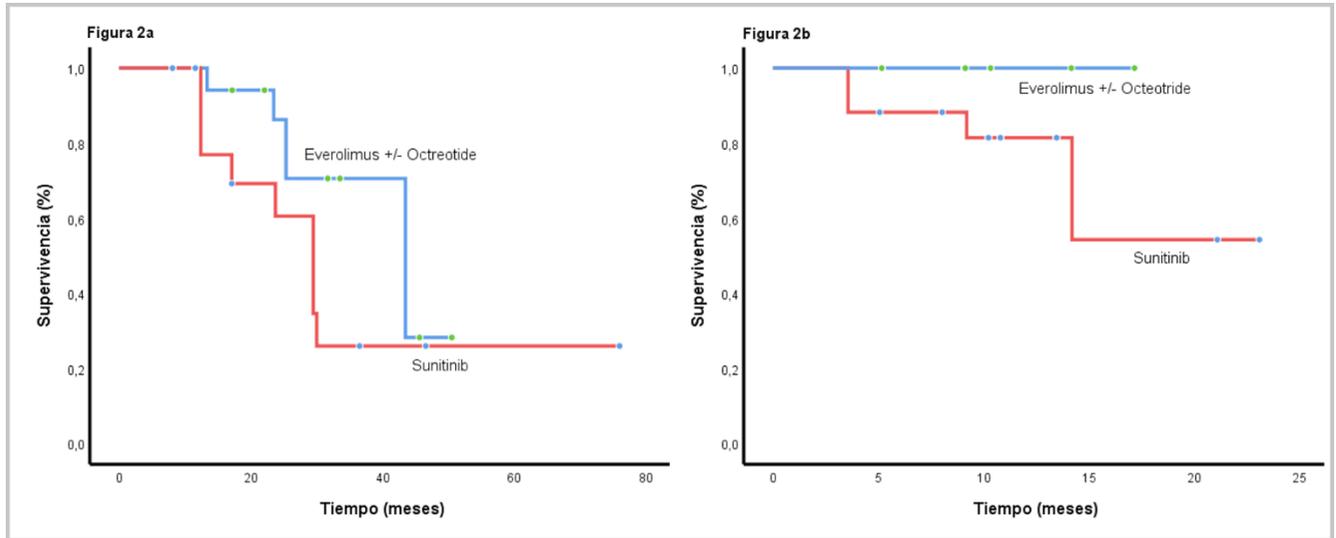
Por otro lado, de acuerdo con los criterios de evaluación radiológica en neurooncología (meningiomas), la tasa de mejoría con la primera línea fue de 6 (43 %) pacientes que alcanzaron una enfermedad estable y 4 (28,6 %) que lograron una respuesta parcial con everolimus con octeótrido o sin él, en contraste con 7 (63,6 %) que alcanzaron enfermedad estable y 4 (36,4 %) con respuesta parcial cuando recibieron sunitinib.

El beneficio clínico (respuesta completa, respuesta parcial o enfermedad estable) mostró una tendencia a prolongar la supervivencia global sin una asociación estadísticamente significativa ( $p=0,246$ ). La supervivencia libre de progresión para los pacientes que recibieron sunitinib y everolimus con octeótrido o sin él en la segunda línea, fue de 9,13 ( $IC_{95\%}$  2,4-13,6) y 10,17 ( $IC_{95\%}$  6,13-14,5), respectivamente. La supervivencia global fue superior cuando se administró el orden sunitinib, everolimus y bevacizumab, en contraste con todas las demás posibilidades ( $p=0,0001$ ) (figura 3), independientemente de la extensión de la cirugía inicial ( $p=0,94$ ), del tiempo entre el diagnóstico y el inicio del tratamiento médico (menor o mayor de 20 meses) ( $p=0,17$ ); del número de recurrencias (menos o más de 3 recurrencias) ( $p=0,47$ ); de la edad (menor o mayor de 65 años) ( $p=0,64$ ), y del sexo ( $p=0,30$ ).

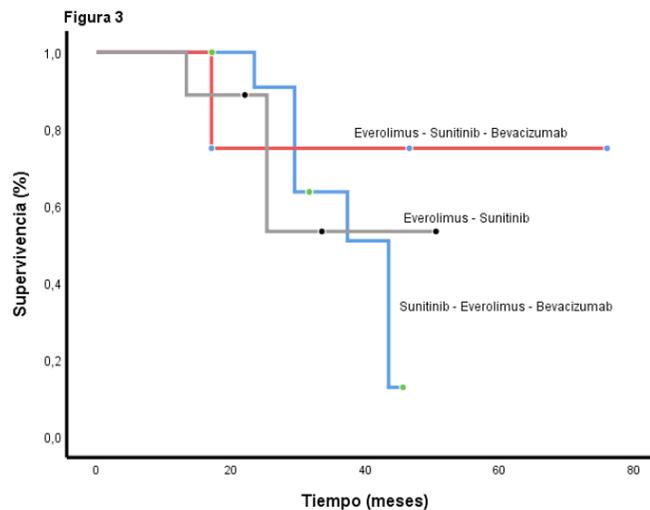
En la figura 4, se muestran la evolución clínica y las imágenes diagnósticas de varios pacientes tratados en el orden everolimus, sunitinib y bevacizumab; sunitinib, everolimus y bevacizumab; y everolimus y bevacizumab.



**Figura 1. a.** Supervivencia global después del inicio del tratamiento médico. **b.** Supervivencia global después del diagnóstico de la enfermedad



**Figura 2. a.** Mediana de la supervivencia global según el tratamiento de primera línea: con everolimus (36 meses;  $IC_{95\%}$  25,3-41,7) y con sunitinib (29,5 meses;  $IC_{95\%}$  22,5-37,5) ( $p=0,349$ ). **b.** Mediana de la supervivencia libre de progresión de acuerdo con el tratamiento de primera línea: con everolimus (12,1 meses;  $IC_{95\%}$  9,2-21,1); y con sunitinib (9,1 meses;  $IC_{95\%}$  6,8-16,8) ( $p=0,43$ )

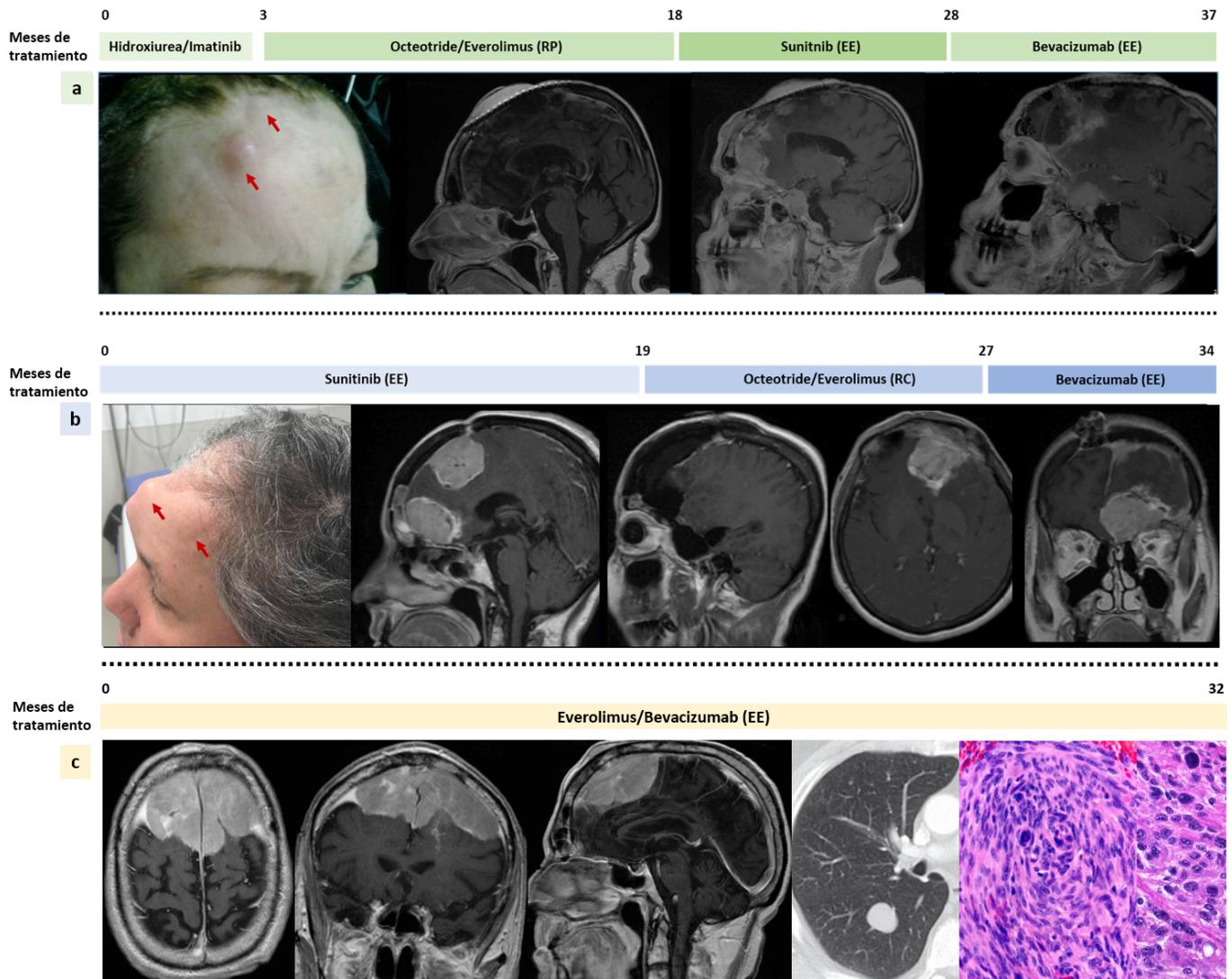


**Figura 3.** La supervivencia global según la secuencia de tratamiento es de 43,4 meses para la serie everolimus, sunitinib y bevacizumab ( $IC_{95\%}$  37,1-49,7), de 37,4 meses para sunitinib, everolimus y bevacizumab ( $IC_{95\%}$  26,3-48,0), y de 27,7 meses para sunitinib, bevacizumab y everolimus ( $IC_{95\%}$  12,4-46,0) ( $p=0,0001$ ).

### Resultados de acuerdo con la presencia de mutaciones en *TERT*

Se encontraron mutaciones en *TERT* en 21 (52,5 %) pacientes, 18 (85,7 %) con la variante C228T y 3 (14,3 %) con la C250T. Las mutaciones en *TERT* fueron más frecuentes entre los pacientes con meningiomas anaplásicos (17 meningiomas de grado III *versus* 4 tumores de grado II) ( $p=0,18$ ), en aquellos con más de dos recurrencias ( $p=0,04$ ), y en los que presentaron lesiones localizadas en la región parasagital y en la fosa anterior ( $p=0,05$ ). De igual forma, a los sujetos caracterizados por tener alteraciones puntuales en *TERT*, se les administró con mayor frecuencia everolimus seguido de sunitinib y, posteriormente, bevacizumab ( $n=6$ ) ( $p=0,06$ ).

Tras el inicio del tratamiento médico, la supervivencia global fue de 23,7 meses ( $IC_{95\%}$  13,1-34,2) entre los sujetos con mutaciones en *TERT*, y de 43,4 meses ( $IC_{95\%}$  37,5-49,3) en aquellos sin estas mutaciones ( $p=0,0001$ ) (figura 5).



RP: respuesta parcial; EE: enfermedad estable; RC: respuesta completa.

SG: supervivencia global; IMRT: *Intensity-Modulated Radiation Therapy*

**Figura 4. a.** Mujer de 54 años con diagnóstico de meningioma anaplásico recurrente en tres oportunidades y con *TERT* silvestre, tratada en tres oportunidades con cirugía, radioterapia de intensidad modulada, radiocirugía, y con la serie de medicamentos everolimus, sunitinib y bevacizumab; con este tratamiento, alcanzó una supervivencia global de 37 meses. **b.** Mujer de 59 años a quien se le diagnosticó meningioma anaplásico con la mutación *TERT*<sup>C228T</sup>. Su evolución fue rápida a pesar de dos intervenciones neuroquirúrgicas parciales, de radioterapia de intensidad modulada y de la administración de la serie de medicamentos sunitinib, everolimus y bevacizumab; con este tratamiento se logró una supervivencia global de 39,5 meses, 34 de los cuales estuvo en tratamiento médico. **c.** Hombre de 47 años con diagnóstico de meningioma anaplásico bifrontal de gran tamaño, con extensión ósea y pulmonar, que presentó la mutación *TERT*<sup>C228T</sup>. Fue tratado con exéresis parcial, radioterapia de intensidad modulada y la combinación de everolimus y bevacizumab; con este tratamiento, ha tenido una supervivencia global de la enfermedad de 32 meses hasta el momento.

La presencia de estas mutaciones no afectó la supervivencia libre de progresión para la primera ( $p=0,059$ ), la segunda ( $p=0,31$ ) y la tercera línea ( $p=0,09$ ). No obstante, cuando este análisis se hizo exclusivamente para el tratamiento con bevacizumab en segunda y tercera líneas, se encontró que dichas mutaciones influenciaron negativamente la supervivencia global tras la exposición al antiangiogénico ( $p=0,004$ ). Además, la supervivencia global fue estadísticamente inferior para el subgrupo de pacientes con tumores anaplásicos con mutaciones en *TERT* ( $p=0,031$ ) (figura suplementaria 5).

En el análisis multivariado, se encontró que solo dos variables impactaron la supervivencia global: el número de recurrencias (OR=10,5; IC<sub>95%</sub> 1,1-98,3) y la presencia de mutaciones en el *pTERT* (OR=150,9; IC<sub>95%</sub> 4,7-4756,3).

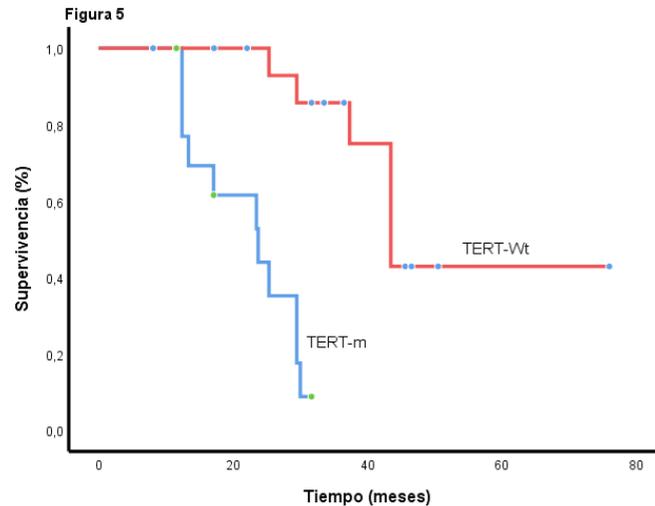


Figura 5. Supervivencia global según la presencia de mutaciones en *TERT*

## Discusión

Los meningiomas atípicos y anaplásicos se relacionan con una mayor morbimortalidad; la edad, el sexo masculino, el estado funcional (medido por la escala de Karnofsky), el índice mitótico, el número de recurrencias e intervenciones quirúrgicas, y el compromiso del nervio óptico, los principales factores clínicos relacionados con el pronóstico (28).

Los meningiomas de alto grado suelen ser más frecuentes en los pacientes jóvenes (la edad media es de 57 años en el momento del diagnóstico) y, usualmente, están relacionados con mutaciones somáticas *de novo* o con la evolución fenotípica y clonal a partir de lesiones de menor grado (28).

En general, la localización de la lesión tiende a predecir el grado de diferenciación, teniendo en cuenta que la mayoría de los tumores ubicados en la fosa media y anterior suelen tener un patrón meningotelial típico o transicional. Por el contrario, algunas de las neoplasias de la fosa media y la mayoría de las encontradas en la fosa posterior, presentan mutaciones en el promotor de *TERT* y un linaje secretor.

Globalmente, la frecuencia de alteraciones en *TERT* oscila entre el 14 y el 23 %, siendo mayor en los tumores recurrentes y en las lesiones de alto grado (23,24,29,30). La incidencia de los meningiomas anaplásicos catalogados como silvestres y mutados en *TERT*, se ha estimado en 2 y 8 casos por millón de habitantes por año, respectivamente (29).

En el presente estudio se documentó el doble de mutaciones en el *pTERT* (52 %), debido a que la población fue muy seleccionada. Quince de los pacientes que presentaron dichas mutaciones tenían como antecedente dos o más recurrencias y, de ellos, cinco tuvieron más de cuatro eventos quirúrgicos previos.

En concordancia con otras descripciones (29,30), nuestros hallazgos corroboran que la mutación *TERT*<sup>C228T</sup> fue la alteración más frecuente, y que la multicentricidad fue común en los tumores anaplásicos mutados y recurrentes.

Mirian, *et al.*, encontraron una supervivencia libre de recurrencia posterior a la cirugía inicial, de 14 meses para los pacientes con alteraciones puntuales en el *pTERT* y de 101 meses en aquellos sin las mismas (30). Además, la

razón de riesgo (HR) para recaídas entre los sujetos con mutaciones en *TERT* fue de 3,74 en referencia al grupo con meningiomas silvestres, el cual también presentó una mejoría significativa en la mediana para la supervivencia global (58 meses para los pacientes con mutaciones en el *pTERT* versus 160 meses para los que presentaron la versión silvestre; HR 2,77) ( $p=0,0001$ ).

El pronóstico de las mutaciones de *pTERT* se confirmó a partir del análisis sistemático de casos, que demostró una tasa de recurrencia 4,8 veces mayor en aquellos sujetos con meningiomas de grado OMS I y II mutados, en comparación con los pacientes portadores de tumores anaplásicos silvestres. De igual forma, la tasa de mortalidad fue 2,7 veces mayor en aquellos pacientes con tumores de grado OMS I y II mutados en el *pTERT*, versus el subgrupo de anaplásicos no mutados (30).

En la presente serie, el 74 % de los pacientes con mutaciones en el *pTERT* tuvieron una recurrencia en los primeros 20 meses de seguimiento tras la cirugía inicial ( $p=0,035$ ), y la mediana de supervivencia global desde el diagnóstico fue de 41,5 meses ( $IC_{95\%}$  28,1-54,8) en los sujetos con tumores mutados, contra 114 meses ( $IC_{95\%}$  83,0-146,0) en la población con tumores silvestres ( $p=0,0001$ ) (figura suplementaria 6).

Las mutaciones en el *pTERT* también afectaron el pronóstico de la enfermedad (supervivencia global) tras el inicio del tratamiento médico, sin afectar la supervivencia libre de progresión; sin embargo, no fue posible encontrar un efecto determinante sobre este parámetro respecto del tipo de mutación en el *pTERT* (variantes C228T y C250T), posiblemente por la limitación del tamaño de la muestra ( $p=0,58$ ) (figura suplementaria 7).

Como se describió en el presente estudio, el análisis multivariado para la supervivencia global solo se vio afectado por el número de recurrencias y por las mutaciones en el *pTERT*, información similar a la de otros autores (30), que podría permitir categorizar los meningiomas de alto grado para determinar si se requiere radioterapia temprana o diversas intervenciones farmacológicas.

Recientemente, Harmanci, *et al.*, propusieron que la aparición de mutaciones en el *pTERT* puede ser un paso temprano en la transición de los meningiomas atípicos (31). Como prueba de la evolución clonal, Juratli, *et al.* (21), demostraron que la expresión de las mutaciones en *pTERT* puede ser heterogénea en un mismo tumor recurrente según su localización, lo que sustenta el modelo de progresión tumoral acelerado que influye sobre los resultados independientemente del grado tumoral.

En consonancia con las alteraciones en *TERT*, el índice de proliferación medido por el  $Ki_{67}$  ha permitido discriminar el pronóstico de los meningiomas agresivos, según el análisis de la supervivencia global y de la supervivencia libre de progresión, después de la radioterapia de intensidad modulada o el tratamiento médico (32,33). Nuestros análisis confirman estos hallazgos, al encontrar un impacto negativo del  $Ki_{67}$  mayor o igual al 20 % sobre la supervivencia global, a partir del diagnóstico ( $p=0,012$ ) o del inicio del tratamiento médico ( $p=0,013$ ) (figuras no incluidas).

Además de las mutaciones en el *pTERT*, otros factores como las fusiones en *LPCAT1-TERT*, las pérdidas por heterocigocidad del cromosoma 18q, las deleciones en *CDKN2A/B*, las mutaciones en *NF2*, *ARID1A*, y *BAP1*, así como la expresión de *RB1<sup>S780</sup>*, también se asocian con un pronóstico desfavorable (15,34-37).

Recientemente, se ha descrito el papel prometedor de diversos perfiles de metilación para clasificar a los pacientes con meningiomas según su riesgo de recurrencia e impacto sobre resultados como la supervivencia libre de progresión y la global. Olar, *et al.*, demostraron por medio de una agrupación no supervisada, que la metilación del *locus* 64-CpG afectó los resultados más representativos independientemente del grado tumoral, el índice mitótico, la escala Simpson, el sexo, la ubicación y el número de copias (38). Utilizando métodos similares, Sahn, *et al.*, identificaron seis clases únicas de metilación en los diferentes grados del meningioma, documentando un perfil específico para el grado I de alto riesgo y otro para los tumores de grado II de buen pronóstico (39).

Múltiples estrategias moleculares, con mayor o menor complejidad, permitirán seleccionar a los pacientes según su riesgo para acelerar el uso de terapias dirigidas o decidir el orden en la administración de los tratamientos después de la cirugía y la radioterapia.

Gracias al conocimiento adquirido sobre las características citogenéticas basales de los meningiomas de alto grado, su heterogeneidad y capacidad de escape  $\zeta$  del sistema inmunológico por medio de variaciones subclonales que explican la sensibilidad y resistencia a los diferentes tratamientos, hoy disponemos de tratamientos diferentes a la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia clásica (40). Un número significativo de los meningiomas de alto grado presentan pérdidas en 22q, que se asocian con la presentación de mutaciones supresoras en *NF2*, gen que codifica la neurofibromina 2 (merlina), proteína implicada en las vías de señalización intracelular PI3K/AKT/mTOR y, de forma paralela con eIF3c, CD44, la proteína cinasa A y p21.

De forma similar, hasta el 70 % de los meningiomas muestran sobreexpresión de *SSTR2A*, lo que sugiere un entorno propicio para el uso de medicamentos como el everolimus y el octeótrido (41,42). Previamente, Graillon *et al.*, demostraron *in vitro* que el everolimus disminuía la viabilidad celular de los meningiomas agresivos, induciendo de forma concomitante la activación de AKT, lo que generó un efecto antiproliferativo paradójico. Este evento se corrigió con la inhibición cooperativa entre el everolimus y el octeótrido, análogo que revirtió la fosforilación de AKT, la transducción por medio de 4EB-P1, y el control del ciclo celular por p27Kip1 y la ciclina D1 (42).

Con base en estos hallazgos, el mismo grupo diseñó y llevó a cabo el estudio CEVOREM (43) que demostró, en 20 pacientes con tumores recurrentes (18 de grado OMS II y III), que el uso de la combinación de everolimus y octeótrido alcanzó una supervivencia libre de progresión a los 6 meses del 55 % (IC<sub>95%</sub> 31,3-73,5) y una global a los 6 y 12 meses del 90 % (IC<sub>95%</sub> 65,6-94,7) y del 75 % (IC<sub>95%</sub> 50-88), respectivamente. Además, la tasa de respuesta global fue del 78 % después de 3 meses de intervención. Anteriormente, nuestro grupo demostró una supervivencia libre de progresión de 12,1 meses (IC<sub>95%</sub> 9,2-21,1) para el mismo esquema terapéutico, datos similares a los descritos previamente (44).

Usualmente, más del 80 % de los meningiomas agresivos presentan sobreexpresión de VEGFR y PDGFR- $\beta$ , y cerca del 50 %, de Axl y EGFR (45). A partir de esta información, se intentó el uso del sunitinib, un inhibidor multidiana de la tirosina cinasa, en 36 pacientes con meningiomas de alto grado (30 atípicos y 6 anaplásicos) e historia de múltiples recurrencias (mediana de 5; rango de 2 a 10) (46). La supervivencia libre de progresión a los 6 meses fue del 42 %, la mediana de la supervivencia libre de progresión fue de 5,2 meses (IC<sub>95%</sub> 2,8-8,3), y la de la supervivencia global fue 24,6

meses (IC<sub>95%</sub> 16,5-38,4). La expresión de VEGFR2 predijo una supervivencia libre de progresión de 1,4 meses para los casos negativos y de 6,4 para los positivos ( $p=0,005$ ) (46). En el mismo sentido, nosotros encontramos una supervivencia libre de progresión de 9,1 meses (IC<sub>95%</sub> 6,8-16,8) para el sunitinib utilizado como medicamento de primera línea.

El presente estudio permitió demostrar un beneficio significativo para la supervivencia global según la secuencia del tratamiento, a favor de la serie everolimus, sunitinib y bevacizumab; seguida por sunitinib, everolimus y bevacizumab, y, por último, sunitinib, bevacizumab y everolimus.

Por el momento, la información integrada para el bevacizumab sigue siendo limitada, que ha permitido encontrar una supervivencia libre de progresión de 16,8 meses (IC<sub>95%</sub> 6,5-22) y una supervivencia libre de progresión a los 6 meses del 73 % (IC<sub>95%</sub> 44-93) (47,48).

Nuestros datos demuestran que las mutaciones en el *pTERT* no afectan la supervivencia libre de progresión con respecto a la primera, la segunda y la tercera línea. No obstante, dichas mutaciones influenciaron negativamente la supervivencia global tras la exposición al antiangiogénico.

Para todos los meningiomas, el tratamiento de elección sigue siendo la resección quirúrgica óptima, particularmente, en los casos que presentan tumores con un tamaño mayor de 4 cm, en aquellos que tienen una tasa de crecimiento mayor o igual al 20 % en presencia de un diámetro mayor de menos de 2,5 cm, en aquellos pacientes que exhiben signos de invasión ósea o cerebral, y en los que tienen un aumento de tamaño de más de 1 cm en un año (49).

Después del procedimiento neuroquirúrgico, la adición de la radioterapia proporciona una supervivencia libre de progresión a 5 años del 76,5 % en casos de meningiomas atípicos y del 56 % en los de los anaplásicos. Además, la supervivencia global a 5 años es del 77 % para los pacientes con tumores de grado OMS II y del 44 % para los de grado III, punto en el que la toxicidad acumulada oscila entre el 12 % y 35 % (49).

Por el momento, la radioterapia ha sustituido a la cirugía como primera elección en tumores pequeños de la base del cráneo o en aquellos con afectación de estructuras neurovasculares (nervio óptico, seno cavernoso o ambos). Sin embargo, la administración de diversos medicamentos sigue estando reservada para los pacientes con tumores agresivos, recurrentes y que no mejoran con la cirugía y la radiación.

Estudios como el presente contribuyen a la construcción del conocimiento necesario para optimizar el tratamiento de los meningiomas agresivos, explorando nuevos blancos terapéuticos y caracterizando el comportamiento biológico de la enfermedad según su perfil molecular (50,51).

En conclusión, el presente estudio aporta datos novedosos sobre la caracterización de los meningiomas de alto grado, por primera vez en una población hispana. Además, resalta la importancia del análisis de las mutaciones del *pTERT* al impactar de forma significativa la supervivencia global en aquellos casos con múltiples recurrencias, y podría ser útil para seleccionar la mejor secuencia del tratamiento médico, utilizando fármacos como el everolimus con octeótrido o sin él, el sunitinib y el bevacizumab. Se requieren estudios adicionales que evalúen la importancia pronóstica de otros biomarcadores en las diferentes etapas de la evolución natural del

meningioma y, a su vez, determinar factores predictores de respuesta a tratamientos de tipo sistémico y a la radioterapia.

## Referencias

- Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL, Lohse CM, Wollan PC. "Malignancy" in meningiomas: A clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer*. 1999;85:2046-56. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0142\(19990501\)85:9<2046:aid-cnrc23>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19990501)85:9<2046:aid-cnrc23>3.0.co;2-m)
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, *et al.* The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*. 2007;114:97-109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
- Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Vecchione-Koval T, Wolinsky Y, Kruchko C, *et al.* CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. *Neuro Oncol*. 2017;19(Suppl.5):v1-88. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox158>
- Olar A, Wani KM, Sulman EP, Mansouri A, Zadeh G, Wilson CD, *et al.* Mitotic index is an independent predictor of recurrence-free survival in meningioma. *Brain Pathol*. 2015;25:266-75. <https://doi.org/10.1111/bpa.12174>
- Wang YC, Chuang CC, Wei KC, Chang CN, Lee ST, Wu CT, *et al.* Long term surgical outcome and prognostic factors of atypical and malignant meningiomas. *Sci Rep*. 2016;6:35743. <https://doi.org/10.1038/srep35743>
- Durand A, Labrousse F, Jouvet A, Bauchet L, Kalamaridès M, Menei P, *et al.* WHO grade II and III meningiomas: A study of prognostic factors. *J Neurooncol*. 2009;95:367-75. <https://doi.org/10.1007/s11060-009-9934-0>
- Agnihotri S, Suppiah S, Tonge PD, Jalali S, Danesh A, Bruce JP, *et al.* Therapeutic radiation for childhood cancer drives structural aberrations of NF2 in meningiomas. *Nat Commun*. 2017;8:186. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00174-7>
- Christiaans I, Kenter SB, Brink HC, van Os TA, Baas F, van den Munckhof P, *et al.* Germline SMARCB1 mutation and somatic NF2 mutations in familial multiple meningiomas. *J Med Genet*. 2011;48:93-7. <https://doi.org/10.1136/jmg.2010.082420>
- Bi WL, Abedalthagafi M, Horowitz P, Agarwalla PK, Mei Y, Aizer AA, *et al.* Genomic landscape of intracranial meningiomas. *J Neurosurg*. 2016;125:525-35. <https://doi.org/10.3171/2015.6.JNS15591>
- Clark VE, Erson-Omay EZ, Serin A, Yin J, Cotney J, Ozduman K, *et al.* Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO. *Science*. 2013;339:1077-80. <https://doi.org/10.1126/science.1233009>
- Yuzawa S, Nishihara H, Tanaka S. Genetic landscape of meningioma. *Brain Tumor Pathol*. 2016;33:237-47. <https://doi.org/10.1007/s10014-016-0271-7>
- Bi WL, Greenwald NF, Abedalthagafi M, Wala J, Gibson WJ, Agarwalla PK, *et al.* Erratum: Genomic landscape of high-grade meningiomas. *NPJ Genom Med*. 2017;2:26. <https://doi.org/10.1038/s41525-017-0023-6>
- Perry A, Banerjee R, Lohse CM, Kleinschmidt-DeMasters BK, Scheithauer BW. A role for chromosome 9p21 deletions in the malignant progression of meningiomas and the prognosis of anaplastic meningiomas. *Brain Pathol*. 2002;12:183-90. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2002.tb00433.x>
- Youngblood MW, Miyagishima DF, Jin L, Gupte T, Li C, Duran D, *et al.* Associations of meningioma molecular subgroup and tumor recurrence. *Neuro Oncol*. 2021;23:783-94. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa226>
- Shankar GM, Abedalthagafi M, Vaubel RA, Merrill PH, Nayyar N, Gill CM, *et al.* Germline and somatic *BAP1* mutations in high-grade rhabdoid meningiomas. *Neuro Oncol*. 2017;19:535-45. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now235>
- Smith MJ, O'Sullivan J, Bhaskar SS, Hadfield KD, Poke G, Caird J, *et al.* Loss-of-function mutations in *SMARCE1* cause an inherited disorder of multiple spinal meningiomas. *Nat Genet*. 2013;45:295-8. <https://doi.org/10.1038/ng.2552>
- Tauziede-Espariat A, Parfait B, Besnard A, Lacombe J, Pallud J, Tazi S, *et al.* Loss of *SMARCE1* expression is a specific diagnostic marker of clear cell meningioma: A comprehensive immunophenotypical and molecular analysis. *Brain Pathol*. 2018;28:466-74. <https://doi.org/10.1111/bpa.12524>

18. Vasudevan H, Braunstein S, Phillips JJ, Pekmezci M, Wu A, Reis G, *et al.* GENE-04. Comprehensive genomic characterization of aggressive meningiomas identifies molecular signatures that predict clinical outcomes. *Neuro-Oncology*. 2017;19(Suppl.6):vi92-3. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox168.379>
19. Barthel FP, Wei W, Tang M, Martínez-Ledesma E, Hu X, Amin SB, *et al.* Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types. *Nat Genet*. 2017;49:349-57. <https://doi.org/10.1038/ng.3781>
20. Yuan P, Cao J lin, Abuduwufuer A, Wang LM, Yuan XS, Lv W, *et al.* Clinical characteristics and prognostic significance of *TERT* promoter mutations in cancer: A cohort study and a meta-analysis. *PLoS ONE*. 2016;11:e0146803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146803>
21. Juratli TA, Thiede C, Koerner MVA, Tummala SS, Daubner D, Shankar GM, *et al.* Intratumoral heterogeneity and *TERT* promoter mutations in progressive/higher-grade meningiomas. *Oncotarget*. 2017;8:109228-37. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22650>
22. Peyre M, Gauchotte G, Giry M, Froehlich S, Pallud J, Graillon T, *et al.* De novo and secondary anaplastic meningiomas: A study of clinical and histomolecular prognostic factors. *Neuro Oncol*. 2018;20:1113-21. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox231>
23. Sahm F, Schrimpf D, Olar A, Koelsche C, Reuss D, Bissel J, *et al.* *TERT* promoter mutations and risk of recurrence in meningioma. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108:djv377. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv377>
24. Spiegl-Kreinecker S, Löttsch D, Neumayer K, Kastler L, Gojo J, Pirker C, *et al.* *TERT* promoter mutations are associated with poor prognosis and cell immortalization in meningioma. *Neuro Oncol*. 2018;20:1584-93. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy104>
25. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, *et al.* The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A summary. *Acta Neuropathol*. 2016;131:803-20. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
26. Huang RY, Bi WL, Weller M, Kaley T, Blakeley J, Dunn I, *et al.* Proposed response assessment and endpoints for meningioma clinical trials: Report from the Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group. *Neuro Oncol*. 2019;21:26-36. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy137>
27. Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, Bettegowda C, Agrawal N, Diaz LA, *et al.* *TERT* promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:6021-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303607110>
28. Apra C, Peyre M, Kalamarides M. Current treatment options for meningioma. *Expert Rev Neurother*. 2018;18:241-9. <https://doi.org/10.1080/14737175.2018.1429920>
29. Goutagny S, Nault JC, Mallet M, Henin D, Rossi JZ, Kalamarides M. High incidence of activating *TERT* promoter mutations in meningiomas undergoing malignant progression. *Brain Pathol*. 2014;24:184-9. <https://doi.org/10.1111/bpa.12110>
30. Mirian C, Duun-Henriksen AK, Juratli T, Sahm F, Spiegl-Kreinecker S, Peyre M, *et al.* Poor prognosis associated with *TERT* gene alterations in meningioma is independent of the WHO classification: An individual patient data meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020;91:378-87. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322257>
31. Harmancı AS, Youngblood MW, Clark VE, Coşkun S, Henegariu O, Duran D, *et al.* Integrated genomic analyses of de novo pathways underlying atypical meningiomas. *Nat Commun*. 2018;9:16215. <https://doi.org/10.1038/ncomms14433>
32. Maier A, Bröchner CB, Bartek J, Eriksson F, Ugleholdt H, Broholm H, *et al.* Mitotic and proliferative indices in WHO grade III meningioma. *Cancers (Basel)*. 2020;12:E3351. <https://doi.org/10.3390/cancers12113351>
33. Maier AD, Stenman A, Svahn F, Mirian C, Bartek J, Juhler M, *et al.* *TERT* promoter mutations in primary and secondary WHO grade III meningioma. *Brain Pathol*. 2021;31:61-9. <https://doi.org/10.1111/bpa.12892>
34. Williams EA, Santagata S, Wakimoto H, Shankar GM, Barker FG, Sharaf R, *et al.* Distinct genomic subclasses of high-grade/progressive meningiomas: NF2-associated, NF2-exclusive, and NF2-agnostic. *Acta Neuropathol Commun*. 2020;8:171. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-01040-2>

35. Barresi V, Simbolo M, Fioravanzo A, Piredda ML, Caffo M, Ghimenton C, *et al.* Molecular profiling of 22 primary atypical meningiomas shows the prognostic significance of 18q heterozygous loss and CDKN2A/B homozygous deletion on recurrence-free survival. *Cancers (Basel)*. 2021;13:903. <https://doi.org/10.3390/cancers13040903>
36. Rutland JW, Gill CM, Loewenstern J, Arib H, Pain M, Umphlett M, *et al.* NF2 mutation status and tumor mutational burden correlate with immune cell infiltration in meningiomas. *Cancer Immunol Immunother*. 2021;70:169-76. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02671-z>
37. Gill CM, Loewenstern J, Rutland JW, Arib H, Pain M, Umphlett M, *et al.* SWI/SNF chromatin remodeling complex alterations in meningioma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2021;147:3431-40. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02671-z>
38. Olar A, Wani KM, Wilson CD, Zadeh G, DeMonte F, Jones DTW, *et al.* Global epigenetic profiling identifies methylation subgroups associated with recurrence-free survival in meningioma. *Acta Neuropathol*. 2017;133:431-44. <https://doi.org/10.1007/s00401-017-1678-x>
39. Sahm F, Schrimpf D, Stichel D, Jones DTW, Hielscher T, Schefzyk S, *et al.* DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: A multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol*. 2017;18:682-94. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)3015](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)3015)
40. Nazem AA, Ruzevick J, Ferreira MJ. Advances in meningioma genomics, proteomics, and epigenetics: Insights into biomarker identification and targeted therapies. *Oncotarget*. 2020;11:4544-53. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27841>
41. Graillon T, Romano D, Defilles C, Saveanu A, Mohamed A, Figarella-Branger D, *et al.* Octreotide therapy in meningiomas: In vitro study, clinical correlation, and literature review. *J Neurosurg*. 2017;127:660-9. <https://doi.org/10.3171/2016.8.JNS16995>
42. Graillon T, Defilles C, Mohamed A, Lisbonis C, Germanetti AL, Chinot O, *et al.* Combined treatment by octreotide and everolimus: Octreotide enhances inhibitory effect of everolimus in aggressive meningiomas. *J Neurooncol*. 2015;124:33-43. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1812-3>
43. Graillon T, Sanson M, Campello C, Idbaih A, Peyre M, Peyrière H, *et al.* Everolimus and octreotide for patients with recurrent meningioma: Results from the Phase II CEVOREM Trial. *Clin Cancer Res*. 2020;26:552-7. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-2109>
44. Cardona AF, Ruiz-Patiño A, Zatarain-Barrón ZL, Hakim F, Jiménez E, Mejía JA, *et al.* Systemic management of malignant meningiomas: A comparative survival and molecular marker analysis between Octreotide in combination with Everolimus and Sunitinib. *PLoS ONE*. 2019;14:e0217340. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217340>
45. Hilton DA, Shivane A, Kirk L, Bassiri K, Enki DG, Hanemann CO. Activation of multiple growth factor signalling pathways is frequent in meningiomas. *Neuropathology*. 2016;36:250-61. <https://doi.org/10.1111/neup.12266>
46. Kaley TJ, Wen P, Schiff D, Ligon K, Haidar S, Karimi S, *et al.* Phase II trial of sunitinib for recurrent and progressive atypical and anaplastic meningioma. *Neuro Oncol*. 2015;17:116-21. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou148>
47. Scerrati A, Mongardi L, Visani J, Lofrese G, Cavallo MA, Fiorentino A, *et al.* The controversial role of Bevacizumab in the treatment of patients with intracranial meningioma: A comprehensive literature review. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2020;20:197-203. <https://doi.org/10.1080/14737140.2020.1736567>
48. Franke AJ, Skelton WP, Woody LE, Bregy A, Shah AH, Vakharia K, *et al.* Role of bevacizumab for treatment-refractory meningiomas: A systematic analysis and literature review. *Surg Neurol Int*. 2018;9:133. [https://doi.org/10.4103/sni.sni\\_264\\_17](https://doi.org/10.4103/sni.sni_264_17)
49. Unterberger A, Nguyen T, Duong C, Kondajji A, Kulinich D, Yang I. Meta-analysis of adjuvant radiotherapy for intracranial atypical and malignant meningiomas. *J Neurooncol*. 2021;152:205-16. <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03674-7>
50. Goldbrunner R, Minniti G, Preusser M, Jenkinson MD, Sallabanda K, Houdart E, *et al.* EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas. *Lancet Oncol*. 2016;17:e383-391. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30321-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30321-7)
51. Stögbauer L, Stummer W, Senner V, Brokinkel B. Telomerase activity, *TERT* expression, *hTERT* promoter alterations, and alternative lengthening of the telomeres (ALT) in meningiomas - a systematic review. *Neurosurg Rev*. 2020;43:903-10. <https://doi.org/10.1007/s10143-019-01087-3>

Original article

## Anisakidae parasites in frozen fish fillets intended for human consumption

Patricia Betancourth<sup>1</sup>, Jairo Gómez<sup>2</sup>, Jorge A. Fernández-Silva<sup>1</sup>, Juliana González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Corporación Colombiana de Investigación, AGROSAVIA, Bogotá, D.C., Colombia

**Introduction:** Anisakiasis is a human parasitic disease caused by the consumption of raw fish or shellfish containing larvae of the Anisakidae family. It is currently considered an emerging disease of public health interest.

**Objective:** To identify the presence of larvae of the Anisakidae family in samples of frozen raw fish fillets intended for human consumption in markets in Medellín and its metropolitan area in Antioquia, Colombia.

**Materials and methods:** A cross-sectional study was carried out, in which larvae of the Anisakidae family were detected and identified in frozen raw fish fillets from three representative markets in Medellín and its metropolitan area. A total of 384 ready for consumption fillets were analyzed (197 sawfish, 137 salmon, 37 tuna, and 13 hake), using the pressing and ultraviolet light method. Taxonomic keys were used to identify the collected parasites and to establish its genus. Conventional PCR and Sanger sequencing was performed to determine the species.

**Results:** Four larvae were found in 4 of the 384 (1.04%) fillets ( $CI_{95\%} 1.04 \pm 1.01\%$ ). The species of fish in which the larvae were found was sawfish (*Scomberomorus* spp.) and the genus and species of the larvae was established as *Anisakis pegreffii*.

**Conclusions:** According to the study, the presence of *Anisakis* parasites in frozen raw fish fillets in the influence area is evident.

**Keywords:** Anisakiasis; parasite; zoonoses; fishes; foodborne diseases

### Parásitos anisákidos en filetes de pescado congelado destinados a consumo humano

**Introducción.** La anisakiasis es una infección producida por parásitos de la familia Anisakidae, transmitida a los humanos por el consumo de pescado o mariscos crudos. En la actualidad, se considera una enfermedad emergente de interés en salud pública.

**Objetivo.** Identificar la presencia de larvas de la familia Anisakidae en muestras de filetes de pescado crudo congelado destinados a consumo humano, en mercados de Medellín y su área metropolitana en Antioquia (Colombia).

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio transversal, en el cual se buscó la presencia de larvas de la familia Anisakidae en filetes de pescado crudo congelado de tres mercados representativos de Medellín y su área metropolitana. Se analizaron 384 filetes listos para el consumo (197 sierras, 137 salmones, 37 atunes y 13 merluzas). Cada filete fue analizado mediante el método de prensado y luz ultravioleta. Los parásitos recolectados se identificaron a partir de claves taxonómicas para establecer el género, así como PCR convencional y posterior secuenciación Sanger, para determinar la especie.

**Resultados.** Se encontraron 4 larvas en 4 de los 384 filetes (1,04 %) ( $IC_{95\%} 1,04 \pm 1,01$  %). Las larvas encontradas fueron identificadas como *Anisakis pegreffii* y el tipo de pescado en el cual se encontraron fue la sierra (*Scomberomorus* spp.)

**Conclusiones.** De acuerdo con el estudio realizado, se evidencia la presencia de parásitos anisákidos en filetes de pescado crudo congelado en el área de influencia.

**Palabras clave:** anisakiasis; parásito; zoonosis; peces; enfermedades transmitidas por los alimentos

Anisakidosis is an emerging ichthyozoonotic parasitic disease with a worldwide distribution caused by nematodes of the Anisakidae family. This parasitosis is transmitted by the consumption of raw or undercooked fish preparations (1,2). The main genera and species of the Anisakidae family of public health significance are *Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*, and *Contracaecum osculatum* (3). Due to the acute and non-specific symptoms that it produces, such as abdominal pain, vomiting or diarrhea, the disease can be classified as nonspecific given that it can be confused with other diseases (4). Depending on the species of Anisakidae worms, the infection may present with particular characteristics.

Received: 16/03/2022

Accepted: 27/08/2022

Published: 29/08/2022

**Citation:**

Betancourth P, Gómez J, Fernández-Silva JA, González J. Anisakidae parasites in frozen fish fillets intended for human consumption. Biomédica. 2022;42:591-601.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6533>

**Corresponding author:**

Patricia Betancourth, Grupo Centauro, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia  
Telephone: (+57) (315) 534-0515  
patricia.betancourth@udea.edu.co

**Author contributions:**

Patricia Betancourth: Study conception and methodological design, collection of samples and data, and writing of the manuscript  
Juliana González: Methodological design and writing of the manuscript  
Jorge Arturo Fernández: Methodological advisory and writing of the manuscript  
Jairo Enrique Gómez: Methodological advisory  
All authors participated in data analysis, writing, and approval of the final version of the manuscript.

**Funding:**

The project was financed by the Grupo de Investigación Centauro of the Escuela de Medicina Veterinaria of the Facultad de Ciencias Agrícolas at the Universidad de Antioquia.

**Conflicts of interest:**

The authors declare that they have no conflict of interest for the publication of this article.

In the case of *A. simplex*, it is common to find allergic reactions that can manifest with urticaria and respiratory distress (5), while gastrointestinal symptoms are mainly observed if the disease is caused by *P. decipiens* and *C. osculatum* (3,6).

The consumption of raw fish in different preparations has been considered a cause of parasitosis in several cultures around the world. However, in countries like Colombia, where this type of consumption is not culturally common, the disease is currently increasing, probably due to the gastronomic influence of countries that include raw fish in their preparations. These changes are triggering the presence of infections by *Anisakis* spp. in the country (7,8).

There is one report of anisakiasis in humans in Colombia, as notified by the *Instituto Nacional de Salud* in 2019 (2). However, there are different research approaches that have demonstrated the presence of these parasites in this country (3). In addition, there is no epidemiological surveillance system directed to the diagnosis and control of anisakiasis (2), making it difficult to find and follow the number of cases that may occur (9,10). An early identification of this type of parasitosis is important, since the infection with some species of the *Anisakis* genus can trigger a type I hypersensitivity reaction, anaphylactic shock, and respiratory distress (11).

In Colombia, in the Pacific Coast and limits with Ecuador, previous studies have reported the presence of anisakids in many of the species studied using taxonomic and molecular diagnosis, (12,13). Due that the consumption of raw fish dishes is unavoidable, the risk of acquiring the infection increases, considering that the presence of these parasites has been reported in the country. Therefore, its circulation will depend on several factors; the most important are fish conservation at -20 °C for seven days and its preparation (cooked at 63 °C) (14). The lack of knowledge of the population about the prevention of the disease, conditions the presentation of cases in Colombia. Therefore, this study aimed to identify the presence of larvae of the Anisakidae family in samples of frozen raw fish fillets intended for human consumption in markets in Medellín and its metropolitan area in Antioquia, Colombia.

## Materials and methods

### **Methodological design**

In this cross-sectional study, 384 samples of frozen raw fish fillets were obtained from three main markets located in Medellín and its metropolitan area (*Plaza Minorista José María Villa*, *Central Mayorista de Antioquia*, *Placita de Flórez*). According to the *Departamento Administrativo Nacional de Estadística* (DANE), these places are the most visited by fish consumers and the main food suppliers in Antioquia, the collected samples are representative of this population (16).

The sample size was calculated to estimate a single proportion with an expected proportion in the population of 50% (due to unknown of the frequency of parasites of the Anisakidae worms in frozen fish in the studied area). Confidence intervals of 95% and estimated errors of 5% were also calculated (15).

The fish species included in the study were defined according to the proportion of tons landed in Antioquia, according to the *Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca* (AUNAP). In this way, sawfish (*Scomberomorus* spp.) represented 52% (n=197), salmon (*Salmo salar*) by 35% (n=137), tuna (*Thunnus tuna*) by 10% (n=37), and hake (*Merluccius merluccius*) by 3%

(n=13). Subsequently, the number of collected samples for each market was also established: 61% (n=235) of the samples should be obtained from the *Plaza Minorista José María Villa*, 26% (n=97) from the *Central Mayorista de Antioquia*, and 13% (n=52) from the *Placita de Flórez*. The total number of frozen fillets by species and store to be sampled was obtained from the information about the species landed and the number of stores within each market. It is worth mentioning that the selection of the stores was done randomly. Once this was defined, the total number of fillets to be purchased in each market was divided in such a way that the same number of fillets was obtained for each one of them.

### **Samples**

Fillets of approximately 200 g of each type of frozen fish were collected. No gutted fresh fish, dry fish or in any other preparation was included in the study. The fish species were chosen because they are frequently used in raw or partially sealed preparations, and for their marketing potential, according to data reported by the *Sistema del Servicio Estadístico Pesquero* (SEPEC) for the department in 2017.

### **Identification Anisakidae worms**

After being purchased, the frozen raw fish fillets were transported immediately at 4 °C to the *Laboratorio de Parasitología Especial* of the *Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia* in Medellín. The samples underwent a process of progressive thawing at room temperature. Subsequently, the fillets were placed in transparent 14 × 20 cm plastic bags and pressed into 1-2 mm thick layers using a hydraulic pressing device. Once the thin layer of the fillet was obtained, it was first inspected with white light and later, under a UV light source (366 nm), according to the recommended method for frozen samples (17).

### **Identification of Anisakidae larvae genus**

Once the larvae were identified, they were extracted with dissection forceps and preserved in 70% ethanol (18) for subsequent taxonomic identification, which was carried out using thermoionic scanning electron microscopy (JEOL-JSM 6490LV, JEOL, Japan) in the laboratory of the *Centro de Microscopía Avanzada* in the *Sede de Investigación Universitaria* (SIU) of the *Universidad de Antioquia*, in Medellín (Colombia). The taxonomic identification was carried out considering the taxonomic keys for the genus as previously proposed (18,19).

### **Identification of Anisakidae larvae species**

To determine the species of the found larvae, DNA extraction was carried out using a combination of an in-house extraction method (Proteinase K and B-mercaptoethanol), and (MoBio Laboratories Inc., CA, USA). The amount of extracted DNA was quantified using the Nanodrop 2000 Spectrophotometer™ (Thermo Fisher Scientific, USA), obtaining concentrations between 244 ng/μl, and quality ratios of 260/280 and 260/230 of 1,8 to 2. The pair of primers 211B (5'-TTTTCTGGTTATATGGATTGATTTCA-3') and 210 (5'-CACCAACTCTTAAAATTATC-3'), expecting an amplified fragment of around 500 bp, and NC2 (5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3'), expecting an amplicon size of approximately 900-1000 bp, were used to carry out the endpoint polymerase chain reaction (PCR). Amplified products were visualized in 2% agarose gels.

**Table 1.** Analyzed variables obtained from the semi-structured interview

Variable	Description	Categories	Variable type*	Question made to fish sellers during the semi-structured interview
Place of origin	Geographic place from where the analyzed fish fillet came from according to seller information.	National (Buenaventura Bahía Solano, Santa Marta) Imported (Ecuador, Chile)	Qualitative Nominal	What is the origin of the fish you are currently selling?
Market	Place of commercialization in Medellín and the metropolitan area	Plaza Minorista José María Villa Central Mayorista de Antioquia Placita de Flórez	Qualitative Nominal	n. a.
Type of fish	Common and scientific name of fish sampled	Sierra ( <i>Sawfish</i> ) Salmon ( <i>Salmo salar</i> ) Tuna ( <i>Thunnus</i> ) Hake ( <i>Merluccius merlusus</i> )	Qualitative Nominal	Is the fish you currently sell gutted and/or fresh?

\* Nominal scale for all variables

n. a.: not applicable

### Sequencing

Considering the size of the expected DNA fragments, the first PCR product (amplified with the 221B/210 primers) was only sequenced in one direction and the second fragment (targeted with NC5/NC2 primers) was sequenced in both directions. To carry out the Sanger sequencing process, a purification of 5 µl of the amplified PCR products was initially cleaned up with an exonuclease 1 plus alkaline phosphatase (ExoSAP, Thermo Fisher Scientific), which allows the removal of phosphate groups from dNTPs and primers' single strings. The cyclic sequence reaction (amplification and labeling with fluoro-labeled dNTPs) was performed using the BigDye Terminator Cycle Sequencing kit™ (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA), employing the first fluor of each of the primers of the previously amplified regions as templates.

Finally, the sequence purification was carried out with the BigDye XTerminator Purification kit™ (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, Foster City, USA). The cleaned products were run on the ABI 3500 Genetic Analyzer™ (Applied Biosystems, Foster City, USA), through the Data Collection software 3 and visualized on the Sequencing Analysis program, version 5.4 (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific, USA), which allowed the evaluation of the raw data (raw view), the quality value (assigned base probability), and the resulting electropherogram.

### Exploration of associations between variables

A semi-structured interview was conducted to the fish sellers at each selected store to obtain information about the place of origin, market, as well as type of fish (table 1). The information was documented in a data capture form, and furtherly used to explore associations between the presence of *Anisakis* spp. and the other variables of interest (table 2).

The purchase of the fillets was made in such a way that the seller was unaware of the purpose of the study, choosing the product for sale without any influence from the researchers.

### Statistical analysis

The collected data was recorded in an Excel 2010 sheet (Microsoft, Redmond, USA). The study variables were presence of the larvae (presence, absence), place of origin (national, imported), market (*Plaza Minorista José María Villa, Central Mayorista de Antioquia, Placita de Flórez*), and type of fish (sawfish, salmon, tuna, hake). The results were analyzed by means of descriptive statistics, using frequency tables and percentages. Bivariate

analyses were performed using the  $\chi^2$  test to explore the association between the presence of Anisakidae larvae and the other study variables. This association was confirmed using Fisher's exact test. In both cases, a p value <0.05 was established as statistically significant. Statistical analyses were performed using Stata 16.0™ (StataCorp, College Station, TX, USA) (20).

### **Ethical aspects**

The present study was proposed and carried out under an expedited endorsement from the *Comité Ético de Experimentación Animal* (CEEAA), *Universidad de Antioquia* (Minutes N°. 123, April 2<sup>nd</sup>, 2019).

### **Results**

#### **Frequency of Anisakidae larvae and possible associations with other study variables**

Four out of 384 samples analyzed contained Anisakidae larvae, with a frequency of 1.04% (CI<sub>95%</sub>: 1.04 ± 1.01%) (table 2). Positive samples were identified in sawfish species that came from the port of Buenaventura (Colombia). No statistical association was found between the presence of *Anisakis* spp. and the explored variables (e.g., place of origin, market, type of fish) (table 2).

#### **Identification of Anisakidae larvae genus**

Identification was done under electron microscopy visualization, determining that the found larvae belonged to the genus *Anisakis* spp. (figure 1).

#### **Identification of Anisakidae larvae species**

Further molecular analysis confirmed the genus of the larvae as *Anisakis* spp. (figure 2) and *A. pegreffii* as the species. This could be established with the phylogenetic reconstruction of the analyzed sequences by means of maximum likelihood analysis, and collated the sequences reported in GenBank (figure 3).

### **Discussion**

This study aimed to determine the presence of larvae of the Anisakidae family in frozen raw fish fillets intended for human consumption, sold in three markets in Medellín and its metropolitan area. To the authors' knowledge, this is the first study conducted in this area using ultraviolet light as larval identification method.

**Table 2.** Distribution of *Anisakis* spp. in frozen raw fish fillets samples (N=384), collected in three markets in Medellín and its metropolitan area (Antioquia, Colombia).

Variable	Category	Diagnosis of anisakids		Total (%)	Association		CI <sub>95%</sub>
		Pos (%) <sup>5</sup>	Neg (%)		$\chi^2=0.05$	Fisher's	
Place of origin	National <sup>1</sup>	4 (1.73)	231 (98.29)	235 (61.19)	0.107		1.73 ± 1.30
	Imported <sup>2</sup>	0	149 (100)	149 (38.81)			
Market	Plaza Minorista	4 (1.73)	230 (98.29)	234 (60.93)	0.109		1.73 ± 1.30
	José María Villa		150 (100)	150 (39.07)			
	Other <sup>3</sup>	0					
Type of fish	Sawfish	4 (2.03)	193 (97.96)	197 (51.30)	0.050	0.068	2.03 ± 1.40
	Other <sup>4</sup>	0	187 (100)	187 (48.70)			

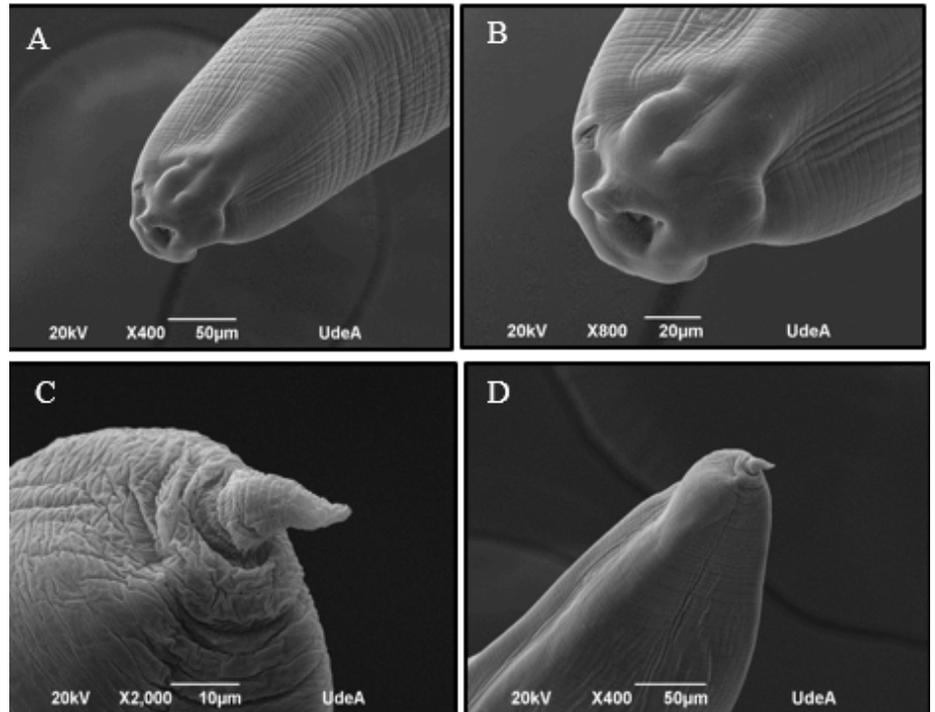
<sup>1</sup> Buenaventura, Bahía Solano, Santa Marta

<sup>2</sup> Ecuador, Chile

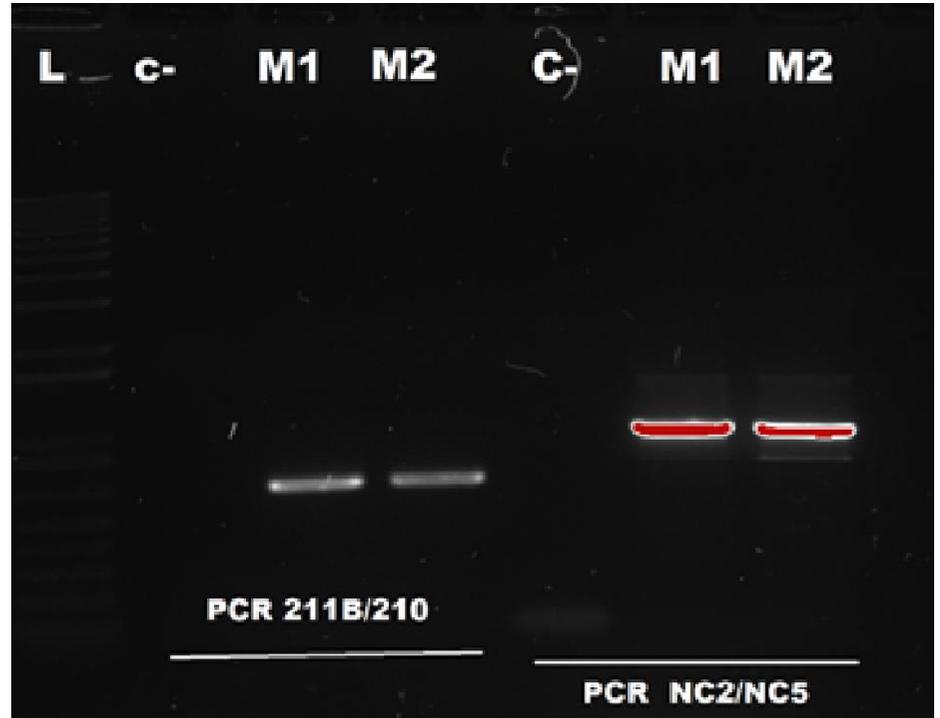
<sup>3</sup> Central Mayorista de Antioquia, Placita de Flórez

<sup>4</sup> *Salmo salar* (salmon), *Thunnus tuna* (tuna), *Merluccius merlusus* (hake).

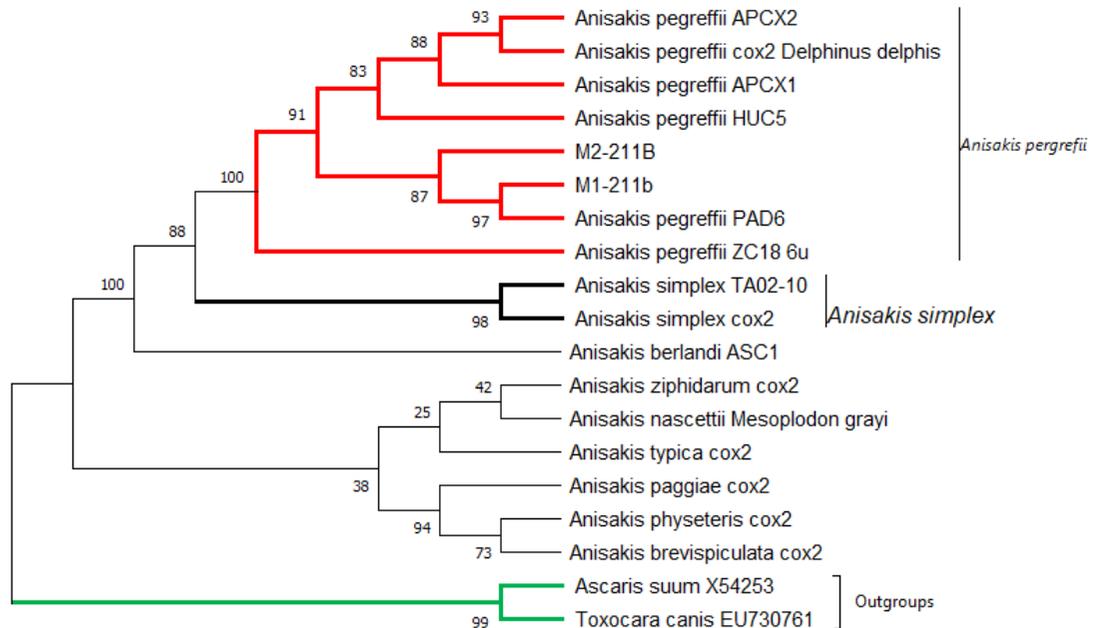
<sup>5</sup> Positivity to parasites of the genus *Anisakis* spp., according to the visualization technique of larvae by means of the pressing method and ultraviolet light.



**Figure 1.** Microphotography of larvae of the genus *Anisakis* spp. (A) and (B) show the anterior portion of *Anisakis* spp. larvae. Anatomical structures are observed: presence of papillae, excretory pore, tooth, and ventral lip. (C) and (D) show the posterior portion of the larvae, with the presence of a mucron structure.



**Figure 2.** PCR results for the detection of *Anisakis* spp. Seven lanes are observed were the L-lane corresponds to the molecular weight marker or ladder; the second lane is the negative control of the PCR reaction –water; the third and fourth lanes are the samples M1 and M2 for the 211B/210 primers; and the fifth lane is the negative control for NC2/NC5 PCR amplification products.



**Figure 3.** Phylogenetic tree of maximum likelihood comparison of *Anisakis* spp., based on the ITS1-5.8S-ITS2 region of rDNA.

Worldwide, frequencies of up to 100% of fish analyzed have been reported. Similar data have been reported in fresh fish in Buenaventura and the Colombian Pacific coast (21-23), representing an important criterion for identification and quantification of these parasites in frozen raw fish. The reported frequency of Anisakidae larvae herein seems to be relatively low (1.04%), compared to studies. This low frequency found in the present study may be due to several conditions; one of which is the analyzed type of sample (fillet).

Considering different studies, it has been established that most Anisakidae worms are found in viscera from where they migrate to muscles, depending on the time it takes for evisceration (24,25). Reported ratios also differ in several studies. However, a 2:1 ratio could be found, decreasing the probability of finding larvae in muscle (26). In addition to this, it has been reported that *A. pegreffii* larvae have a lower penetration speed into the muscle, which could explain a lower presentation of worms at muscle level (27). Another reason for this frequency is the type of fish analyzed. Although the most consumed species in Medellin and its metropolitan area were analyzed, there are other reported types of fish with a higher presence of these parasites, that were not selected in the present study.

Such studies have been also carried out by a convenience sampling, which does not allow direct comparison of the data since the identification method differs greatly with respect to that used in the present study (12,13). Furthermore, it is known that the probability of finding larvae in frozen raw fish fillets is much lower than the probability of finding larvae in viscera (28), which would explain the low frequency found herein. However, this is the first study with a proportional-based design carried out on frozen fish fillets sold in different markets in Medellin and its metropolitan area. Therefore, our results demonstrate the existence of Anisakidae worms in frozen fish that are available for sale, which allows the assumption of a potential risk of parasitic transmission to humans.

No statistical association was found between the presence of *Anisakis* spp. and the explored variables (e.g., place of origin, market, type of fish), probably due to the relatively limited data. It is likely that a similar study using a larger sample size could show potential statistical associations. Nevertheless, the whole study reveals the significant risk of transmission to humans due to infected fish consumption, regardless of statistical association to a specific variable.

As stated before, the pressing technique followed by the ultraviolet light examination was used herein. This method has a high probability of detecting the presence of larvae in frozen fillets (sensitivity and specificity of 99%) (29,30), contributing to an efficient and economical way to accurately identify nematodes, such as those of the Anisakidae family. Similar studies have used this same method, detecting four *Hysterothylacium* spp. larvae in the analyzed samples, determining that ice crystals related to the freezing conservation method, contribute to the release of lipofuscin, an enzyme that generates a reaction to ultraviolet light (30,31). This is an accurate technique to identify Anisakidae nematodes when it is necessary to evaluate large batches of frozen fish prior to be commercialized for human consumption (32). This method is one of the most effective ones from an economic point of view, compared to others such as the enzyme digestion test, which has good sensitivity and specificity, but its high costs make this technique unfeasible as a frequent diagnostic alternative in the fishing industry (29,30).

It was possible to identify the presence of Anisakidae larvae, demonstrating the circulation of these nematodes in Medellín and its metropolitan area, which turns out to be relevant, since until now, there were no previous studies that reported the status of this parasitosis in the department of Antioquia. Through taxonomic analysis, it was possible to establish that the identified larvae present in the raw fish fillets belonged to the genus *Anisakis* spp., which are the most important species regarding parasitic human infections, due to the allergic and digestive symptoms they might trigger (33). Hence, the species described in the present study (*A. pegreffii*) reflects a potential risk for raw fish consumers, who could be infected with live larvae.

These findings are similar to previous reports (12,13) which state that the genus *Anisakis* spp. on the Pacific and Atlantic coasts of Colombia, as well as other genera, are of public health concern. From the epidemiological point of view, this is representative since the distribution of different fish species intended for human consumption comes from places where the finding is evident, which could represent potentially risky species for public health if they consumed raw or undercooked (34).

Since *A. pegreffii* has been detected in fish from the Colombian and Ecuadorian Pacific coasts (14), it could be established that fish that come from the Colombian Pacific could carry this species of *Anisakis* in products that are intended for human consumption. Similarly, although this species does not produce allergic reactions as *A. simplex*, it can cause severe gastroenteric symptoms in carriers, risking their lives (6-8). Most of the fillets that were analyzed in this study came from the port of Buenaventura, where the nematode has been reported at very high frequencies in different fish species intended for human consumption (14). In addition, fishing methods in Colombia are mainly artisanal (35), which increases the possibility of selling fish infected with these worms such as *Anisakis* spp., since they are sold without sanitary control and visual inspection from the health and food authorities.

According to the analysis of the study variables, the presence of *A. pegreffii* larvae in sawfish fillets come from the port of Buenaventura, which allows it to be classified as a potentially risky species when consumed raw in different culinary preparations such as *ceviche* (36). *Anisakis pegreffii* and *A. simplex* are considered to share similar ways of causing disease in humans, a relevant situation to public health. Due to the gastrointestinal damage caused by the infection of the larvae, and the subsequent sequelae it leaves, it has been reported that these species of nematodes may be a risk factor for developing gastric cancer due to mucosal damage, and at the same time, trigger an immune reaction when in contact with the larvae antigens, though this last effect is still under study (34,37).

This report agrees with what was found in Mexico, where the Pacific sawfish was found to be one of the species that is most likely to be infected with *Anisakis* spp. (38). It should be noted that the capture method, selling, and habitat of this type of species in countries such as Mexico are like the processes carried out in Colombia, and that the presence of larvae may be subject to the time it takes to eviscerate, from capture to landing.

The results show a relatively low frequency, which cannot be considered epidemiologically significant. However, it is a starting point for further research on this nematode found in frozen fish. Additionally, only choosing four species of fish used for raw fish culinary preparations could have decreased the probability of finding a higher number of larvae, which, for future research, should be necessary to include risk groups and increase the number of fish species to be analyzed in order to better understand the behavior of the disease.

The present study is the first to report a frequency of 1.04% Anisakidae larvae compatible with the genus *Anisakis* and the species *pegreffii* in frozen raw fish fillets ready for human consumption in the department of Antioquia (Colombia). Our findings are of public health importance, revealing an important research approach in the field, oriented to expose the potential zoonotic risk and the impact that these parasitosis may have on the fishing industry and on human health. In addition, this type of study serves as an information mechanism for consumers, since they could prevent contamination from raw fish products using appropriate freezing, preservation, and cooking measures.

### Acknowledgments

Authors thank the *Laboratorio de Parasitología* of the *Facultad de Ciencias Agrarias* and *Grupo de Investigación Centauro* (*Universidad de Antioquia*) for diagnostic procedures and funding, respectively.

### References

1. Furuya K, Nakajima H, Sasaki Y, Urita Y. Anisakiasis: The risks of seafood consumption. *Niger J Clin Pract.* 2018;21:1492-4. [https://doi.org/10.4103/njcp.njcp\\_256\\_17](https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_256_17)
2. Patiño JA, Olivera MJ. Anisakiasis gastro-alérgica, primera descripción de un caso en Colombia y revisión bibliográfica. *Biomédica.* 2019;39:241-6. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i2.3936>
3. Castellanos-Garzón JA, Falla-Zúñiga LF, Salazar L, Pustovrh-Ramos MC. Anisakidos y anisakidosis: generalidades y su actualidad en Colombia. Revisión bibliográfica. *IATREIA.* 2020;33:143-54. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.47>
4. de Las Vecillas L, Muñoz-Cacho P, López-Hoyos M, Montecchiani V, Martínez-Sernández V, Ubeira FM, et al. Analysis of Anisakis 7 and Anisakis 1 allergens as biomarkers of sensitization and allergy severity in human anisakiasis. *Sci Rep.* 2020;10:11275. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67786-w>

5. Pardo V, Manuel J. El anisakis y sus enfermedades como enfermedad profesional. *Med Segur Trab (Madr)*. 2016;62:223-40.
6. Morsy K, Badr AM, Abdel-Ghaffar F, El Deeb S, Ebead S. Pathogenic potential of fresh, frozen, and thermally treated *Anisakis* spp. Type II (L3) (Nematoda: Anisakidae) after oral inoculation into Wistar rats: A histopathological study. *J Nematol*. 2017;49:427-36. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-092>
7. Aibinu IE, Smooker PM, Lopata AL. Anisakis nematodes in fish and shellfish- from infection to allergies. *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2019;9:384-93. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.04.007>
8. Bao M, Pierce GJ, Pascual S, González-Muñoz M, Mattiucci S, Mladineo I, et al. Assessing the risk of an emerging zoonosis of worldwide concern: Anisakiasis. *Sci Rep*. 2017;7:43699. <https://doi.org/10.1038/srep43699>
9. Amir A, Ngui R, Ismail WHW, Wong KT, Ong JSK, Lim YAL, et al. Anisakiasis causing acute dysentery in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*. 2016;95:410-2. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0007>
10. Chung Y-B, Lee J. Clinical characteristics of gastroallergic anisakiasis and diagnostic implications of immunologic tests. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2014;6:228-33. <https://doi.org/10.4168/aa.2014.6.3.228>
11. Restrepo-Betancurt LF, Rodríguez-Espinosa H, Valencia-Y D. Caracterización del consumo de pescado y mariscos en población universitaria de la ciudad de Medellín - Colombia. *Universidad y Salud*. 2016;18:257. [https://doi.org/10.22267/rus.161802\\_36](https://doi.org/10.22267/rus.161802_36)
12. Olivero-Verbel J, Baldiris-Ávila R, Güette-Fernández J, Benavides-Álvarez A, Mercado-Camargo J, Arroyo-Salgado B. *Contracaecum* sp. infection in *Hoplias malabaricus* (moncholo) from rivers and marshes of Colombia. *Vet Parasitol*. 2006;140:90-7. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.03.014>
13. Castellanos JA, Santana-Piñeros AM, Mercado R, Peña S, Pustovrh C, Cruz-Quintana Y. Presence of anisakid larvae in commercial fishes landed in the Pacific coast of Ecuador and Colombia. *Infectio*. 2018;22:206. <https://doi.org/10.22354/in.v22i4.739>
14. CDC-Centers for Disease Control, Prevention. CDC - anisakiasis - frequently asked questions (FAQs). 2010. Accessed: July 16, 2022. Available at: <https://www.cdc.gov/parasites/anisakiasis/faqs.html>
15. García-García JA, Reding-Bernal A, López-Alvarenga JC. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investig Educ Médica*. 2013;2:217-24.
16. Departamento Administrativo Nacional de Estadística. Sistema de información de precios (SIPSA). Accessed: July 16, 2022. Available at: <https://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-por-tema/agropecuaria/sistema-de-informacion-de-precios-sipsa>
17. Karl H, Leineman M. A fast and quantitative detection method for nematodes in fish fillets and fishery products. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. 1993;44:124-5. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.003>
18. Keim A. Manual de métodos parasitológicos e histopatológicos en piscicultura. 1982. Accessed: July 16, 2022. Available at: <https://aquadocs.org/handle/1834/4913>
19. Ishii Y, Fujino T, Weerasooriya MV. Morphology of anisakine larvae. En: *Gastric Anisakiasis in Japan*. Tokyo: Springer Japan; 1989. p.19-29.
20. StataCorp. Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LLC. (2019). Accessed: July 16, 2022. Available at: <https://www.stata.com/support/faqs/resources/citing-software-documentation-faqs/>
21. Sonko P, Chih-Cheng Chen S, Chou C-M, Huang Y-C, Hsu S-L, Barčák D, et al. Multidisciplinary approach in study of the zoonotic Anisakis larval infection in the blue mackerel (*Scomber australasicus*) and the largehead hairtail (*Trichiurus lepturus*) in Northern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2020;53:1021-9. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2019.04.012>
22. Torres-Frenzel P, Torres P. Anisakid parasites in commercial hake ceviche in southern Chile. *J Food Prot*. 2014;77:1237-40. <http://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-538>
23. Guardone L, Nucera D, Lodola LB, Tinacci L, Acutis PL, Guidi A, et al. *Anisakis* spp. larvae in different kinds of ready to eat products made of anchovies (*Engraulis encrasicolus*) sold in Italian supermarkets. *Int J Food Microbiol*. 2018;268:10-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.12.030>

24. Klapper R, Kuhn T, Münster J, Levsen A, Karl H, Klimpel S. Anisakid nematodes in beaked redbfish (*Sebastes mentella*) from three fishing grounds in the North Atlantic, with special notes on distribution in the fish musculature. *Vet Parasitol.* 2015;207:72-80. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.11.017>
25. Guardone L, Nucera D, Pergola V, Costanzo F, Costa E, Tinacci L, et al. Visceral larvae as a predictive index of the overall level of fish batch infection in European anchovies (*Engraulis encrasicolus*): A rapid procedure for food business operators to assess marketability. *Int J Food Microbiol.* 2017;250:12-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.011>
26. Mercken E, van Damme I, Vangeenberghe S, Serradell A, De Sterck T, Lumain JPL, et al. Ascaridoids in commercial fish: Occurrence, intensity and localization in whole fish and fillets destined for the Belgian market. *Int J Food Microbiol.* 2020;327:108657. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108657>
27. Suzuki J, Murata R, Hosaka M, Araki J. Risk factors for human Anisakis infection and association between the geographic origins of *Scomber japonicus* and anisakid nematodes. *Int J Food Microbiol.* 2010;137:88-93. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.001>
28. Colombo F, Cattaneo P, Castelletti M, Bernardi C. Prevalence and mean intensity of Anisakidae parasite in seafood caught in the Mediterranean Sea focusing on fish species at risk of being raw-consumed. A metaanalysis and systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56:1405-16. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755947>
29. Wang X, Jia H, Gong H, Zhang Y, Mi R, Zhang Y, et al. Expression and functionality of allergenic genes regulated by simulated gastric juice in *Anisakis pegreffii*. *Parasitol Int.* 2021;80:102223. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102223>
30. Gómez-Morales MA, Castro CM, Lalle M, Fernández R, Pezzotti P, Abollo E, et al. UV-press method versus artificial digestion method to detect Anisakidae L3 in fish fillets: Comparative study and suitability for the industry. *Fish Res.* 2018;202:22-8. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2016.12.011>
31. Levsen A, Maage A. Absence of parasitic nematodes in farmed, harvest quality Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway – Results from a large scale survey. *Food Control.* 2016;68:25-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.020>
32. Cipriani P, Giulietti L, Palomba M, Mattiucci S, Bao M, Levsen A. Occurrence of larval ascaridoid nematodes in the Argentinean short-finned squid *Illex argentinus* from the Southwest Atlantic Ocean (off Falkland Islands). *Int J Food Microbiol.* 2019;297:27-31. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.019>
33. Villafruela-Cives M, Henríquez-Santana A. Anisakiasis. *Rev Esp Enferm Dig.* 2010;102:216.
34. Mattiucci S, Cipriani P, Levsen A, Paoletti M, Nascetti G. Molecular epidemiology of Anisakis and anisakiasis: An ecological and evolutionary road map. *Adv Parasitol.* 2018;99:93-263. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001>
35. Moreno LT. La pesca de los pescadores artesanales en Colombia. PEGADA - A Revista da Geografia do Trabalho. 2018;19. <https://doi.org/10.33026/peg.v19i2.5514>
36. Lucano-Ramírez G, Ruiz-Ramírez S, Palomera-Sánchez FI, González-Sansón G. Biología reproductiva de la sierra *Scomberomorus sierra* (Pisces, Scombridae) en el Pacífico central mexicano. *Cienc Mar.* 2011;37:249-60.
37. Abattouy N, López AV, Maldonado JL, Benajiba MH, Martín-Sánchez J. Epidemiology and molecular identification of *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in the horse mackerel *Trachurus trachurus* from northern Morocco. *J Helminthol.* 2014;88:257-63. <https://doi.org/10.1017/S0022149X13000102>
38. Lerena MSM, Torres EP, Ramírez MÁP, Orozco JAH, Estrada GE, Esparza CD. Presencia de parásitos en pescado en el mercado local de la Zona Metropolitana de Guadalajara. e-CUCBA. 2018:21-6.

Original article

## NTD Health: An electronic medical record system for neglected tropical diseases

Rodrigo Ochoa<sup>1,2</sup>, Alessa Álvarez<sup>3</sup>, Jordan Freitas<sup>4</sup>, Saptarshi Purkayastha<sup>5</sup>, Iván D. Vélez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Max Planck Tandem Group in Biophysics of Tropical Diseases, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Centro para la Cuarta Revolución Industrial de Colombia, Complejo Ruta N, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Department of Computer Science, Loyola Marymount University, Los Angeles, USA

<sup>5</sup> Department of BioHealth Informatics, School of Informatics and Computing, Indiana University–Purdue University Indianapolis, Indianapolis, USA

**Received:** 25/08/2021

**Accepted:** 21/07/2022

**Published:** 29/07/2022

### Citation:

Ochoa R, Álvarez A, Freitas J, Purkayastha S, Vélez ID. NTD Health: An electronic medical record system for neglected tropical diseases. *Biomédica*. 2022;42:602-10.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6269>

### Corresponding author:

Rodrigo Ochoa, Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales - PECET, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

Telephone: (+57) (300) 450 5174  
[rodrigo.ochoa@udea.edu.co](mailto:rodrigo.ochoa@udea.edu.co)

### Author contributions:

Rodrigo Ochoa: Developed the NTD Health platform, led the dissemination strategies and wrote the draft of the manuscript.

Alessa Álvarez and Iván D. Vélez: Edited the manuscript and supported the dissemination strategies.

Jordan Freitas and Saptarshi Purkayastha: Were international contributors of the platform and educational content and edited the final version of the manuscript.

### Funding:

This work received financial support from TDR, the Special Program for Research and Training in Tropical Diseases, co-sponsored by United Nations International Children's Emergency Fund (UNICEF), United Nations Development Program (UNDP), the World Bank and the World Health Organization (WHO), under the short-term training grants for research capacity strengthening and knowledge management 2015 (ID number: 236030).

### Conflicts of interest:

The authors declare that they have no competing interest.

**Introduction:** The use of technological resources to support processes in health systems has generated robust, interoperable, and dynamic platforms. In the case of institutions working with neglected tropical diseases, there is a need for specific customizations of these diseases.

**Objectives:** To establish a medical record platform specialized in neglected tropical diseases which could facilitate the analysis of treatment evolution in patients, as well as generate more accurate data about various clinical aspects.

**Materials and methods:** A set of requirements to develop state of the art forms, concepts, and functionalities to include neglected tropical diseases were compiled. An OpenMRS distribution (version 2.3) was used as reference to build the platform, following the recommended guidelines and shared-community modules.

**Results:** All the customized information was developed in a platform called NTD Health, which is web-based and can be upgraded and improved by users without technological barriers.

**Conclusions:** The electronic medical record system can become a useful tool for other institutions to improve their health practices as well as the quality of life for neglected tropical disease patients, simplifying the customization of healthcare systems able to interoperate with other platforms.

**Keywords:** Neglected tropical diseases; electronic health records; public health informatics; software

### NTD Health: un sistema de historias clínicas electrónicas para enfermedades tropicales desatendidas

**Introducción.** El uso de recursos tecnológicos destinados a apoyar procesos en los sistemas de salud ha generado plataformas sólidas, interoperables y dinámicas. En el caso de las instituciones que trabajan con enfermedades tropicales desatendidas, existe la necesidad de personalizaciones específicas en las herramientas de uso médico.

**Objetivos.** Establecer una plataforma para historias clínicas especializada en enfermedades tropicales desatendidas, con el fin de facilitar el análisis de la evolución del tratamiento de los pacientes, además de generar datos más precisos sobre diversos aspectos clínicos.

**Materiales y métodos.** Se compiló un conjunto de requisitos para implementar formularios, conceptos y funcionalidades que permitan incluir enfermedades tropicales desatendidas. Se utilizó una distribución de OpenMRS (versión 2.3) como referencia para construir la plataforma, siguiendo las pautas recomendadas y módulos compartidos por la comunidad.

**Resultados.** Toda la información personalizada se implementó en una plataforma llamada NTD Health, la cual se encuentra almacenada en la web y los usuarios pueden actualizarla y mejorarla sin barreras tecnológicas.

**Conclusiones.** El sistema de historias clínicas electrónicas puede convertirse en una herramienta útil para que otras instituciones mejoren sus prácticas en salud, así como la calidad de vida de los pacientes con enfermedades tropicales desatendidas, simplificando la personalización de los sistemas de salud capaces de interoperar con otras plataformas.

**Palabras clave:** enfermedades desatendidas; registros electrónicos de salud; informática en salud pública; programas informáticos

Neglected tropical diseases are a set of infectious diseases affecting mainly disadvantaged populations in tropical and subtropical areas of the world (1). The prevalence of neglected tropical diseases is determined by different factors, including environmental, social, and economic conditions, as well as cultural practices and sanitation infrastructure development (2). In addition, there is a lack of economic and financial resources intended for research on neglected tropical diseases, and low interest of the pharmaceutical industry in response to the economic features associated with the affected population (3). Also, there is an association between the prevalence of neglected tropical diseases and the low budget allocated to health care centers. This has resulted in multiple philanthropic agencies coming together to create organizations that could improve neglected tropical disease visibility (4-6).

Under these conditions, management of these diseases can be challenging, which is why different support tools have been developed, such as the electronic medical record systems. With several free and open-source systems, the transition of medical records from paper to digital format has been beneficial, especially in developing countries (7,8). The main advantages of these free and open-source electronic medical record systems are lower implementation costs, fewer restrictions around content personalization, more efficient information gathering and processing, and fewer code development efforts (9).

To select the most appropriate platform for a suitable workflow for electronic medical record systems, certain criteria are considered, such as the possibility of customizing the content without the need for extensive knowledge in computer programming. Likewise, an offline data registration is also important so that the process is independent of internet access, which is sometimes unavailable in underdeveloped areas (10,11).

Among the free and open source electronic medical record systems. OpenMRS has a modular system that can be adapted to the needs of various contexts, and is able to create metadata according to the needs of each institution (<https://openmrs.org/>) (12). It has a large dictionary of concepts with ease of creating new ones based on clinical needs, such as disease specific terms. In addition, OpenMRS allows personalizing the forms and reports according to the health issue and the needs of information analysis.

The implementation of an electronic medical record system allows the integration of other information platforms within the same medical center, and in the health system of territories (13,14). These other systems include laboratory test reports, management of clinical information for each patient, and smartphones applications that allow data collection in isolated areas of the territory. This integration allows interoperability for a correct data management that can be shared in a safe and reliable way (15).

The objective of this study was based on the implementation of a personalized electronic medical record system based on OpenMRS, in order to manage clinical information of patients with neglected tropical diseases. The system was adapted to the specific needs of the *Programa para el Control de Enfermedades Tropicales* (PECET) at the *Universidad de Antioquia*, Medellín, Colombia, using specialized forms and concepts associated with each disease.

## **Materials and methods**

### ***Compiling requirements***

We compiled a set of requirements to supply state-of-the-art forms, concepts and functionalities related to a variety of neglected tropical diseases. Specifically, we adapted an OpenMRS distribution (reference application 2.3) to record data for diseases such as dengue, chikungunya, Zika and leishmaniasis. According to the current OpenMRS modules and functionalities, we focused the deployment on four categories: disease-specific forms, authentication and roles, diagnosis, and drug orders. The topics were categorized based on the time required for development and implementation, complexity of each task and availability of functions previously created for OpenMRS.

### ***Deployment of forms and concepts***

Different disease-specific forms were built using the HTML Form Entry (HFE) module of OpenMRS. With the HFE module it is possible to develop forms using HTML, CSS, JavaScript, and new HTML5 features like offline storage and form validation, facilitating the entry through any web browser. Epidemiological and clinical data were collected through a set of questions and add-ons, e. g. human body schemes to report the location of leishmaniasis lesions. The electronic medical record system was adapted to the MCL/CIEL dictionary (<http://www.maternalconceptlab.com>) distributed along with some OpenMRS packages. In addition, a set of concepts not included in the original list were included, and consequently submitted to the concept project in order to be shared with the OpenMRS community. The concepts were mapped (if available) with other controlled medical vocabularies, such as SNOMED CT (<http://www.snomed.org/snomed-ct>) and ICD-10 (<http://www.icd10data.com/>). Finally, we added forms to each patient's dashboard and managed the records based on defined roles.

To develop the platform infrastructure, the customized electronic medical record system was deployed on a server running Debian Linux on Apache Tomcat, v. 7 (<http://tomcat.apache.org/>), which is the recommended Java servlet container. Our electronic medical record system can also be deployed to other Java application servers, such as JBoss or WebSphere. The OpenMRS data model and the concept dictionary were managed in a MySQL database server, using English and Spanish as the main languages used for metadata. Web-based access was provided to the health care personnel from PECET, involved in the attention of patients affected by various tropical viral diseases and American cutaneous leishmaniasis. The forms for dengue, chikungunya and Zika virus were compacted into one, due to their similar symptoms, epidemiological conditions, and personal clinical histories.

### ***Dissemination and training***

To promote the open-source technologies behind the electronic medical record system implementation, a local workshop called "Health Informatics Tools" was conducted to train users and developers from Colombia and other Latin American countries (<http://ubmc-pecet.udea.edu.co/hitworkshop/>). Different tools such as OpenMRS, DHIS2 (<https://dhis2.org>), and Sana (<http://sana.mit.edu/>) were included. Simultaneously, an open course was developed for OpenMRS users, implementers, and developers around the world. The course contains information reviewed by experts, with videos and various methodologies that can help guide the migration and implementation of platforms such as NTD Health in other scenarios.

The implementation strategy covered in NTD Health is summarized in figure 1.

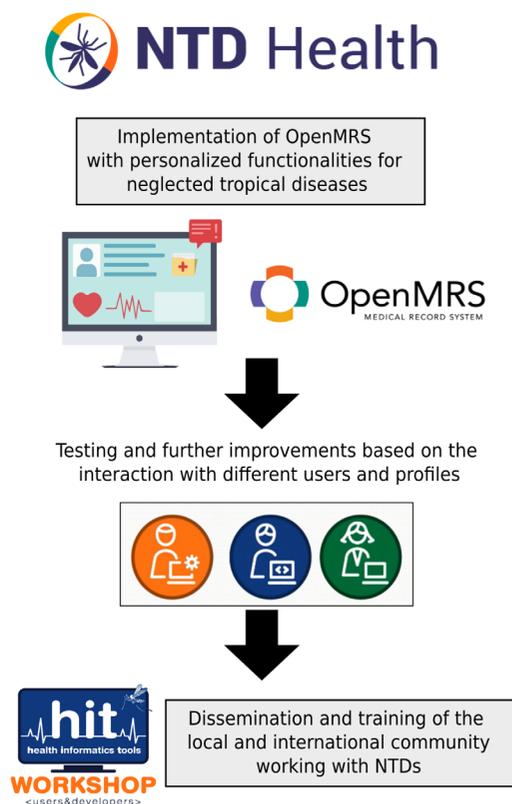
### **Ethical approval**

This project did not involve the participation or experimentation with human or animal participants.

### **Results**

#### **Deployment strategy**

The enterprise version of the OpenMRS reference application 2.3 was used for NTD Health. To personalize the system, the reference application and the UICommons modules were modified to include the NTD Health logo and other stylesheet changes in the source code. We used Spanish translation because the implementation was originally intended for Latin American institutions. At the time of the deployment, most of the terms were not translated appropriately due to the new release of the reference application. For this reason, we supported the translation of terms from multiple implemented modules. Specifically, the OrderEntryUI module was completely translated and made publicly available to the entire OpenMRS community.



**Figure 1.** Neglected tropical disease health implementation strategy. The process included the implementation of a customized OpenMRS platform with self-generated metadata. The project also involves dissemination and training for the local and international community through events and online educational material.

To collect local and personalized patient data, the registration form app was modified from the source code and complemented with additional questions about country identification, occupation, and health institution where the patient is affiliated were included (figure 2). Details regarding the diseases were organized in forms, and further added to the system through the HTMLFormEntry module, following OpenMRS and general electronic medical record guidelines (16). Three forms were designed to obtain information about tropical viruses, personal history, and epidemiological background of the patients. All the information required was designed by health personnel involved in the management of these diseases, aiming at providing all the necessary data to improve the diagnosis and future treatments.

The created forms, together with the defined MCL/CIEL concepts are available in the GitHub repository: [https://github.com/rochoa85/NTDHealth\\_Forms](https://github.com/rochoa85/NTDHealth_Forms). The use of this controlled vocabulary to add new medical concepts associated with neglected tropical diseases is crucial to allow the interoperability of the platform with other local electronic medical record systems, facilitating the potential communication between them. Data storage is managed through local platform installations, which means that nothing is stored in public servers, providing the security and confidentiality necessary to administer clinical information, also giving safe and long-term storing conditions. In addition, OpenMRS generates copies of the information at certain time intervals to avoid losing sensitive data.

The figure consists of two screenshots of the NTD Health web application interface.

The top screenshot shows the login page. At the top, there is a green header with the NTD Health logo. Below the header, there is a section titled "INICIO DE SESIÓN" (Login). It contains two input fields: "Nombre de usuario:" (Username) and "Contraseña:" (Password). Below these fields is a dropdown menu for "Lugar de esta sesión:" (Location of this session), with options "Clínica de la Fiebre" and "Consulta Externa". A green "Iniciar sesión" (Login) button is located at the bottom right, along with a link "¿No puede ingresar?" (Cannot log in?).

The bottom screenshot shows the patient registration page. At the top, there is a green header with the NTD Health logo and a navigation bar with "admin", "Consulta Externa", and "Finalizar sesión". Below the header, there is a breadcrumb "Registar un paciente" and a title "Registrar un paciente". On the left, there is a sidebar menu with categories: "Datos demográficos" (Demographic data), "Información de contacto" (Contact information), "Entidad de Salud" (Health entity), "Identificación" (Identification), and "Confirmar". The "Datos demográficos" section is expanded, showing fields for "Nombre" (Name), "Género" (Gender), "Fecha de nacimiento" (Date of birth), "Estado civil" (Marital status), and "Ocupación" (Occupation). The "Nombre" field is further divided into "Nombre (necesario)" (Required name), "Segundo Nombre" (Second name), and "Apellido(s) (necesario)" (Required last name). There is also a checkbox for "Paciente sin identificación" (Patient without identification).

**Figure 2.** Screenshots of the login and registration forms from the NTD Health implementation of the *Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales* (PECET). The forms describe the specific data required in Spanish for the people affiliated with this electronic medical record platform.

**Formulario para Virus Tropicales**

En este formulario podrá reportar los síntomas al igual que el examen físico de pacientes febriles con sospecha de estar infectado con alguna virosis tropical como Zika, Chikungunya y Dengue

**Fecha**  
17/01/2017  
(dd/mm/yyyy)

**Lugar de la consulta**  
Consulta Externa

**Profesional**  
Super User

**EXAMEN FÍSICO**

**Cabeza y cuello**

Ictericia  Deshidratación

**Piel**

Petequias  Equimosis  
 Cianosis  Rash

**SINTOMATOLOGÍA**

Mialgias  
 Artralgias

**Dengue  
Zika  
Chikungunya**

**Figure 3.** Screenshot of the tropical virus form for dengue, Zika and chikungunya. General information in Spanish with specific questions about physical examination, symptoms and diagnostics is included.

**leishCanvas**

**Localización de lesiones - Leishmaniasis**

En este aplicativo tendrá la opción de señalar en el diagrama las partes del cuerpo donde se han detectado las lesiones de leishmaniasis cutánea

Lesión cutánea N1  
 Lesión cutánea N2  
 Lesión cutánea N3  
 Lesión cutánea N4

Cancelar Guardar

**Figure 4.** Screenshot of the OpenWebApp canvas for the localization of cutaneous leishmaniasis lesions in a human body scheme.

Regarding tropical viruses, we focused our attention to those transmitted by the same insect vector (*Aedes aegypti*), which show similar symptoms and are usually difficult to diagnose by health professionals from endemic territories (17). This set of infections include those of Zika, dengue and chikungunya, being all three characterized by general and specific disease-related data captured through physical examination, symptomatology, and diagnostic inferences (figure 3). To obtain a broader panorama of the diseases, data from personal history with epidemiological background was captured, including information about living conditions, traveling sites, duration of the travel, and potential exposure based on frequent activities.

Finally, due to the expertise of the PECET research group in leishmaniasis, we used the OpenWebApp functionalities in OpenMRS to include a human body canvas on which the location of cutaneous lesions can be recorded graphically, along with other descriptions. A snapshot of the application is provided in figure 4.

The platform provides an open and useful way to document updated reports and improve the management of these diseases in isolated institutions which require automatized health information tools.

### **Dissemination impact**

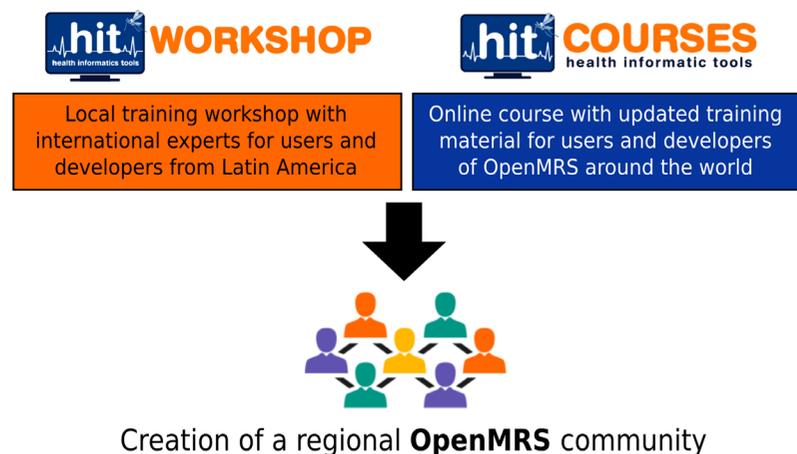
Two strategies were carried out to reach personally and virtually a group of users and developers in Colombia and other countries around the world. A summary of the strategies is shown in figure 5.

In the local workshop, we had the participation of various attendees from different sectors including engineers, health professionals, students, and entrepreneurs. The topics were taught using different methodologies, such as conference sessions, hands-on training, lightning talks, and a hackathon related to the needs and possible solutions in health informatics tools for real problems, including the NTD Health platform (18).

The online course provides valuable and updated resources for people entering the world of OpenMRS, containing information about how to install the latest releases of OpenMRS under different environments, and more elaborated topics such as the customization and overriding of system variables, and manipulation of the data model. At the end, the goal is to provide sustainable and community-driven support to the project to facilitate the inclusion of novel modules and functionalities required by the NTD Health users in the future.

### **Discussion**

The implementation of electronic medical records has been useful to improve the efficiency of storing and analyzing clinical data, enabling meta-analysis and execution of data mining protocols to learning about epidemiological conditions, drug side effects and other evidence to improve disease diagnosis (19). Due to the lack of data associated with neglected tropical diseases, the use of electronic platforms to store and manage clinical information is particularly relevant in order to improve research, curate novel datasets, and provide better healthcare services to the affected populations (20,21).



**Figure 5.** Scheme describing the local workshop and the online course for OpenMRS training. Both activities were aligned to improve the knowledge of health informatics tools in Latin America, looking to create a regional OpenMRS community.

After surveying some users of the platform, we noticed that most of the health professionals still use paper forms and excel files to store clinical data, although the process is commonly disrupted due to the rigid structure of the storage system and lack of efficient synchronization across the users. As a secondary finding of this work, it was clear that a multidisciplinary team is a key element for establishing efficient data collection techniques. The use of platforms by diverse groups of physicians, microbiologists, chemists, engineers, and nurses, facilitate their exchange of information and enhances the process of managing neglected tropical disease related research and patient care.

As perspectives, we highlight how cloud-based accessibility could be useful in zones where clinicians are normally collecting the data. This will allow them to store data in real time and synchronize it quickly with information stored by other professionals. In fact, the system can operate in surroundings with lower connectivity resources, given the light HTML content included in the interface that usually does not demand a high bandwidth size to be accessed. This is also supported by the option of installing NTD Health as a stand-alone application in the healthcare center.

Regarding the usability of the interface, the OpenMRS reference application provides friendly functionalities for people that are not familiar with this kind of technology, which is one of the main barriers for health professionals to adopt such platforms in their daily activities. The platform can be subsequently customized to add user-friendly HTML forms covering other tropical diseases, as well as to adapt the questionnaires and data acquisition pipelines based on the internal country regulations.

Overall, NTD Health is a customized electronic medical record system based on OpenMRS that provides forms and concepts required for the clinical care of patients diagnosed with tropical diseases. The collaborative and open nature of the project allows us to share the information with the community, and consequently incorporate their feedback and contributions to improve the system. The project is supported by a set of novel forms and concepts under the CIEL dictionary definitions, aiming to easily integrate them into OpenMRS implementations around the worldwide community of developers interested in neglected tropical diseases.

### **Acknowledgements**

The authors thank the PECET research group for providing feedback about the system implementation. Rodrigo Ochoa was supported by Colciencias, Universidad de Antioquia, Ruta N, Colombia, and the Max Planck Society, Germany.

### **Availability of data and material**

General information about the NTD Health project is publicly available at: <http://ubmc-pecet.udea.edu.co/ntdhealth/>. Training material about OpenMRS is provided here: <http://ubmc-pecet.udea.edu.co/hitworkshop/memorias/>. Tutorial videos are available in the YouTube channel: <https://www.youtube.com/channel/UCwVkJPoM2Lhhxj225jEaDMGA>. The generated metadata is distributed with all the code available in the GitHub repository: [https://github.com/rochoa85/NTDHealth\\_Forms](https://github.com/rochoa85/NTDHealth_Forms).

### **References**

1. Feasey N, Wansbrough-Jones M, Mabey DCW, Solomon AW. Neglected tropical diseases. *Br Med Bull.* 2010;93:179-200. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldp046>

2. Mackey TK, Liang BA, Cuomo R, Hafen R, Brouwer KC, Lee DE. Emerging and reemerging neglected tropical diseases: A review of key characteristics, risk factors, and the policy and innovation Environment. *Clin Microbiol Rev.* 2014;27:949-79. <https://doi.org/10.1128/cmr.00045-14>
3. Assis TM de, Rabello A, Cota G. Economic evaluations addressing diagnosis and treatment strategies for neglected tropical diseases: An overview. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2021;63:e41. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202163041>
4. Schuhmacher A, Gassmann O, Hinder M. Changing R&D models in research-based pharmaceutical companies. *J Transl Med.* 2016;14:1-11. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-0838-4>
5. Ioset JR, Chatelain E. Drug discovery and development for neglected diseases: the DNDi model. *Drug Des Dev Ther.* 2011;5:175. <https://doi.org/10.2147/dddt.s16381>
6. Tambo E, Ai L, Zhou X, Chen J-H, Hu W, Bergquist R, *et al.* Surveillance-response systems: The key to elimination of tropical diseases. *Infect Dis Poverty.* 2014;3:17. <https://doi.org/10.1186/2049-9957-3-17>
7. Oza S, Jazayeri D, Teich JM, Ball E, Nankubuge PA, Rwebembara J, *et al.* Development and deployment of the OpenMRS-Ebola Electronic Health Record System for an Ebola Treatment Center in Sierra Leone. *J Med Internet Res.* 2017;19:e294. <https://doi.org/10.2196/jmir.7881>
8. Hong SH, Smith P, Stewart B, Welsh M, Lee KH, Shin JI, *et al.* Medicine in a forgotten corner of Africa: How EMR can benefit the developing world - The FIMRC and EMR4DW experience. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2021;25:4139-48. [https://doi.org/10.26355/eurev\\_202106\\_26057](https://doi.org/10.26355/eurev_202106_26057)
9. Scott T, Rundall T, Vogt T, Hsu J. Implementing an electronic medical record system: successes, failures, lessons. London: CRC Press; 2016.
10. Seebregts CJ, Mamlin BW, Biondich PG, Fraser HSF, Wolfe BA, Jazayeri D, *et al.* The OpenMRS Implementers Network. *Int J Med Inform.* 2009;78:711-20. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2008.09.005>
11. Zaidan AA, Zaidan BB, Al-Haiqi A, Kiah MLM, Hussain M, Abdunabi M. Evaluation and selection of open-source EMR software packages based on integrated AHP and TOPSIS. *J Biomed Inform.* 2015;53:390-404. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2014.11.012>
12. Purkayastha S, Allam R, Maity P, Gichoya JW. Comparison of Open-Source Electronic Health Record Systems Based on Functional and User Performance Criteria. *Healthc Inform Res.* 2019;25:89-98. <https://doi.org/10.4258/hir.2019.25.2.8>
13. Eshleman RM, Yang H, Levine B. Structuring unstructured clinical narratives in OpenMRS with medical concept extraction. *Proc IEEE Int Conf Bioinform Biomed (BIBM).* 2015;2015:764-9. <http://doi.org/10.1109/bibm.2015.7359782>
14. Kimei E, Kalegele K. Digitization of antenatal health card and integration with OpenMRS platform: System analysis and design. *IST-Africa.* 2017;2017:1-7. <https://doi.org/10.23919/istafrica.2017.8101976>
15. Jian WS, Wen HC, Scholl J, Shabbir SA, Lee P, Hsu C-Y, *et al.* The Taiwanese method for providing patients data from multiple hospital EHR systems. *J Biomed Inform.* 2011;44:326-32. <https://doi.org/10.1016/j.jbi.2010.11.004>
16. Ludwick DA, Doucette J. Adopting electronic medical records in primary care: Lessons learned from health information systems implementation experience in seven countries. *Int J Med Inform.* 2009;78:22-31. <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2008.06.005>
17. Gould EA, Solomon T. Pathogenic flaviviruses. *Lancet.* 2008;371:500-9. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)60238-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(08)60238-x)
18. Castro-Rodríguez R, Galera-Gelvez K, López-Yescas JG, Rueda-Gallardo JA. Costs of dengue to the health system and individuals in Colombia from 2010 to 2012. *Am J Trop Med Hyg.* 2015;92:709-14. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0386>
19. Tang PC, Ash JS, Bates DW, Overhage JM, Sands DZ. Personal health records: Definitions, benefits, and strategies for overcoming barriers to adoption. *J Am Med Inform Assoc.* 2006;13:121-6. <https://doi.org/10.1197/jamia.m2025>
20. Bost F, Jacobs RT, Kowalczyk P. Informatics for neglected diseases collaborations. *Curr Opin Drug Discov Devel.* 2010;13:286-96.
21. Ekins S, Spektor AC, Clark AM, Dole K, Bunin BA. Collaborative drug discovery for More Medicines for Tuberculosis (MM4TB). *Drug Discov Today.* 2017;22:555-65. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.10.009>

Artículo original

## Validez y reproducibilidad de un método para estimar la capacidad cardiorrespiratoria en adultos universitarios

Eliana Arcila<sup>1</sup>, Carlos Restrepo<sup>1</sup>, Luis Valbuena<sup>2</sup>, Mario Andrés Quintero<sup>2</sup>, Felipe Marino<sup>2</sup>, Jorge Alberto Osorio<sup>1</sup>, Jaime Gallo-Villegas<sup>1,3</sup>, Juan Fernando Saldarriaga Franco<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Medicina Aplicada a la Actividad Física y al Deporte, Grupo de Investigación GRINMADE, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Medicina Deportiva, INDEPORTES Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Centro Clínico y de Investigación Soluciones Integrales en Riesgo Cardiovascular SICOR, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Grupo de Investigación de Epidemiología, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** La capacidad física cardiorrespiratoria es un predictor de mortalidad por enfermedad cardiovascular y por todas las causas. Su diagnóstico en diferentes grupos tiene utilidad clínica y en salud pública.

**Objetivo.** Evaluar la validez y reproducibilidad de un método sin ejercicio implementado por la NASA (*National Aeronautics and Space Administration*), para estimar el volumen máximo de oxígeno (VO<sub>2</sub>máx) consumido en adultos universitarios.

**Materiales y métodos.** Estudio de validación de una prueba que incluyó 94 individuos sanos de ambos sexos (18 a 55 años). La prueba de referencia fue la ergoespirometría. La validez y la reproducibilidad se evaluaron mediante el coeficiente de correlación intraclass (*Intraclass Correlation Coefficient*, CCI) y el método de Bland-Altman.

**Resultados.** Del total de los individuos incluidos en el estudio, 48,9 % fueron mujeres. La media de edad de los participantes fue de 30,54 ± 9,33 años y la del VO<sub>2</sub>máx, fue de 41,29 ± 9,54 ml O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>. Se encontró una diferencia de medias de VO<sub>2</sub>máx entre la ergoespirometría y el estimado por el método implementado por la NASA de 3,41 ± 5,64 ml O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>. La concordancia entre los dos métodos fue buena, con un coeficiente de correlación intraclass de 0,858 (IC<sub>95%</sub> 0,672-0,926). El porcentaje de error fue del 29,70 %. La reproducibilidad de las dos estimaciones por el método implementado por la NASA fue excelente, con un coeficiente de correlación intraclass de 0,986 (IC<sub>95%</sub> 0,927-0,995).

**Conclusiones.** El método NASA es válido y reproducible para estimar el VO<sub>2</sub>máx en adultos universitarios; además, es seguro y de fácil aplicación. Se recomienda la estimación de la capacidad física cardiorrespiratoria para mejorar la tamización en los programas de riesgo cardiometabólico e implementar intervenciones oportunas.

**Palabras clave:** capacidad cardiovascular; reproducibilidad de los resultados; pronóstico; consumo de oxígeno

### Validity and reproducibility of a method to estimate cardiorespiratory fitness in college adults

**Introduction:** Cardiorespiratory fitness is a predictor of cardiovascular and all-cause mortality. Its assessment in different groups has clinical and public health usefulness.

**Objective:** To evaluate the validity and reproducibility of a no-exercise method [National Aeronautics and Space Administration (NASA) method] to estimate the maximum oxygen consumption (VO<sub>2</sub>máx) in college adults.

**Materials and methods:** This study included 94 healthy individuals of both sexes (18-55 years). The gold standard was ergospirometry. The validity and reproducibility were evaluated with the intraclass correlation coefficient (ICC) and the Bland-Altman method.

**Results:** Among the participants, we found a mean age of 30.54 ± 9.33 years and a VO<sub>2</sub>máx of 41.29 ± 9.54 ml O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>; 48.9 % were women. A mean difference of VO<sub>2</sub>máx between ergospirometry and that estimated by the NASA method of 3.41 ± 5.64 ml O<sub>2</sub>.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup> was found. The concordance between the two methods was good, with an ICC of 0.858 (CI<sub>95%</sub> 0.672-0.926). The percentage of error was 29.70 %. The reproducibility of the two estimates by the NASA method was excellent, with an ICC of 0.986 (CI<sub>95%</sub> 0.927-0.995).

**Conclusions:** The NASA method is valid and reproducible to estimate VO<sub>2</sub>máx in college adults. In addition, it is safe and easy to apply. Estimating cardiorespiratory fitness is recommended to improve screening in cardiometabolic risk programs and to implement timely interventions.

**Keywords:** cardiorespiratory fitness; reproducibility of results; prognosis; oxygen consumption

**Recibido:** 25/11/2021

**Aceptado:** 19/09/2022

**Publicado:** 20/09/2022

#### Citación:

Arcila E, Restrepo C, Valbuena L, Quintero MA, Marino F, Osorio JA, et al. Validez y reproducibilidad de un método para estimar la capacidad cardiorrespiratoria en adultos universitarios. *Biomédica*. 2022;42:611-22.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6404>

#### Correspondencia:

Juan Fernando Saldarriaga, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Carrera 51D N° 62-29, oficina 301, Edificio Manuel Uribe Ángel, Medellín, Colombia  
Teléfono: (574) 219 6090; fax: (574) 263 0253  
jfernando.saldarriaga@udea.edu.co

#### Contribución de los autores:

Eliana Arcila, Carlos Restrepo, Jorge Alberto Osorio, Jaime Gallo-Villegas y Juan Fernando Saldarriaga: diseño del estudio  
Eliana Arcila, Carlos Restrepo, Luis Valbuena, Mario Andrés Quintero, Felipe Marino y Juan Fernando Saldarriaga: recolección de los datos  
Jaime Gallo-Villegas y Juan Fernando Saldarriaga: análisis de los datos  
Eliana Arcila, Jaime Gallo-Villegas y Juan Fernando Saldarriaga: escritura del manuscrito

#### Financiación:

Esta investigación fue realizada con recursos del Posgrado de Medicina Aplicada a la Actividad Física y al Deporte, Grupo de Investigación GRINMADE, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; INDEPORTES Antioquia, Grupo de Investigación Medicina Deportiva; Grupo de Investigación de Epidemiología, Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

La actividad física regular y el ejercicio mejoran la capacidad cardiorrespiratoria (1). Además, se asocian con beneficios para la salud, como la disminución en la incidencia de enfermedades crónicas, y el aumento de la calidad y en la expectativa de vida (2-4).

Una escasa capacidad física cardiorrespiratoria es un factor de riesgo independiente de 'mortalidad cardiovascular y por todas las causas' (5-7). No obstante, alrededor del 30 % de la población mundial no cumple las recomendaciones de actividad física que permitan obtener beneficios para la salud (8,9). En el mundo, entre el 6 y el 30 % de las muertes por enfermedades crónicas (hipertensión arterial, diabetes mellitus de tipo 2, síndrome metabólico, dislipidemia, enfermedad cardíaca isquémica), pueden atribuirse a una escasa capacidad física cardiorrespiratoria (10,11).

Esta capacidad puede medirse directa o indirectamente (12). La determinación directa incluye métodos como: i) calorimetría; ii) sensores de movimiento; iii) acelerómetros, y iv) ergometría con análisis de gases respiratorios. Estos métodos, por su alto costo y complejidad, no son accesibles en algunos contextos clínicos y poblacionales (6,7,12). La determinación indirecta del máximo volumen de oxígeno ( $VO_2$ máx) consumido puede realizarse por medio de pruebas de laboratorio o de campo. Sin embargo, estas no siempre se pueden usar y, en algunos casos, su validez es cuestionada (12).

Se ha promovido el uso de cuestionarios como estrategia alternativa para cuantificar la actividad física que realizan las personas, y hacer vigilancia epidemiológica de las actividades sedentarias (13,14). Entre ellos, el *Global Physical Activity Questionnaire* (GPAQ) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (13) y el *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), en sus formas larga y corta (14), los cuales han sido usados ampliamente (15).

En una revisión sistemática que incluyó 23 estudios de validación de la forma corta del IPAQ, se concluyó que la correlación entre éste y las mediciones objetivas de la actividad física, en la mayoría de los estudios, fue menor que el estándar aceptable; además, con el IPAQ se tiende a sobreestimar la actividad física real hasta en el 84 %. Estos resultados muestran una evidencia débil para justificar el uso de cuestionarios como indicador de la actividad física relativa o absoluta (15). También, se ha encontrado variabilidad en la interpretación de las preguntas de los cuestionarios entre individuos de diferentes países, escolaridad y sexo, que ha generado resultados inusualmente altos de actividad física en diferentes grupos poblacionales (16,17).

Con el fin de obtener herramientas sencillas, de bajo costo y confiables para estimar la capacidad física cardiorrespiratoria (un indicador más objetivo de la actividad física), se han desarrollado métodos sin ejercicio; estos incluyen variables de fácil obtención en el consultorio como: i) sexo, ii) edad, iii) índice de masa corporal, iv) frecuencia cardíaca en reposo, y vi) nivel de actividad física autorreportada (6,18-20). Sin embargo, estos métodos solo han sido validados en algunas poblaciones (6,18-23). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la validez y reproducibilidad de un método sin ejercicio desarrollado por la NASA, para estimar el  $VO_2$ máx en adultos universitarios.

## Materiales y métodos

### *Diseño*

Se realizó un estudio de validación de una prueba diagnóstica, entre 2016 y 2017, que incluyó 94 personas (estudiantes de pregrado o posgrado, egresados o empleados) pertenecientes a la Universidad de Antioquia en Medellín, Colombia, a quienes se les hizo una evaluación clínica y la medición directa del  $VO_2$  máx, y en quienes se utilizó el método sin ejercicio de la NASA.

### *Población*

El estudio incluyó adultos sanos, hombres y mujeres, con edades entre los 18 y los 55 años, pertenecientes a la comunidad universitaria. Se excluyeron personas con antecedentes de enfermedad cardiovascular (hipertensión arterial sistémica, malformaciones cardíacas, insuficiencia cardíaca, hipertensión pulmonar, arritmias cardíacas o enfermedad coronaria), consumo de medicamentos ( $\beta$ -bloqueadores, digitálicos o  $\beta_2$  adrenérgicos), consumo de sustancias psicoactivas o estimulantes, lesiones o antecedentes de trauma osteomuscular que impidieran la realización de la prueba física, y condiciones neurológicas o mentales que limitaran su participación (anormalidades en la marcha, parestias o plejias, trastornos del sensorio o enfermedad mental descompensada).

### *Medición del consumo máximo de oxígeno*

La medición del  $VO_2$  máx se realizó de forma directa mediante un espirómetro de circuito abierto Oxycon Delta™ de Jaeger (VIASYS Healthcare GmbH, Hoechberg, Alemania) en banda rodante. Un fisiólogo del ejercicio supervisó la prueba y registró de forma continua el electrocardiograma, la frecuencia cardíaca y la presión arterial. Los participantes hicieron un calentamiento inicial de tres minutos, caminando a una velocidad de 3,5 mph, con un ángulo de inclinación del 1 %. Posteriormente, la velocidad de la banda rodante se incrementó 0,5 mph por cada minuto transcurrido, hasta el agotamiento.

Se consideró una prueba máxima cuando:

- i. los participantes tenían una percepción subjetiva del esfuerzo mayor de 18, calificada según la escala de Borg en un nivel de 6 a 20;
- ii. se observó una meseta en el consumo de oxígeno a pesar de un incremento en el trabajo o un cociente respiratorio igual o superior a 1,15; y,
- iii. cuando los participantes llegaron a la máxima frecuencia cardíaca prevista.

### *Método sin ejercicio para estimar el consumo máximo de oxígeno*

Para la estimación del  $VO_2$  máx se utilizó la ecuación de regresión lineal múltiple, descrita por quienes desarrollaron el método NASA sin ejercicio, que incluye las siguientes variables: i) sexo; ii) edad; iii) índice de masa corporal; iv) frecuencia cardíaca en reposo; y v) el nivel de actividad física autorreportada (19) así:

$$MET=[\text{sexo} \times (2,77)-\text{edad} \times (0,10)-\text{IMC} \times (0,17)-\text{FCr} \times (0,03)+\text{CAF} \times (1,0)]+18,07$$

donde MET: tasa metabólica basal en equivalentes; sexo: 1 para hombres y 0 para mujeres; edad: en años; IMC: índice de masa corporal en  $\text{kg}/\text{m}^2$ ;

FCr: frecuencia cardíaca en reposo; CAF: coeficiente de actividad física autorreportada.

En este método de la NASA, se consideran niveles del 1 al 5: el nivel 1 es 0,0 (inactivo, escasa actividad diferente a la de la vida cotidiana); el nivel 2 es 0,32 (participa 5 o más veces por semana, al menos 10 minutos por sesión, en actividades físicas que ocasionan un ligero aumento en la frecuencia cardíaca y respiratoria); el nivel 3 es 1,06 (realiza ejercicio aeróbico, entre 20 y 60 minutos por semana a un ritmo confortable); el nivel 4 es 1,76 (realiza ejercicio aeróbico entre 1 y 3 horas por semana, a un ritmo confortable); y, el nivel 5 es 3,03 (realiza ejercicio aeróbico durante más de 3 horas por semana, a un ritmo confortable). El ejercicio aeróbico incluye caminar, trotar, correr, nadar, montar bicicleta, y practicar deportes vigorosos u otras actividades que requieran un esfuerzo similar.

Se midió la estatura con un tallímetro Seca 2013™ (Seca, Hamburgo, Alemania) y, la masa corporal, con una balanza Omron HBF-510LA™ (Omron Healthcare, Inc., Illinois, USA) con precisión de 0,1 kg.

El porcentaje de grasa corporal fue estimado con la ecuación de Jackson y Pollock (24,25). La frecuencia cardíaca fue medida después de un período de reposo de cinco minutos en posición de decúbito supino, con un pulsómetro Polar® RS800-CX™ (Polar, Kempele, Finlandia). El  $VO_2$  máx fue expresado en  $ml\ O_2 \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$  luego de multiplicar los equivalentes de la tasa metabólica basal (MET) por 3,5. La evaluación para determinar el  $VO_2$  máx estuvo a cargo de un médico especialista en medicina aplicada a la actividad física y al deporte.

### **Consideraciones éticas**

Se obtuvo el consentimiento informado de cada participante. Se promulgó el respeto, la justicia y la beneficencia a las personas, de acuerdo con las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud del Ministerio de Salud de Colombia en la Resolución 8430 de 1993 (26); además, se tuvieron en cuenta los principios de la declaración de Helsinki (27). El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia (Medellín, Colombia).

### **Análisis estadístico**

Se estimó un tamaño de la muestra de 100 individuos, teniendo en cuenta un coeficiente de correlación intraclass (*Intraclass Correlation Coefficient, ICC*) de 0,7; una amplitud de 0,1; una confianza del 95 % y dos mediciones (28).

Inicialmente, se hizo un análisis exploratorio de los datos, con el fin de evaluar la calidad de la información, los valores extremos y los perdidos. Se verificó el supuesto de normalidad mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se describieron las características sociodemográficas, antropométricas y clínicas, según el sexo. En las variables cuantitativas, se presentaron la media y la desviación estándar. Las variables cualitativas se representaron como frecuencias absolutas y relativas.

La concordancia absoluta, variabilidad, sesgo y precisión entre el  $VO_2$  máx medido por ergoespirometría y el  $VO_2$  máx estimado mediante el método sin ejercicio implementado por la NASA, se evaluaron utilizando el coeficiente de correlación de Pearson (*r*), ICC, coeficiente de variación (*CV*), raíz del error cuadrático medio (*RMSE*), diferencia de medias, desviación estándar

(DE) de las diferencias y análisis de Bland-Altman. Asimismo, por medio del método NASA sin ejercicio, se evaluaron la reproducibilidad, variabilidad y concordancia absoluta para dos estimaciones repetidas de  $\text{VO}_2\text{máx}$  en una submuestra, hechas con una semana de diferencia.

Se construyó un modelo de regresión lineal múltiple a partir de las variables independientes obtenidas del método sin ejercicio utilizado por la NASA, con el fin de determinar la varianza del  $\text{VO}_2\text{máx}$  obtenido mediante la ergoespirometría. Se calculó el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y el criterio de información de Akaike como indicador de la bondad de ajuste. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para establecer si, al menos, un coeficiente  $\beta$  era diferente de 0. De igual manera, se evaluaron la tolerancia y el factor de aumento de la varianza para determinar si existía colinealidad entre las variables independientes. Finalmente, se hizo un análisis residual para verificar el supuesto de normalidad de los datos (prueba de Shapiro-Wilk) y no autocorrelación (estadístico  $d$  de Durbin-Watson). Se estableció un nivel de significancia estadística  $\alpha=0,05$ . Para los análisis, se emplearon los programas IBM SPSS™ Statistics, versión 21.0 (IBM, New York, USA) y Epidate™, versión 4.0. (OPS, Consellería de Sanidade, Xunta de Galicia, España).

## Resultados

En el análisis se incluyeron 94 individuos sanos, con una edad media de  $30,54 \pm 9,33$  años; de estos, el 48,9 % fueron mujeres. El 38,2 % de los participantes se consideraron insuficientemente activos, el 3,2 % reportó consumo de tabaco, mientras que ninguno tenía un patrón excesivo de consumo de licor. La media del índice de masa corporal (IMC) en los hombres fue de  $25,79 \pm 3,34$   $\text{kg/m}^2$ , mientras que, en las mujeres, fue de  $24,97 \pm 4,65$   $\text{kg/m}^2$ . El porcentaje de grasa corporal fue mayor en las mujeres. Según los resultados observados de la frecuencia máxima cardíaca y el cociente respiratorio durante la ergoespirometría, las personas incluidas hicieron un esfuerzo máximo. En toda la muestra, la media del  $\text{VO}_2\text{máx}$  por ergoespirometría fue de  $41,29 \pm 9,54$   $\text{ml/kg/minuto}$ , mientras que el estimado por el método sin ejercicio de la NASA fue  $37,88 \pm 8,45$   $\text{ml/kg/minuto}$ . El  $\text{VO}_2\text{máx}$  fue un 22,6 % mayor en los hombres que en las mujeres (cuadro 1). Durante la ergoespirometría, no se presentaron eventos adversos, mayores ni menores.

### ***Validez de la estimación del $\text{VO}_2\text{máx}$ mediante el método sin ejercicio en comparación con el obtenido por ergoespirometría***

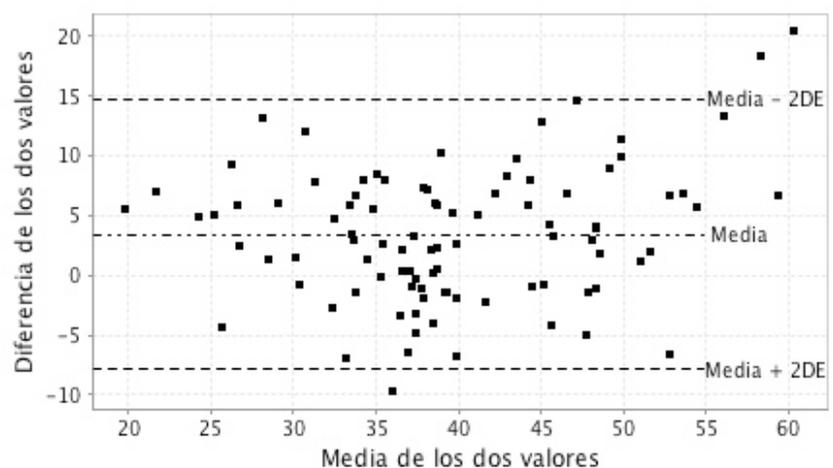
La exactitud, precisión, variabilidad y concordancia entre el  $\text{VO}_2\text{máx}$  medido por ergoespirometría y el estimado por el método NASA sin ejercicio, se muestran en el cuadro 2. Se encontró una diferencia de medias de  $\text{VO}_2\text{máx}$  entre la ergoespirometría y el método NASA sin ejercicio, de  $3,41 \pm 5,64$   $\text{ml O}_2/\text{kg/minuto}$ . La concordancia entre los dos métodos fue buena, con un coeficiente de correlación intraclase de 0,858 ( $\text{IC}_{95\%}$  0,672-0,926). En la figura 1, se representan los valores de las diferencias frente a la media del  $\text{VO}_2\text{máx}$  determinada por ambos métodos. Los límites de acuerdo entre las dos técnicas se ilustran mediante las dos líneas punteadas horizontales. Solo tres mediciones del  $\text{VO}_2\text{máx}$  se encuentran fuera de los límites de acuerdo, sin una tendencia obvia de las diferencias en los valores del  $\text{VO}_2\text{máx}$ . Finalmente, el porcentaje de error fue del 29,70 %.

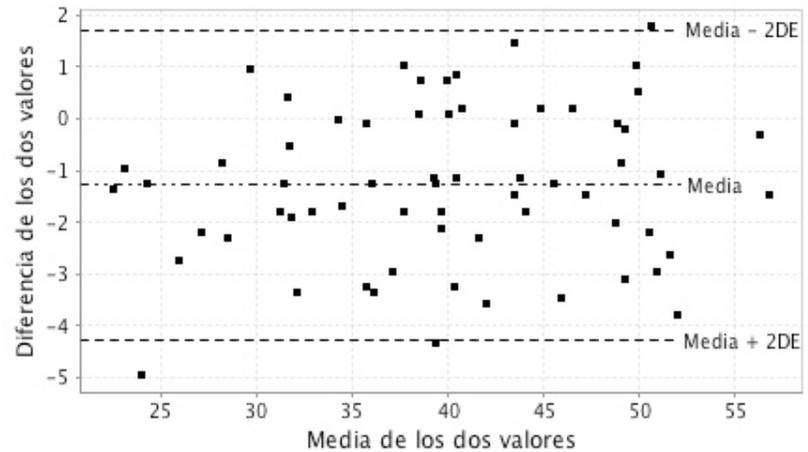
**Cuadro 1.** Características sociodemográficas, antropométricas y clínicas de los participantes incluidos en el estudio

Variable	Hombres (n = 48)	Mujeres (n = 46)
	Media ± DE	Media ± DE
Edad (años)	30,75 ± 10,46	30,33 ± 8,11
Masa corporal (kg)	77,43 ± 11,06	64,98 ± 13,51
Estatura (m)	1,73 ± 0,07	1,61 ± 0,54
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	25,79 ± 3,34	24,97 ± 4,65
Perímetro abdominal (cm)	89,57 ± 10,86	82,33 ± 12,57
Grasa corporal (%)	18,29 ± 7,75	29,16 ± 7,51
<b>Reposo</b>		
Frecuencia cardíaca (latidos/min)	69,29 ± 6,74	71,573 ± 5,6
Presión arterial sistólica (mm Hg)	122,65 ± 7,06	113,65 ± 9,2
Presión arterial diastólica (mm Hg)	73,46 ± 5,93	71,24 ± 5,53
<b>Ergoespirometría</b>		
Frecuencia máxima cardíaca (latidos/min)	186,71 ± 11,52	187,59 ± 9,75
Cociente respiratorio	1,15 ± 0,14	1,15 ± 0,06
Frecuencia cardíaca 1 min de recuperación (latidos/min)	163,69 ± 15,94	164,17 ± 13,20
Frecuencia cardíaca 5 min de recuperación (latidos/min)	121,00 ± 14,42	123,59 ± 15,87
VO <sub>2</sub> máx (ml O <sub>2</sub> /kg/min)	46,42 ± 9,73	35,94 ± 5,65
Equivalentes de tasa metabólica basal (MET)	13,26 ± 2,78	10,23 ± 1,62
<b>Método NASA</b>		
VO <sub>2</sub> máx (ml O <sub>2</sub> /kg/min)	42,86 ± 6,32	32,67 ± 7,18
Equivalentes de tasa metabólica basal (MET)	12,25 ± 1,80	9,33 ± 2,05

DE: desviación estándar; VO<sub>2</sub>máx: consumo máximo de oxígeno**Cuadro 2. (A)** Exactitud, precisión y concordancia de la estimación del consumo máximo de oxígeno mediante el método sin ejercicio en comparación con el consumo máximo de oxígeno medido por ergoespirometría, y **(B)** reproducibilidad de dos medidas repetidas del consumo máximo de oxígeno mediante el método sin ejercicio

Indicador	Validez	Reproducibilidad
	(A) Ergoespirometría Vs. método sin ejercicio	(B) Método sin ejercicio
Diferencia media (ml O <sub>2</sub> /kg/min)	3,41	-1,28
Desviación estándar de la diferencia (ml O <sub>2</sub> /kg/min)	5,64	1,50
Límites de acuerdo (ml O <sub>2</sub> /kg/min)	-7,88 a 14,71	-4,28 a 1,72
Porcentaje de error (%)	29,70	7,40
Coefficiente de variación (%)	22,30	20,60
Raíz del error cuadrático medio (L/min)	6,57	1,96
Coefficiente de correlación de Pearson	0,810	0,985
Coefficiente de correlación intraclass	0,858	0,986

**Figura 1.** Gráfico de Bland-Altman para evaluar la concordancia del consumo máximo de oxígeno medido por ergoespirometría y el estimado por el método sin ejercicio



**Figura 2.** Gráfico de Bland-Altman para evaluar la reproducibilidad del consumo máximo de oxígeno estimado por el método sin ejercicio.

### **Análisis de reproducibilidad de la estimación del $VO_{2\text{máx}}$ mediante el método sin ejercicio**

La reproducibilidad, variabilidad y concordancia para dos mediciones repetidas de los valores del  $VO_{2\text{máx}}$  obtenidos mediante el método sin ejercicio NASA, se muestran en el cuadro 2. La diferencia entre dos mediciones repetidas fue de  $-1,28 \pm 1,50$  ml  $O_2$ /kg/minuto. La concordancia entre las dos estimaciones muestra una reproducibilidad excelente con un coeficiente de correlación intraclase de 0,986 ( $IC_{95\%}$  0,927-0,995).

En la figura 2, se representan las diferencias entre las dos estimaciones repetidas frente a la media de las dos estimaciones del  $VO_{2\text{máx}}$ . La línea central muestra la diferencia media y las líneas punteadas representan los límites superior e inferior de los límites de acuerdo. Solo tres estimaciones del  $VO_{2\text{máx}}$  por el método sin ejercicio NASA aparecieron fuera de los límites de acuerdo.

### **Modelo de regresión lineal múltiple: varianza del $VO_{2\text{máx}}$ explicado por las variables independientes del método sin ejercicio**

El modelo de regresión lineal múltiple construido mostró un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0,712 y un criterio de información de Akaike de 355,1. El análisis de varianza (ANOVA) mostró que, al menos, un coeficiente  $\beta$  era diferente de 0 ( $F=40,1$ ;  $p<0,001$ ). La tolerancia ( $>0,1$ ) y el factor de aumento de la varianza ( $<2$ ) mostraron que no había colinealidad entre las variables independientes. El análisis residual mostró cumplimiento de los supuestos de normalidad (prueba de Shapiro-Wilk;  $z=-0,412$ ;  $p=0,659$ ) y no autocorrelación (estadístico de Durbin-Watson;  $d=2,27$ ). Los coeficientes  $\beta$  de la actividad física autorreportada, mostraron una relación entre dosis y respuesta desde el nivel 1 hasta el nivel 4 (cuadro 3).

### **Discusión**

Entre los principales hallazgos de este estudio, se encuentran: i) el método sin ejercicio NASA es válido y reproducible para estimar el  $VO_{2\text{máx}}$  en adultos universitarios; ii) el sexo, la edad, el índice de masa corporal, la frecuencia cardíaca en reposo y el nivel de actividad física autorreportada, utilizadas como variables independientes en el método sin ejercicio NASA, explican el 71,2 % de la variabilidad del  $VO_{2\text{máx}}$ ; y, iii) los coeficientes  $\beta$  originales del modelo de regresión lineal múltiple del método sin ejercicio NASA, son similares a los encontrados en nuestro estudio.

**Cuadro 3.** Modelo de regresión lineal múltiple que muestra la relación entre el consumo de oxígeno medido por ergoespirometría, y la edad, sexo, índice de masa corporal, frecuencia cardíaca en reposo y nivel de actividad física autorreportado

Variable dependiente (consumo máximo de oxígeno por ergoespirometría) (n=94)	$\beta$	t	p	Intervalo de confianza del 95 %	
(Constante)	17,87	9,56	<0,001	14,15	21,58
Sexo masculino	2,63	7,50	<0,001	1,94	3,34
Edad (años)	-0,09	-4,92	<0,001	-0,13	-0,05
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	-0,20	-4,67	<0,001	-0,28	-0,11
Frecuencia cardíaca en reposo (latidos/min)	-0,01	-0,49	0,622	-0,03	0,02
Actividad física autorreportado (referencia nivel 1)	0,44	0,76	0,448	-0,71	1,60
Nivel 2	1,00	2,12	0,037	0,06	1,94
Nivel 3	2,16	4,31	<0,001	1,16	3,16
Nivel 4	1,41	2,49	0,015	0,28	2,54
Nivel 5					

En el estudio original (19), los investigadores desarrollaron y validaron el método sin ejercicio, con el cual se logró estimar la condición física cardiorrespiratoria en individuos caucásicos americanos. En ese estudio, participaron hombres y mujeres entre los 20 y los 70 años que hacían parte de tres cohortes, incluyendo un grupo de empleados de la NASA; de ahí, la denominación del método. El objetivo de ese trabajo fue mejorar, por medio de herramientas simples, el abordaje tradicional para identificar individuos de alto riesgo y asintomáticos, que se beneficiarían de la prevención primaria intensiva.

De la misma forma que en nuestro estudio, los autores de dicho trabajo concluyeron que la condición física cardiorrespiratoria puede estimarse con razonable precisión por medio de un método sin ejercicio, evitando los altos costos y riesgos de la ergoespirometría. Además, encontraron que su modelo predictivo era menos válido en aquellos individuos con un alto nivel de actividad física, lo cual concuerda con nuestros hallazgos; particularmente, en nuestro modelo, el coeficiente  $\beta$  fue menor en la categoría 5 en comparación con la categoría 4 del nivel de actividad física autorreportada. Una posible interpretación de dichos resultados es la sobreestimación que hacen las personas cuando se les indaga por la actividad física que realizan.

En 2013, Sloan, *et al.* (22), hicieron una validación cruzada del método sin ejercicio de Jurca y Jackson (19) con adultos originarios de Singapur, con el fin de determinar la aplicabilidad de esta herramienta en población asiática, la cual presenta diferencias fisiológicas y genéticas, al compararla con individuos caucásicos americanos. Su objetivo secundario fue hacer una validación cruzada de la ecuación sin la frecuencia cardíaca en reposo, para adaptarla a circunstancias en las cuales no es fácil medirla (22). Así como lo detectaron Jurca y Jackson (19), y como lo reportado en nuestros resultados, la predicción fue menos válida en sujetos muy activos (que realizan más de 300 minutos por semana de actividad física de moderada intensidad), razón por la cual fueron excluidos del análisis.

Considerando otras aproximaciones para predecir la capacidad física cardiorrespiratoria, en el 2016, O'Donovan, *et al.*, publicaron un estudio (21). Los autores desarrollaron y validaron ecuaciones para estimar la capacidad física cardiorrespiratoria en 83 hombres blancos europeos y 85 provenientes del sudeste asiático, de edad media, todos residentes en Glasgow y el Reino Unido. Utilizaron variables como i) edad; ii) índice de masa corporal; iii) datos sobre consumo de tabaco; iv) frecuencia cardíaca en reposo registrada mediante electrocardiograma; v) nivel de actividad física medida con acelerómetro; y, vi) origen étnico. Evaluaron de forma objetiva la capacidad

física cardiorrespiratoria a partir de la ergoespirometría. Con los resultados obtenidos, indican la utilidad de las variables clínicas y fisiológicas para estimarla. A su vez, subrayan la importancia de incorporar el origen étnico en las ecuaciones con el método sin ejercicio.

En población universitaria también se han utilizado otras metodologías para estimar la capacidad física cardiorrespiratoria (29). George, *et al.*, realizaron un estudio transversal para validar un método sin ejercicio en el cual se incluyeron 100 estudiantes universitarios (50 % hombres) con edades entre 18 y 29 años (29). En este trabajo, utilizaron las siguientes variables independientes: i) actividad física autorreportada; ii) sexo; iii) IMC autorreportado; y, iv) capacidad funcional percibida. Es necesario resaltar que, aunque en esta ecuación no se incluye la frecuencia cardíaca en reposo, los autores reportaron un  $R^2$  similar al observado en el presente estudio (0,720) (29).

Una importante aplicación de los métodos sin ejercicio para estimar el  $VO_2$  máx, se da en el contexto de la evaluación y seguimiento de grandes poblaciones, con el fin de evaluar el pronóstico en términos de mortalidad (30). Stamatakis, *et al.* (20), adelantaron un estudio que incluyó más de 30.000 ingleses y escoceses, quienes participaron en ocho encuestas nacionales de salud. La ecuación propuesta por Jurca y Jackson se empleó para estimar la capacidad física cardiorrespiratoria, la cual mostró asociaciones coherentes con la 'mortalidad cardiovascular y por todas las causas'. Asimismo, se halló una buena capacidad de discriminación, y excelentes desempeños en la reclasificación del riesgo de los sujetos. Hallazgos similares son presentados en adultos mayores de 60 años por Song, *et al.* (31), quienes reportan que la estimación de la capacidad cardiorrespiratoria (sin una prueba de ejercicio), fue un predictor independiente de mortalidad. Sujetos en el cuartil inferior en cuanto a la capacidad cardiorrespiratoria tuvieron un riesgo 71 % mayor de 'mortalidad por todas las causas' (HR=1,71; IC<sub>95%</sub> 1,30-2,25), en comparación con sujetos en el cuartil superior.

En una investigación que incluyó 43.356 adultos con una mediana de seguimiento de 14,5 años (*The Aerobics Center Longitudinal Study*), Artero, *et al.* (32), encontraron que tanto la medición directa de la capacidad cardiorrespiratoria mediante ergoespirometría, como su estimación por un método sin ejercicio (ecuación), se asociaron de forma significativa e inversamente proporcional con el riesgo de mortalidad cardiovascular, eventos coronarios no fatales y mortalidad por todas las causas en hombres; y con la mortalidad por todas las causas y eventos coronarios no fatales, en las mujeres. Mejoras en un MET se relacionaron con reducciones del riesgo de hasta el 20 %.

Zhang, *et al.* (33), evaluaron la asociación entre la capacidad física cardiorrespiratoria y la mortalidad, en 12.834 personas con edades entre 20 y 86 años. La estimación se efectuó empleando ecuaciones para hombres y mujeres, con las variables: i) edad; ii) IMC al; iii) circunferencia de cintura; iv) frecuencia cardíaca en reposo; iv) nivel de actividad física autorreportada; y, v) tabaquismo. Se halló que por cada MET de incremento en la capacidad física cardiorrespiratoria, se redujo en el 18 % (rango, 15-21 %) el riesgo de 'mortalidad por todas las causas'. Los anteriores resultados demuestran la validez del pronóstico, así como la utilidad clínica y en salud pública que puede tener la estimación de dicha capacidad empleando métodos sin ejercicio.

El presente estudio presenta algunas fortalezas, que se pueden agrupar en tres aspectos. En primer lugar, es la validación de un método para estimar la capacidad cardiorrespiratoria sin ejercicio, de fácil obtención (bajo riesgo, costo y tiempo de adquisición), que integra variables sociodemográficas, fisiológicas y de autorreporte del nivel de actividad física; este abordaje supera las limitaciones de los cuestionarios tradicionales sobre la actividad física usados en estudios poblacionales. En segundo lugar, permite incluir personas con un amplio rango de edad, de ambos sexos y con diferentes niveles de capacidad cardiorrespiratoria, sedentarios y activos. En tercer lugar, es un protocolo diseñado por un equipo multidisciplinario, con el liderazgo de especialistas en medicina aplicada a la actividad física y al deporte, y epidemiólogos.

Por otra parte, este trabajo también presenta algunas limitaciones. Con el modelo utilizado, la frecuencia cardíaca en reposo no se asoció con la capacidad física cardiorrespiratoria, lo cual plantea cuestionamientos sobre la veracidad de esta medida, un hallazgo también reportado por otros autores (21,22,34,35). Esta situación podría deberse a la variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo en el consultorio médico. Además, otra limitación es la falta de una relación entre dosis y respuesta, entre la actividad física autorreportada y el  $VO_2$  máx, particularmente para el nivel 5, lo cual puede deberse a que las personas tienden a sobreestimar su actividad física.

Finalmente, la capacidad física cardiorrespiratoria es un factor predictor independiente de la mortalidad general y cardiovascular (5-7). Hay intervenciones fundamentadas en programas de ejercicio que incrementan esta capacidad física y disminuyen la morbimortalidad (1-4). Teniendo en cuenta la alta carga por enfermedades crónicas no transmisibles (36), es prioritario identificar y utilizar métodos de tamización válidos, seguros y sencillos, que permitan cuantificar la capacidad física cardiorrespiratoria, más allá de los factores de riesgo clásicos (3-7,37).

En investigaciones futuras, el interés debería centrarse en la evaluación de la validez de las estimaciones de dicha capacidad por métodos sin ejercicio en diferentes grupos poblacionales; de igual manera, deberían incorporar otras variables clínicas y fisiológicas de fácil medición. En una perspectiva avanzada, la capacidad física cardiorrespiratoria podría considerarse como un signo clínico vital para la vigilancia y para la implementación de acciones prioritarias en salud pública (6,7).

El método sin ejercicio NASA es válido y reproducible para estimar el  $VO_2$  máx en adultos universitarios; además, es seguro y de fácil aplicación. Se recomienda la estimación de la capacidad física cardiorrespiratoria para mejorar la tamización en los programas de riesgo cardiometabólico y para implementar intervenciones oportunas.

### **Agradecimientos**

Al Departamento de Bienestar Universitario de la Universidad de Antioquia, y a los estudiantes de pregrado o posgrado, profesores y empleados administrativos participantes en el estudio.

### **Referencias**

1. Fletcher GF, Landolfo C, Niebauer J, Ozemek C, Arena R, Lavie CJ. Promoting physical activity and exercise: JACC Health Promotion Series. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72:1622-39. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.08.2141>

2. Harber MP, Kaminsky LA, Arena R, Blair SN, Franklin BA, Myers J, *et al.* Impact of cardiorespiratory fitness on all-cause and disease-specific mortality: Advances since 2009. *Prog Cardiovasc Dis.* 2017;60:11-20. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2017.03.001>
3. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: An analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet.* 2012;380:219-29. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61031-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61031-9)
4. Heath GW, Parra DC, Sarmiento OL, Andersen LB, Owen N, Goenka S, *et al.* Evidence-based intervention in physical activity: Lessons from around the world. *Lancet.* 2012;380:272-81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60816-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60816-2)
5. Kodama S, Saito K, Tanaka S, Maki M, Yachi Y, Asumi M, *et al.* Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: A meta-analysis. *JAMA.* 2009;301:2024-35. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.681>
6. Ross R, Blair SN, Arena R, Church TS, Despres JP, Franklin BA, *et al.* Importance of assessing cardiorespiratory fitness in clinical practice: A case for fitness as a clinical vital sign: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2016;134:e653-99. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000461>
7. Raghuvveer G, Hartz J, Lubans DR, Takken T, Wiltz JL, Mietus-Snyder M, *et al.* Cardiorespiratory fitness in youth: An important marker of health: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2020;142:e101-18. <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000866>
8. Guthold R, Stevens GA, Riley LM, Bull FC. Worldwide trends in insufficient physical activity from 2001 to 2016: A pooled analysis of 358 population-based surveys with 1.9 million participants. *Lancet Glob Health.* 2018;6:e1077-86. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(18\)30357-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(18)30357-7)
9. Bull FC, Al-Ansari SS, Biddle S, Borodulin K, Buman MP, Cardon G, *et al.* World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med.* 2020;54:1451-62. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2020-102955>
10. Sui X, Sarzynski MA, Lee DC, Kokkinos PF. Impact of changes in cardiorespiratory fitness on hypertension, dyslipidemia and survival: An overview of the epidemiological evidence. *Prog Cardiovasc Dis.* 2017;60:56-66. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2017.02.006>
11. Kohl HW, 3rd, Craig CL, Lambert EV, Inoue S, Alkandari JR, Leetongin G, *et al.* The pandemic of physical inactivity: Global action for public health. *Lancet.* 2012;380:294-305. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60898-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60898-8)
12. Sartor F, Vernillo G, de Morree HM, Bonomi AG, La Torre A, Kubis HP, *et al.* Estimation of maximal oxygen uptake via submaximal exercise testing in sports, clinical, and home settings. *Sports Med.* 2013;43:865-73. <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0068-3>
13. World Health Organization. WHO STEPS Surveillance Manual: The WHO STEPwise approach to chronic disease risk factor surveillance. Geneva: WHO; 2005.
14. Booth M. Assessment of physical activity: An international perspective. *Res Q Exerc Sport.* 2000;71(Suppl.):S114-20.
15. Lee PH, Macfarlane DJ, Lam TH, Stewart SM. Validity of the International Physical Activity Questionnaire Short Form (IPAQ-SF): A systematic review. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2011;8:115. <https://doi.org/10.1186/1479-5868-8-115>
16. Minder CM, Shaya GE, Michos ED, Keenan TE, Blumenthal RS, Nasir K, *et al.* Relation between self-reported physical activity level, fitness, and cardiometabolic risk. *Am J Cardiol.* 2014;113:637-43. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2013.11.010>
17. Gademan MG, Hosper K, Deutekom M, Engelbert RH, Myers J, Stronks K. A poor association was found between self-reported physical activity and estimated maximal oxygen uptake of sedentary multiethnic women. *J Clin Epidemiol.* 2014;67:462-7. <https://doi.org/10.1016/j.jclinepi.2013.11.004>
18. Maranhao Neto Gde A, Lourenco PM, Farinatti Pde T. Prediction of aerobic fitness without stress testing and applicability to epidemiological studies: A systematic review. *Cad Saúde Pública.* 2004;20:48-56. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2004000100018>
19. Jurca R, Jackson AS, LaMonte MJ, Morrow JR Jr., Blair SN, Wareham NJ, *et al.* Assessing cardiorespiratory fitness without performing exercise testing. *Am J Prev Med.* 2005;29:185-93. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2005.06.004>
20. Stamatakis E, Hamer M, O'Donovan G, Batty GD, Kivimaki M. A non-exercise testing method for estimating cardiorespiratory fitness: Associations with all-cause and cardiovascular

- mortality in a pooled analysis of eight population-based cohorts. *Eur Heart J*. 2013;34:750-8. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs097>
21. O'Donovan G, Bakrania K, Ghouri N, Yates T, Gray LJ, Hamer M, *et al.* Nonexercise equations to estimate fitness in white European and South Asian men. *Med Sci Sports Exerc*. 2016;48:854-9. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000836>
  22. Sloan RA, Haaland BA, Leung C, Padmanabhan U, Koh HC, Zee A. Cross-validation of a non-exercise measure for cardiorespiratory fitness in Singaporean adults. *Singapore Med J*. 2013;54:576-80. <https://doi.org/10.11622/smedj.2013186>
  23. Nes BM, Vatten LJ, Nauman J, Janszky I, Wisloff U. A simple nonexercise model of cardiorespiratory fitness predicts long-term mortality. *Med Sci Sports Exerc*. 2014;46:1159-65. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000219>
  24. Jackson AS, Pollock ML. Generalized equations for predicting body density of men. *Br J Nutr*. 1978;40:497-504. <https://doi.org/10.1079/bjn19780152>
  25. Jackson AS, Pollock ML, Ward A. Generalized equations for predicting body density of women. *Med Sci Sports Exerc*. 1980;12:175-81.
  26. 26. Ministerio de Protección Social. Resolución 8430 de 1993. Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Bogotá, D.C.: Ministerio de Protección Social; 1993.
  27. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA*. 2013;310:2191-4. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
  28. Bonett DG. Sample size requirements for estimating intraclass correlations with desired precision. *Stat Med*. 2002;21:1331-5. <https://doi.org/10.1002/sim.1108>
  29. George JD, Stone WJ, Burkett LN. Non-exercise  $\text{VO}_2$  max estimation for physically active college students. *Med Sci Sports Exerc*. 1997;29:415-23. <https://doi.org/10.1097/00005768-199703000-00019>
  30. Qiu S, Cai X, Sun Z, Wu T, Schumann U. Is estimated cardiorespiratory fitness an effective predictor for cardiovascular and all-cause mortality? A meta-analysis. *Atherosclerosis*. 2021;330:22-8. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2021.06.904>
  31. Song M, Lee I, Kang H. Cardiorespiratory fitness without exercise testing can predict all-cause mortality risk in a representative sample of Korean older adults. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16. <https://doi.org/10.3390/ijerph16091633>
  32. Artero EG, Jackson AS, Sui X, Lee DC, O'Connor DP, Lavie CJ, *et al.* Longitudinal algorithms to estimate cardiorespiratory fitness: Associations with nonfatal cardiovascular disease and disease-specific mortality. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:2289-96. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.03.008>
  33. Zhang Y, Zhang J, Zhou J, Ernstsén L, Lavie CJ, Hooker SP, *et al.* Nonexercise estimated cardiorespiratory fitness and mortality due to all causes and cardiovascular disease: The NHANES III study. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes*. 2017;1:16-25. <https://doi.org/10.1016/j.mayocpiqo.2017.04.007>
  34. Jackson AS, Blair SN, Mahar MT, Wier LT, Ross RM, Stuteville JE. Prediction of functional aerobic capacity without exercise testing. *Med Sci Sports Exerc*. 1990;22:863-70. <https://doi.org/10.1249/00005768-199012000-00021>
  35. Bosquet L, Leger L, Legros P. Methods to determine aerobic endurance. *Sports Med*. 2002;32:675-700. <https://doi.org/10.2165/00007256-200232110-00002>
  36. GBD 2015 Disease and Injury Incidence and Prevalence Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388:1545-602. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31678-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31678-6)
  37. Gupta S, Rohatgi A, Ayers CR, Willis BL, Haskell WL, Khera A, *et al.* Cardiorespiratory fitness and classification of risk of cardiovascular disease mortality. *Circulation*. 2011;123:1377-83. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.003236>

Original article

## Analysis of *SOD1* and *C9orf72* mutations in patients with amyotrophic lateral sclerosis in Antioquia, Colombia

Jimena Jaramillo<sup>1</sup>, Juan M. Solano<sup>2</sup>, Alejandra Aristizábal<sup>2</sup>, Juliana Martínez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias y Biotecnología, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Grupo de Investigación en Enfermedades Neuromusculares, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introduction:** Amyotrophic lateral sclerosis is a neurodegenerative disease with a possible multifactorial origin characterized by the progressive degeneration of motor neurons. There is a relatively high prevalence of this disease in Antioquia; however, there is no published genetic study to date in Colombia. Despite its unknown etiopathogenesis, more genetic risk factors possibly involved in the development of this disease are constantly found.

**Objetives:** To evaluate G93A and D90A mutations in *SOD1* gene and a short tandem repeat in *C9orf72* within a cohort of amyotrophic lateral sclerosis patients from Antioquia, Colombia.

**Materials y methods:** Thirty-four patients previously diagnosed with amyotrophic lateral sclerosis were included in the study. Peripheral blood samples were used for DNA extraction and genotyping.

**Results:** No mutations were found in *SOD1* (G93A and D90A) in any of the patients, while *C9orf72* exhibited an allele with a statistically significant high prevalence in the study sample (8 hexanucleotide repeats of CAGCAG).

**Conclusions:** These results suggest an association between this short tandem repeat (STR) in *C9orf72* and the presence of amyotrophic lateral sclerosis in the studied population. However, this association should be established in a larger sample size and with controls from the same population. In addition, there also seems to be a genetic anticipation effect for the disease regarding this locus, since patients with this genotype present an earlier onset.

**Keywords:** amyotrophic lateral sclerosis/genetics; neurodegenerative disease; genes; mutations

### Análisis de mutaciones en los genes *SOD1* y *C9orf72* en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica, Antioquia, Colombia

**Introducción.** La esclerosis lateral amiotrófica es una enfermedad neurodegenerativa con un posible origen multifactorial, caracterizado por una degeneración progresiva de las neuronas motoras. Hay una gran prevalencia relativa de esta enfermedad en Antioquia; sin embargo, no hay publicaciones de estudios genéticos en Colombia. A pesar de su etiopatogénesis desconocida, hay varios factores de riesgo genético que se encuentran constantemente en el desarrollo de esta enfermedad.

**Objetivo.** Evaluar las mutaciones G93A y D90A del gen *SOD1* y una repetición corta en tándem (*Short Tandem Repeat*, STR) en el locus *C9orf72*, en una cohorte de pacientes con esclerosis lateral amiotrófica en Antioquia, Colombia.

**Materiales y métodos.** Se incluyeron 34 pacientes previamente diagnosticados en el estudio. Una muestra de sangre periférica se usó para extraer el ADN y, posteriormente, genotificarlo.

**Resultados.** No se encontraron mutaciones en el gen *SOD1* (G93A y D90A), mientras que el *C9orf72* exhibe un alelo con una significativa prevalencia en los pacientes del estudio (8 repeticiones del hexanucleótido G<sub>4</sub>C<sub>2</sub>).

**Conclusiones.** Se sugiere una asociación entre la repetición en tándem en *C9orf72* y la presencia de la esclerosis lateral amiotrófica en la población estudiada. Sin embargo, se sugiere hacer estudios adicionales e incluir un grupo control de la misma población. Además, se detecta un fenómeno de anticipación genética de la enfermedad, dado que los pacientes con el alelo de 8 repeticiones en *C9orf72* presentan una edad temprana de aparición de los síntomas.

**Palabras clave:** Esclerosis lateral amiotrófica/genética; enfermedades neurodegenerativas; genes; mutaciones

**Received:** 31/03/2022

**Accepted:** 20/09/2022

**Published:** 22/10/2022

#### Citation:

Jaramillo J, Solano JM, Aristizabal A, Martínez J. Analysis of *SOD1* and *C9orf72* mutations in patients with amyotrophic lateral sclerosis in Antioquia, Colombia. *Biomédica*. 2022;42:623-32. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6060>

#### Corresponding author:

Juliana Martínez, Calle 10A N° 22-04, Medellín, Colombia  
Teléfono: (574) 444 0555, extensión 1546  
jmartinezg@ces.edu.co

#### Author contributions:

Jimena Jaramillo: conceptualización, análisis de resultados, toma de muestras, análisis de laboratorio y escritura del artículo  
Juan M. Solano: conceptualización, diagnóstico, contacto con pacientes, toma de muestra y análisis de resultados  
Alejandra Aristizábal: diagnóstico, contacto con pacientes y toma de muestras  
Juliana Martínez: conceptualización, análisis de resultados, análisis de laboratorio, validación, supervisión y escritura  
Todos los autores participaron en la revisión del artículo.

#### Funding:

Financial funding was received from the *Dirección de Gestión del Conocimiento of Universidad CES* (project code INV032016008). Sponsors had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

#### Conflicts of interest:

The authors declare no conflict of interest.

Amyotrophic lateral sclerosis is a neurodegenerative disease characterized by the progressive death of motor neurons, producing muscular paralysis (1,2). Its clinical presentation is variable and depends on the anatomical site of onset and the type of motor neuron affected (3-5). There is no cure for amyotrophic lateral sclerosis and most of the patients die of respiratory failure 3 to 5 years after onset of symptoms (1,6). Amyotrophic lateral sclerosis etiology is not completely understood but, like other neurodegenerative diseases, it is thought to be the result of a complex interaction between multiple cellular mechanisms and environmental and genetic factors (7-9).

The genes with the strongest association to the development of both familiar and sporadic amyotrophic lateral sclerosis are *SOD1* and *C9orf72* (1,4,10). *SOD1* encodes the enzyme superoxide dismutase 1, responsible for the degradation of superoxide ions via reactions with zinc and copper ions (1,7,11), while *C9orf72* encodes a protein involved in both nuclear membrane transport and as a guanine nucleotide exchange factor that activates GTPases (5,12,13).

G93A and D90A mutations in *SOD1* cause oxidative stress and subsequent neuronal death (1,11,14). However, the most common genetic anomaly found in amyotrophic lateral sclerosis patients is a hexanucleotide sequence repetition or short tandem repeat (STR) in *C9orf72* gene, which explains 23.5 % of familial cases worldwide and up to 60 % in Spain (1,3,15). This *C9orf72* expansion causes a loss of the functional protein, progressively generating cellular death (5,12,13). Healthy individuals generally have a maximum of two repetitions (16), while a pathological form of the gene in amyotrophic lateral sclerosis patients typically has 20 or more hexanucleotide repetitions; however, the number of pathogenic repetitions varies depending on the population (17).

Amyotrophic lateral sclerosis incidence in Europe has been estimated at 2.8 cases per 100,000 people per year. While there is scarce data for Latin America, reports from some countries in the region suggest a range between 0.2 and 3.17 cases per 100,000 people per year. In Colombia, national reports propose its prevalence at 0.5 cases per 100,000 people (18), but in Antioquia (a state within Colombia), this prevalence is much higher, being reported as 4.9 cases per 100,000 people (19,20). Despite this, there are no published studies on genetics of amyotrophic lateral sclerosis in the country.

The population of Antioquia (Colombia) –due to historical processes of its foundation– may have up to 70% of an ancestral component of European origin; more precisely, from the Iberian peninsula (3,21,22). Additionally, Antioquia is considered a genetic isolate due to population bottlenecks and endogamy (23). Hence, this population and others with similar characteristics are recommended for the genetic analysis of complex diseases such as amyotrophic lateral sclerosis, since they tend to show lower etiologic heterogeneity (6,21). All of this could explain the relative high prevalence of this and other neurodegenerative diseases in Antioquia (19).

Knowing amyotrophic lateral sclerosis genetic traits provides advantages for the development of diagnostic and prognostic biomarkers with utility both in the clinical practice and in the development of therapeutic trials for this disease, so far incurable. To date there is no published genetic study of amyotrophic lateral sclerosis in Colombia. The purpose of this research was to evaluate the presence of D90A, G93A mutations in *SOD1* gene, as well as the hexanucleotide repetition in *C9orf72*, in amyotrophic lateral sclerosis patients in Antioquia (Colombia).

## Materials and methods

### Population sample

Patients found in the Neuromuscular Disorders Service at *Neuro Clínica IPS*, Medellín, Antioquia, who fulfilled the Escorial and Awaji-Shima diagnostic criteria (24), were included in the study. Only patients from Antioquia, diagnosed in 2017 and whose ancestors had been born in Antioquia, were included. Informed consent was obtained from all participants. This study was approved by the medical ethics committee of the *Universidad CES*.

### DNA extraction and genotyping

DNA was extracted from blood samples using Wizard Genomic DNA Purification Kit™ (Promega, USA), following manufacturer's instructions.

For the genotyping of *SOD1* variants, *D90A* and *G93A* (SNP tags *rs80265967*; *rs121912438*), positive and negative controls were used besides the samples to be evaluated. With the purpose of confirming the reproducibility of the genotypes obtained through the KASP-PCR methodology (performed by LGC Genomics Inc., USA), 10% of the data were repeated for blind evaluation. Conventional PCR was performed to genotype the *C9orf72* STR, using the set of primers (FAM 5'-CAAGGAGGGAAACAACCGCAGCC-3' and R 5'-GCAGGCACCGCAACCGCAG-3') and the methodology described by DeJesús-Hernández, *et al.*, (2011) (25). DNA amplification was confirmed through electrophoresis in 1% agarose gel stained with ethidium bromide. Alleles were resolved through capillary electrophoresis using an ABI PRISM 3130 Genetic Analyzer™ (IdentiGEN Laboratory, Colombia).

### Statistical analysis

Correlation between the amyotrophic lateral sclerosis status and allele variants was performed descriptively and mathematically using Fisher's exact test (26). Population genetic parameters, such as allele and genotype frequencies as well as Hardy-Weinberg equilibrium, were also calculated using Genepop, version 4.2 (GENEPOP, RRID:SCR\_009194) (27,28). The endogamy model was evaluated through a  $c^2$  test and the selection model through calculations for different selection coefficients. All of this was done considering that by having chosen individuals already diagnosed with amyotrophic lateral sclerosis, an artificial selection was exerted over the study sample.

## Results

Out of a total of 63 cases with confirmed diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis during that year, 34 patients, evaluated and followed during 2017, were included in the study. The sample size of this study represents 54% of amyotrophic lateral sclerosis cases diagnosed in 2017 in Antioquia, Colombia.

### Clinical characteristics

Approximately 32% of the patients presented with established disease of more than 5 years of duration. No patient had other family members with amyotrophic lateral sclerosis, although 26% reported a family history of other neurodegenerative diseases. In 19% of the cases, the disease began before 35 years of age.

Table 1 shows the characteristics of the patients classified by age ranges of onset of symptoms. Earlier ages of onset of symptoms correlated with

longer duration of the disease (coefficient correlation=-0.37) (p=0.03). Categorization by age group was done to show the difference between the age at onset of amyotrophic lateral sclerosis in the population of Antioquia and the usual age described in other populations (figure 1).

**Allele frequencies**

Regarding *SOD1* gene mutations G93A and D90A, all the evaluated patients presented the ancestral genotypes (GG and AA, respectively); thus, being monomorphic loci.

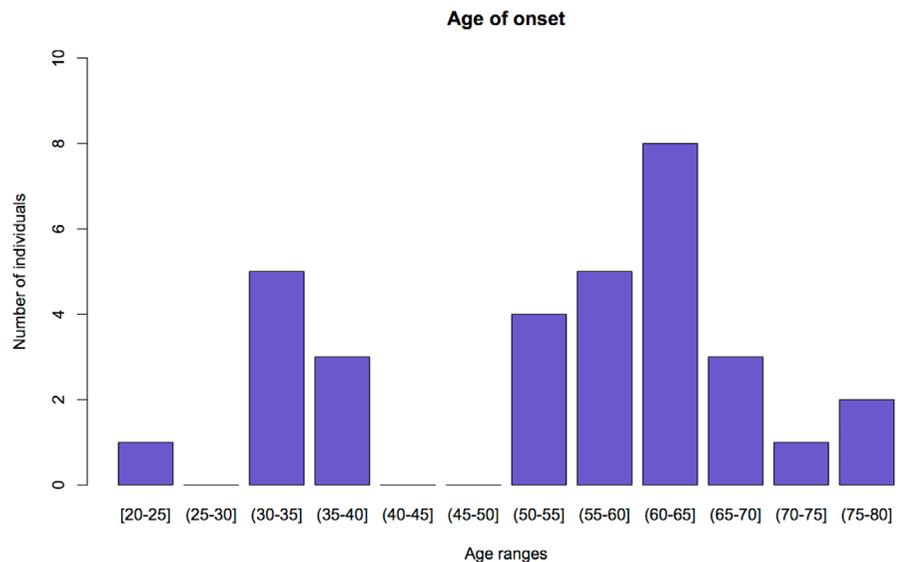
For the *C9orf72* gene, 6 different alleles were found in 33 analyzed samples (table 2). The allele of 8 repeats of the hexanucleotide expansion GGGGCC was found in 84.85% (28 of 33 people) of the samples from patients with amyotrophic lateral sclerosis (figure 2).

**Table 1.** Clinical characteristics of 32 amyotrophic lateral sclerosis patients grouped by age

Age of onset (years)	Number of patients	Spinal onset	Family history of NDD	Tobacco use	Exposure to substances*	Average disease duration (months)
20-35	6	4	1	0	3	78
36-50	3	3	1	0	1	77
51-65	17	13	5	13	6	52
66-80	6	2	2	2	2	34

NDD: Neurodegenerative diseases

\* Alcohol, cocaine derivatives, solvents and detergents

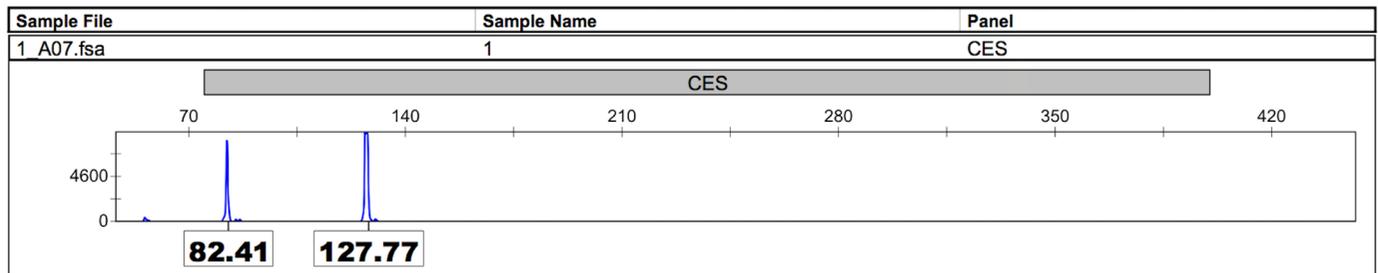


**Figure 1.** Age of onset and number of patients. The graph shows the distribution of patients according to the age at onset of ALS, presented as age ranges. The y-axis represents the number of patients and the x-axis represents age ranges. Figure done using R version 3.3.2 (R Project for Statistical Computing, RRID:SCR\_001905).

**Table 2.** *C9orf72* locus genotypes and number of repeats

Genotypes	Observed	Expected
(CAGCAG)1/(CAGCAG)8	12	8.12
(CAGCAG)8/(CAGCAG)8	16	14.55
(CAGCAG)11/(CAGCAG)12	1	0.02
(CAGCAG)13/(CAGCAG)13	3	0.32
(CAGCAG)13/(CAGCAG)14	1	0.11

GeneMapper ID v3.2



**Figure 2.** C9orf72 alleles. Capillary electrophoresis results, using an ABI PRISM genetic analyzer. Alleles are represented in the x-axis with relative fluorescence units (RFUs) shown in the y-axis. Alleles are identified with number of base pairs: Allele 1 (82.41pb); Allele 2 (127.77pb).

**Table 3.** Observed frequencies versus calculated model frequencies for each genotype

Genotype	Observed frequency	Expected frequency with S=0.9 and a dominant model for allele 2
(CAGCAG)1/(CAGCAG)8	0.3636	0.3195
(CAGCAG)8/(CAGCAG)8	0.4848	0.5858
(CAGCAG)11/(CAGCAG)12	0.0303	0.0001
(CAGCAG)13/(CAGCAG)13	0.0909	0.0015
(CAGCAG)13/(CAGCAG)14	0.0303	0.0004

The C9orf72 STR was not found to be in Hardy-Weinberg disequilibrium ( $p < 0.01$ ). SOD1 variants could not be evaluated with this parameters due to the finding of ancestral (no mutated) genotype in all the patients. Upon performing the calculations to evaluate the selection model against the genotypes not carrying allele of 8 repeats with different values of selection coefficient, it was found that when selection coefficient was 0.9 the genotype frequencies are similar to those observed in the data from the patients (table 3).

### Correlations between variables and the predominant genotype

Upon performing Fisher's exact test, it was found: i) that there is a greater frequency of genotypes with 8 repeats allele in patients below 65 years old ( $\chi^2=6.72$ ;  $p < 0.01$ ); ii) this genotype is more frequent in patients with spinal onset ( $\chi^2=8.90$ ;  $p < 0.01$ ); and iii) that there is no difference between its distribution and the disease duration ( $\chi^2=0.22$ ;  $p=0.64$ ).

### Discussion

This study evaluated the association between variants in SOD1 and C9orf72 and the occurrence of amyotrophic lateral sclerosis, finding the existence of an 8 repeat allele in the C9orf72 locus with a high frequency amongst amyotrophic lateral sclerosis cases in Antioquia, Colombia. All cases included in this study were sporadic amyotrophic lateral sclerosis diagnosed at young ages (< 65 years old) compared to the average of 65 years of age reported in other populations. None of the patients had a history of amyotrophic lateral sclerosis in their family. This is of remarkable importance since it is very likely that the genetic bases differ between familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis (29).

In this investigation we had 78.13% of patients whose age of disease onset was between 20 and 65 years of age (figure 1) and an average of  $54 \pm 15.23$  years which differs from what has been reported in the literature (65 years in other populations) (30). The duration of the disease in the study group was higher than that reported in global literature, which can be explained by a larger proportion of young patients. As it has been described, an earlier age at

onset of the symptoms relates to an increased life expectancy of the patients (31,32); this phenomenon was observed in this research.

Although environmental factors that explain the particularities of the group of patients must always be taken into account, it is possible that genetics has a crucial role. First, Antioquia is a genetic isolate that has experienced population bottlenecks and endogamy, which produce a reduced effect of etiologic heterogeneity and leads to an increase in the prevalence of hereditary or rare diseases (21,33). Additionally, the action of a phenomenon called genetic anticipation, which produces increased severity of a phenotype and/or reduces the onset time, can also be involved (34).

In general, this occurs when there is an expansion in DNA triplet repeats, as in the case of *C9orf72* marker (17). Also, hexanucleotide repeat elongation with variants in other amyotrophic lateral sclerosis causative genes are associated with an earlier age of onset, suggesting that both mutations affect this feature (35). Allele with 8 CAGCAG repeats present in either homozygous or heterozygous condition, was found in 88.46% of the patients, suggesting a dominant allele effect on the amyotrophic lateral sclerosis phenotype. This same gene has been previously associated with amyotrophic lateral sclerosis. It has been proposed that the *C9orf72* hexanucleotide repeat could be considered the cause of amyotrophic lateral sclerosis at around 20-25 repeats (25,36); however, in recent research studies it has been reported that the number of repeats considered pathologic varies according to the population (17,19,37).

Given the unusual reported genetic characteristics of the population of Antioquia, we do not rule out a phenotypic association between amyotrophic lateral sclerosis and a lower number of repeats than the one reported for the *C9orf72* gene, or the possibility of this allele to be a risk factor for the disease. For this reason, it is necessary to complement the current study with a control population. This will allow to determine the distribution of alleles in the general population and confirm that the registered observations are not due to chance alone.

Despite that mutations G93A and D90A of the *SOD1* gene were expected to be found, they were not present in any of the patients of the studied sample. Possible hypotheses that could explain this phenomenon are: i) that migration of these mutations to this population is scarce or non-existent; or ii) that the mutations are expressing a different phenotype due to additional genetic and environmental factors (3,4,22).

Given that the *C9orf72* locus was, of the three studied in the diagnosed patients, the polymorphism related to amyotrophic lateral sclerosis in Antioquia, corresponding analyses were performed. It was found that the data do not fit the Hardy-Weinberg equilibrium model (table 3), which could be indicative of a direct association with amyotrophic lateral sclerosis (38,39). It is known that when an allele/genotype is associated to a phenotype this one can be augmented (risk) or diminished (protection) causing a deviation from the model, as shown in our research (40).

However, there are multiple causes for which a population may be out of Hardy-Weinberg equilibrium, such as selection, endogamy, genetic flux or genotyping errors (39,40). However, several of them can be ruled out by the use of experimental controls and by the differences between observed and expected heterozygotes, which were not significant in our data. With these alleles, 21 possible combinations could have been generated, but only 5 were

found in the study population. This suggests a selection effect that was done with the samples (previously diagnosed patients) reinforcing the possibility of an association between this loci and the occurrence of amyotrophic lateral sclerosis.

Furthermore, *C9orf72* allele with 8 CAGCAG repeats was most commonly observed in patients below 65 years old than in their older counterparts (>65 years old), supporting the effect of genetic anticipation in this population.

In our sample, patients with this allele were more likely to have an spinal onset. This predominance of spinal over bulbar amyotrophic lateral sclerosis in our cohort can be explained by the small sample size, since in other international reports this variant has been associated with both spinal and bulbar amyotrophic lateral sclerosis (16). The number of hexanucleotide repeats in *C9orf72* that has been considered pathologic or as the cause of amyotrophic lateral sclerosis is of 20-25 (25,36).

In our study, the allele candidate for being related to the disease has only 8 repeats. While this variant has not been associated previously with amyotrophic lateral sclerosis cases, the relationship of the disease with the number of repeats is highly variable between different populations, lacking a definitive correlation between a specific number and the pathology (37). Analyses of common causal variants in different populations are important in pathophysiology investigation of amyotrophic lateral sclerosis in each population would have valuable implications (41,42).

This, along with the complete absence of G93A and D90A mutations of *SOD1* in the patients, is an unexpected and relevant finding about amyotrophic lateral sclerosis genetics, its physiopathology and other neurodegenerative conditions. It is therefore necessary to confirm whether this genotype of 8 repeats in *C9orf72* is pathologic in our population and to determine its importance as a diagnostic biomarker or as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis, as it is currently being done in other populations (43-45).

It is also relevant to define the influence of homozygosity or heterozygosity of these repetitions as a disease risk factor. Considering the significance of these findings for amyotrophic lateral sclerosis genetics and their clinical implications, it is necessary to carry out further studies to confirm the hypotheses we have presented.

### Acknowledgements

We thank *Universidad CES* for its support in the realization of this work; Andrés Pareja López, Nicolás González Castro and Pablo Andrés Guzmán for their comments on the manuscript; Adriana Monsalve and Eliana Giraldo for their help in the collection of the samples. We also thank *Neuro Clínica IPS* in Medellín for their willingness to review clinical records and for cooperation for clinical evaluations and patient recruitment.

We thank the non-for-profit organization Huitaca ([www.projecthuitaca.org](http://www.projecthuitaca.org)) for providing English editing services to the final draft of this manuscript. Finally, we thank all the patients who voluntarily participated and allowed this study to be carried out.

### References

1. Yamashita S, Ando Y. Genotype-phenotype relationship in hereditary amyotrophic lateral sclerosis. *Transl Neurodegener.* 2015;4:13. <https://doi.org/10.1186/s40035-015-0036-y>

2. Turner MR, Verstraete E. What does imaging reveal about the pathology of amyotrophic lateral sclerosis? *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2015;15:45. <https://doi.org/10.1007/s11910-015-0569-6>
3. Hamosh A. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), a knowledge base of human genes and genetic disorders. *Nucleic Acids Res.* 2004;33:D514-7. <https://doi.org/10.1093/nar/gki033>
4. Yu W, Gwinn M, Clyne M, Yesupriya A, Khoury MJ. A navigator for human genome epidemiology. *Nat Genet.* 2008;40:124-5. <https://doi.org/10.1038/ng0208-124>
5. Rohrer JD, Isaacs AM, Mizielinska S, Mead S, Lashley T, Wray S, *et al.* *C9orf72* expansions in frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet Neurol.* 2015;14:291-301. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(14\)70233-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(14)70233-9)
6. Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet J. Rare Dis.* 2009;4:3. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-4-3>
7. Ajroud-Driss S, Siddique T. Sporadic and hereditary amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *BBA -Mol Basis of Dis.* 2015;1852:679-84. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.08.010>
8. De Jong SW, Huisman MHB, Sutudja NA, van der Kooij AJ, de Visser M, Schelhaas HJ, *et al.* Smoking, alcohol consumption, and the risk of amyotrophic lateral sclerosis: A population-based study. *Am J Epidemiol.* 2012;176:233-9. <https://doi.org/10.1093/aje/kws015>
9. Saez-Atienzar S, Bandres-Ciga S, Langston RG, Kim JJ, Choi SW, Reynolds RH, *et al.* Genetic analysis of amyotrophic lateral sclerosis identifies contributing pathways and cell types. *Sci Adv.* 2021;7:eabd9036. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abd9036>
10. Özoğuz A, Uyan Ö, Birdal G, Iskender C, Kartal E, Lahut S, *et al.* The distinct genetic pattern of ALS in Turkey and novel mutations. *Neurobiol Aging.* 2015;36:1764.e9-1764.e18. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.12.032>
11. Bertolin C, D'Ascenzo C, Querin G, Gaiani A, Boaretto F, Salvoro C, *et al.* Improving the knowledge of amyotrophic lateral sclerosis genetics: Novel *SOD1* and *FUS* variants. *Neurobiol Aging.* 2014;35:1212. <http://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.10.093>
12. Byrne S, Elamin M, Bede P, Shatunov A, Walsh C, Corr B, *et al.* Cognitive and clinical characteristics of patients with amyotrophic lateral sclerosis carrying a *C9orf72* repeat expansion: A population-based cohort study. *Lancet Neurol.* 2012;11:232-40. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(12\)70014-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(12)70014-5)
13. Ugolino J, Ji YJ, Conchina K, Chu J, Nirujogi RS, Pandey A, *et al.* Loss of *C9orf72* enhances autophagic activity via deregulated mTOR and TFEB signaling. *PLOS Genet.* 2016;12:e1006443. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006443>
14. Isobe T, Tooi N, Nakatsuji N, Aiba K. Amyotrophic lateral sclerosis models derived from human embryonic stem cells with different superoxide dismutase 1 mutations exhibit differential drug responses. *Stem Cell Res.* 2015;15:459-68. <https://doi.org/10.1016/j.scr.2015.09.006>
15. Mancuso R, Navarro X. Amyotrophic lateral sclerosis: Current perspectives from basic research to the clinic. *Prog Neurobiol.* 2015;133:1-26. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.07.004>
16. Renton AE, Majounie E, Waite A, Simón-Sánchez J, Rollinson S, Gibbs JR, *et al.* A hexanucleotide repeat expansion in *C9orf72* is the cause of chromosome 9p21-Linked ALS-FTD. *Neuron.* 2011;72:257-68. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.010>
17. Ng ASL, Tan EK. Intermediate *C9orf72* alleles in neurological disorders: Does size really matter? *J Med Genet.* 2017;54:591-7. <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2017-104752>
18. Ospina ML, Prieto FE, Pachecho O, Quijano H, Lozano N, Gomez S, *et al.* Boletín epidemiológico semana 5. 2019. Fecha de consulta: 4 de febrero de 2021. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019%20Bolet%20C3%ADn%20epidemiol%20C3%B3gico%20semana%205.pdf>
19. Zapata-Zapata C, Franco-Dáger E, Solano-Atehortúa J, Ahunca-Velásquez L. Esclerosis lateral amiotrófica: actualización. *IATREIA.* 2016;29:194-205. <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.v29n2a08>
20. Zapata-Zapata CH, Dáger EF, Aguirre-Acevedo DC, de Carvalho M, Solano-Atehortúa J. Prevalence, incidence, and clinical-epidemiological characterization of amyotrophic lateral sclerosis in Antioquia: Colombia. *Neuroepidemiology.* 2020;54:251-8. <https://doi.org/10.1159/000504549>

21. Nikali K, Vanegas JJ, Burley MW, Martínez J, López LM, Bedoya G, *et al.* Extensive founder effect for distal renal tubular acidosis (dRTA) with sensorineural deafness in an isolated South American population. *Am J Med Genet.* 2008;146A:2709-12. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.32495>
22. Carvajal-Carmona LG, Soto ID, Pineda N, Ortiz-Barrientos D, Duque C, Ospina-Duque J, *et al.* Strong amerind/white sex bias and a possible sephardic contribution among the founders of a population in Northwest Colombia. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1287-95. [https://doi.org/10.1016/s0002-9297\(07\)62956-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9297(07)62956-5)
23. Arcos-Burgos M, Muenke M. Genetics of population isolates. *Clin Genet.* 2002;61:233-47. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0004.2002.610401.x>
24. De Carvalho M, Dengler R, Eisen A, England JD, Kaji R, Kimura J, *et al.* Electrodiagnostic criteria for diagnosis of ALS. *Clin Neurophysiol.* 2008;119:497-503. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2007.09.143>
25. DeJesús-Hernández M, Mackenzie IR, Boeve BF, Boxer AL, Baker M, Rutherford NJ, *et al.* Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9orf72 causes chromosome 9p-Linked FTD and ALS. *Neuron.* 2011;72:245-56. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.09.011>
26. Martín Andrés A. Entry Fisher's exact and Barnard's tests. In: Kotz S, Johnson NL, Read CB, editors. *Encyclopedia of Statistical Sciences.* New York, NY: Wiley-Interscience; 1998. p. 250-8. <https://doi.org/10.1002/0471667196.ess0642.pub2>
27. Rousset F. genepop'007: A complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Mol Ecol Resour.* 2008;8:103-6. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01931.x>
28. Raymond M, Rousset F. GENEPOP (Version 1.2): Population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Hered.* 1995;86:248-9. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111573>
29. Couthouis J, Raphael AR, Daneshjou R, Gitler AD. Targeted exon capture and sequencing in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *PLoS Genet.* 2014;10:e1004704. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004704>
30. Marin B, Boumédiène F, Logroscino G, Couratier P, Babron MC, Leutenegger AL, *et al.* Variation in worldwide incidence of amyotrophic lateral sclerosis: A meta-analysis. *Int J Epidemiol.* 2017;46:57-74. <https://doi.org/10.1093/ije/dyw061>
31. Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, Swingler R, Mitchell D, Beghi E, *et al.* Prognostic factors in ALS: A critical review. *Amyotroph Lateral Scler.* 2009;10:310-23. <https://doi.org/10.3109/17482960802566824>
32. Logroscino G, Piccininni M. Amyotrophic lateral sclerosis descriptive epidemiology: The Origin of geographic difference. *Neuroepidemiology.* 2019;52:93-103. <https://doi.org/10.1159/000493386>
33. Carvajal-Carmona LG, Ophoff R, Service S, Hartiala J, Molina J, León P, *et al.* Genetic demography of Antioquia (Colombia) and the Central Valley of Costa Rica. *Hum Genet.* 2003;112:534-41. <https://doi.org/10.1007/s00439-002-0899-8>
34. Chiurazzi P, Oostra BA. Expanding Mutations/Genetic Anticipation. *Encyclopedia of Life Sciences.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.; 2006. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0001463>
35. Suzuki N, Nishiyama A, Warita H, Aoki M. Genetics of amyotrophic lateral sclerosis: Seeking therapeutic targets in the era of gene therapy. *J Hum Genet.* 2022. <https://doi.org/10.1038/s10038-022-01055-8>
36. Byrne S, Heverin M, Elamin M, Walsh C, Hardiman O. Intermediate repeat expansion length in C9orf72 may be pathological in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 2014;15:148-50. <https://doi.org/10.3109/21678421.2013.838586>
37. Yang Q, Jiao B, Shen L. The development of C9orf72-related amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia disorders. *Front Genet.* 2020. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.562758>
38. Mitteroecker P, Cheverud JM, Pavlicev M. Multivariate analysis of genotype-phenotype association. *Genet.* 2016;202:1345-63. <https://doi.org/10.1534/genetics.115.181339>

39. Namipashaki A, Razaghi-Moghadam Z, Ansari-Pour N. The essentiality of reporting hardy-weinberg equilibrium calculations in population-based genetic association studies. *Cell J.* 2015;17:187-92. <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.3711>
40. Hedrick PW. *Genetics of populations.* 4th edition. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers; 2011. p. 65-109.
41. Nakamura R, Misawa K, Tohnai G, Nakatochi M, Furuhashi S, Atsuta N, *et al.* A multi-ethnic meta-analysis identifies novel genes, including ACSL5, associated with amyotrophic lateral sclerosis. *Commun Biol.* 2020;3:526. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01251-2>
42. Mesaros M, Lenz S, Lim W, Brown J, Drury L, Roggenbuck J. Investigating the genetic profile of the amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia (ALS-FTD) continuum in patients of diverse race, ethnicity and ancestry. *Genes (Basel).* 2021;13:76. <https://doi.org/10.3390/genes13010076>
43. Štětkářová I, Ehler E. Diagnostics of amyotrophic lateral sclerosis: Up to date. *Diagnostics (Basel).* 2021;11:231. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020231>
44. Huang F, Zhu Y, Hsiao-Nakamoto J, Tang X, Dugas JC, Moscovitch-Lopatin M, *et al.* Longitudinal biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7:1103-16. <https://doi.org/10.1002/acn3.51078>
45. Álvarez-Fernández A, Bernal MJ, Fradejas I, Martín Ramírez A, Md Yusuf NA, Lanza M, *et al.* KASP: A genotyping method to rapid identification of resistance in *Plasmodium falciparum*. *Malar J.* 2021;20:16. <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03544-7>

Artículo original

## Circulación de *Leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi* en perros domésticos de áreas urbanas de Sincelejo, región Caribe de Colombia

Karol Liseth Rueda-Concha<sup>1</sup>, Ana Payares-Mercado<sup>1</sup>, Jesús Guerra-Castillo<sup>1</sup>, Jesús Melendrez<sup>1</sup>, Yasmit Arroyo-Munive<sup>2</sup>, Lily Martínez-Abad<sup>1</sup>, Suljei Cochero<sup>1</sup>, Eduar Elías Bejarano<sup>1</sup>, Luis Enrique Paternina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo Investigaciones Biomédicas, Universidad de Sucre, Sincelejo, Colombia

<sup>2</sup> Clínica Veterinaria Mascotas, Sincelejo, Colombia

**Recibido:** 19/11/2021

**Aceptado:** 08/10/2022

**Publicado:** 29/10/2022

### Citación:

Rueda-Concha KL, Payares-Mercado A, Guerra-Castillo J, Melendrez J, Arroyo-Munive Y, Martínez-Abad L, et al. Circulación de *Leishmania infantum* y *Trypanosoma cruzi* en perros domésticos de áreas urbanas de Sincelejo, región Caribe de Colombia. Biomédica. 2022;42:633-49.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6369>

### Correspondencia:

Luis E. Paternina, Carrera 14 N° 16B-32, Barrio La Pajuela, Sincelejo, Sucre  
Teléfono: (+575) 282 0830  
lepaterninat@gmail.com

### Contribución de los autores:

Karol Liseth Rueda-Concha: pruebas moleculares de detección, RFLP, secuenciación de ADN, análisis de datos y redacción del manuscrito  
Ana Payares-Mercado, Jesús Guerra-Castillo y Jesús Melendrez: recolección de las muestras, extracción de ADN y tamizaje molecular inicial de los agentes infecciosos  
Yasmit Arroyo-Munive: recolección de las muestras, valoración clínica de los perros, y manejo y tratamiento de los casos  
Lily Martínez-Abad y Suljei Cochero: logística en campo y laboratorio, y redacción del manuscrito  
Eduar Elías Bejarano: apoyo logístico, supervisión en el laboratorio, financiación del proyecto y redacción del manuscrito  
Luis Enrique Paternina: diseño del estudio y de las estrategias moleculares implementadas, estandarización y supervisión de las pruebas moleculares, análisis genéticos y redacción del manuscrito

### Financiación:

Karol Liseth Rueda-Concha agradece a la Universidad de Sucre por la financiación de sus estudios de maestría por medio de la "Beca Posgradual"; y por la financiación parcial del trabajo mediante el programa de Estímulos Institucional a Grupos de Investigación. Luis Enrique Paternina agradece al Fondo Francisco José de Caldas de MinCiencias por su apoyo por medio del programa de Estancias Postdoctorales Nacionales mediante el convenio 268-2018.

### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en este trabajo.

**Introducción.** La enfermedad de Chagas y la leishmaniasis tradicionalmente se han considerado zoonosis endémicas de áreas rurales del país. Sin embargo, la aparición de casos de estas enfermedades en áreas urbanas sugiere nuevos ciclos de circulación de estos parásitos. Por esta razón, se ha propuesto a los perros como centinelas de estos agentes zoonóticos, dado su rol como huéspedes accidentales o reservorios.

**Objetivo.** Evaluar la circulación silenciosa de *Leishmania* spp. y *Trypanosoma cruzi* en perros de zonas urbanas de la ciudad de Sincelejo, Sucre.

**Materiales y métodos.** Se analizaron 100 muestras de sangre de perros para amplificar la región ITS1 de *Leishmania* spp. Las muestras positivas se utilizaron para amplificar la región conservada del minicírculo del ADN del cinetoplasto de *Leishmania infantum* y para el análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción con la endonucleasa HaeIII. Por otra parte, se amplificó un fragmento del ADN satelital de *T. cruzi*. Además, se evaluó la presencia de infecciones por *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, como potencialmente modificadoras de las manifestaciones clínicas.

**Resultados.** De los 100 perros estudiados, se detectó: *Leishmania* spp. en 32, *T. cruzi* en 12, ambos parásitos en 7 y *L. infantum* en 18. Se encontraron infecciones por anaplasmatáceos en 18, y coinfecciones por bacterias y parásitos en 8 de los perros. En general, 47 de los animales estaban infectados por, al menos, un agente etiológico.

**Conclusión.** Se demuestra la circulación de *L. infantum* y *T. cruzi* en zonas urbanas de Sincelejo, así como coinfecciones de estos parásitos junto con parásitos de la familia Anaplasmataceae. El presente estudio demuestra la conveniencia del uso de perros en la vigilancia epidemiológica de estos agentes zoonóticos.

**Palabras clave:** *Leishmania infantum*; *Trypanosoma cruzi*; zoonosis; urbanización; Colombia

### Silent circulation of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi* among urban dogs from Sincelejo city, Caribbean region of Colombia

**Introduction:** *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi* are considered endemic zoonotic agents in rural areas of the country; however, there is a high risk of urbanization due to anthropogenic processes. For this reason, dogs have been proposed as sentinels of these zoonoses given their role as patients, hosts and/or reservoirs.

**Objective:** To assess the silent circulation of *Leishmania* spp. and *T. cruzi* parasites in canines from urban areas of Sincelejo, Sucre.

**Materials and methods:** One hundred canine blood samples were used to amplify the ITS1 region of *Leishmania* spp. Positive samples were used to amplify the conserved region of the kinetoplast DNA minicircle of *L. infantum* and for restriction fragment length polymorphism analysis with HaeIII endonuclease. In addition, a satellite DNA of *T. cruzi* was amplified. Also, the presence of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* was evaluated as infections that can influence clinical symptoms and health of animals.

**Results:** *Leishmania* spp. was detected in 32% (32/100) and *T. cruzi* in 12% (12/100) of the animals, and 7% (7/100) of the samples were positive for both parasites. Also, *L. infantum* and infections with Anaplasmataceae family parasites were both detected in 18% (18/100) of the samples. In the same way, co-infections with bacteria and parasites were found in 8% (8/100) of the animals. Overall, 47% (47/100) of the animals were infected with at least one agent.

**Conclusion:** The circulation of *L. infantum* and *T. cruzi*, as well as co-infections of pathogens of the Anaplasmataceae family, is demonstrated in urban areas of Sincelejo. The present study demonstrates the convenience of canines as epidemiological surveillance sentinels of these zoonotic agents.

**Keywords:** *Leishmania infantum*, *Trypanosoma cruzi*, zoonoses, urbanization, Colombia

Las zoonosis representan un gran porcentaje de todas las enfermedades infecciosas recientemente identificadas, así como de muchas de las ya existentes. Se estima que, aproximadamente, el 61 % de todos los agentes patógenos humanos conocidos son zoonóticos, lo que corresponde a cerca del 75 % de todos los patógenos emergentes durante la última década, y es un problema serio en salud pública humana y veterinaria (1).

Entre estas zoonosis, se encuentran la leishmaniasis y la tripanosomiasis americana, conocida también como la enfermedad de Chagas; ambas enfermedades son transmitidas por vectores y causadas por protozoarios parásitos pertenecientes a la familia Trypanosomatidae (2). Estas parasitosis se consideran problemas graves de salud pública porque representan un riesgo potencialmente mortal, si no se diagnostican y tratan a tiempo (3,4).

La enfermedad de Chagas es causada por la infección con el parásito *Trypanosoma cruzi*, que afecta entre 6 y 7 millones de personas, principalmente en Latinoamérica, incluyendo a Colombia (3,5). Entre el 2008 y el 2019, se han registrado 21 brotes por transmisión oral en los departamentos de Santander, Casanare, Cesar, Meta, Bolívar, Antioquia y, últimamente, en otros departamentos como Chocó, Atlántico y Sucre (6). Los brotes de enfermedad de Chagas ocurridos por transmisión oral han aumentado la tasa de letalidad a 7,9 %, valor que está por encima de otras enfermedades transmitidas por vectores de relevancia en el país, como fiebre por dengue y malaria (7).

Por otra parte, la leishmaniasis es causada por diferentes especies del género *Leishmania* que pueden provocar compromiso cutáneo, mucoso o visceral; infortunadamente este último, la leishmaniasis visceral, suele presentarse en niños de zonas donde la enfermedad es endémica. Esta forma clínica es causada por el parásito *Leishmania infantum* y suele ser letal si no se trata a tiempo (8).

En Colombia, al final del año 2019, se registraron 237 casos de enfermedad de Chagas y 4.962 casos de leishmaniasis, para un total de 5.199 casos en conjunto. De estos casos, 555 se registraron en los departamentos de la región Caribe de Colombia, distribuidos así: la enfermedad de Chagas en Atlántico, Cesar y Sucre, y la leishmaniasis en Bolívar, Córdoba, Guajira, Magdalena, Sucre, Atlántico, Barranquilla y Cesar, y en las ciudades de Santa Marta y Cartagena (6).

En términos cuantitativos, se puede considerar una contribución moderada (10,67 % del total de casos reportados); sin embargo, es necesario mencionar que casi todos los casos de leishmaniasis visceral (cuadro muy letal) en el país se presentan en el núcleo de los departamentos de Córdoba, Sucre y Bolívar (9). Estos dos últimos componen el foco mixto de leishmaniasis de los Montes de María.

Tanto la enfermedad de Chagas como la leishmaniasis se han considerado zoonosis endémicas de áreas rurales del país. Sin embargo, desde hace algunos años, se han reportado numerosos hallazgos de parásitos en insectos vectores (flebotomíneos, como *Lutzomyia evansi*, *L. panamensis* y *L. gomezi*, y triatominos, como *Panstrongylus geniculatus*) en animales sinantrópicos (*Mus musculus* y *Rattus rattus*) y algunos casos de enfermedad de Chagas en zonas urbanas, principalmente en la región Caribe (Sincelejo, Ovejas y Cartagena) (10-17). (Romero-Ricardo LR, Martínez L, Pérez-Doria A, Bejarano EE. Infección natural de *Panstrongylus geniculatus*

con *Trypanosoma cruzi* en el área urbana de Sincelejo, Sucre. XVI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical. 2015-10-20) Estos hallazgos indican la circulación de ambos parásitos tripanosomatídeos en zonas urbanas de esta región.

En el estudio de ambas enfermedades en Latinoamérica, los perros se han utilizados exitosamente para revelar la circulación de *T. cruzi* y *Leishmania* spp. en áreas endémicas que son principalmente rurales. Esto se debe a que los perros se consideran huéspedes importantes de *T. cruzi* en países como Argentina, Venezuela, Panamá, Costa Rica y Colombia, entre otros; además, han sido incriminados como el principal reservorio de *L. infantum* (agente causal de leishmaniasis visceral en América) y se han encontrados infectados con otras especies de *Trypanosoma* (2,13,14,18-21).

Debido al papel que pueden desempeñar los perros, ya sea como reservorios, huéspedes accidentales o como centinelas de la transmisión de estos agentes zoonóticos, por su cercanía con las poblaciones humanas y por su constante exposición a vectores de *T. cruzi* y de *Leishmania* spp. (triatominos y flebotomíneos, respectivamente), la vigilancia epidemiológica de estos animales puede considerarse una herramienta fundamental para obtener información relevante sobre potenciales eventos de urbanización y prevenir, incluso, la ocurrencia de brotes de estas enfermedades (2,18-20).

Dados los antecedentes de ambos parásitos en zonas periurbanas (21) y urbanas (Romero-Ricardo LR, Martínez L, Pérez-Doria A, Bejarano EE. Infección natural de *Panstrongylus geniculatus* con *Trypanosoma cruzi* en el área urbana de Sincelejo, Sucre. XVI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical) de Sincelejo, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la potencial circulación de estos parásitos tripanosomátidos en perros de zonas urbanas de la capital del departamento de Sucre.

## **Materiales y métodos**

### **Área de estudio**

El estudio se llevó a cabo en el área urbana del municipio de Sincelejo, ciudad capital del departamento de Sucre, el cual pertenece a la subregión de los Montes de María. Se encuentra ubicado a 213 m sobre el nivel del mar, a latitud 9°18'16"N y longitud 75°23'52"O. El clima de la ciudad es tropical seco, con temperatura media anual de 26,6 °C y precipitación anual de 1.164 mm, aproximadamente. El área urbana congrega cerca de 269.000 habitantes (>90 % de la población total del municipio) y el 24,9 % de esta población la constituyen menores entre los 0 y los 14 años (22).

### **Tipo de estudio y muestra caninas**

El estudio fue de tipo exploratorio. Todos los perros participantes asistían regularmente a las clínicas veterinarias por diferentes motivos (como peluquería, guardería, spa y consultoría clínica), tenían un plan sanitario activo (con vacunación y desparasitación) y se consideraban residentes de la zona urbana de la ciudad. El personal de la clínica valoró el estado de salud de cada animal, y registró los datos básicos, como edad, sexo, raza (nomenclatura del *American Kennel Club*) y barrio de residencia.

### **Registro de datos y toma de muestra de sangre periférica**

Se tomaron muestras de 2 ml de sangre periférica por medio de punción de la vena cefálica. Las muestras se depositaron en microtubos de polipropileno (Axygen, USA) con EDTA o BD Tubos K3EDTA Vacutainer™ (Fisher Scientific, Madrid). Cada muestra se rotulada con un código alfanumérico que correspondía con los datos básicos de cada animal incluido en el estudio. Las muestras de sangre total se almacenaron a 4 °C hasta su procesamiento molecular.

### **Extracción de ADN genómico y evaluación de su integridad**

La extracción de ADN genómico a partir de la muestra de sangre periférica se hizo siguiendo un protocolo con altas concentraciones salinas y usando una solución de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1) (23). El ADN extraído se resuspendió en 30 µl de agua ultrapura hasta su uso en las pruebas moleculares posteriores.

La integridad de todos los extractos de ADN se evaluó mediante una PCR convencional con los cebadores UNFOR403 (5-TGA GGA CAA ATA TCA TTC TGA GG-3) y UNREV1025 (5-GGT TGT CCT CCA ATT CAT GTT A-3), que permite amplificar una región aproximadamente de 623 pares de bases del gen mitocondrial citocromo b en los mamíferos (24).

### **Detección de ADN de *Leishmania* spp. mediante PCR del ITS1 ribosómico**

Para detectar el ADN de *Leishmania* spp., se intentó amplificar la región nuclear ITS1 ribosómica empleando los cebadores LITSR (5-CTG GAT CAT TTT CCG ATG-3) y L5.8S (5-TGA TAC CAC TTA TCG CAC TT-3), que amplifican un fragmento entre 300 y 350 pb, según el complejo de *Leishmania* al que pertenezca cada especie detectada: 300 pb para especies del subgénero *L. (Viannia)*, 317 a 320 pb para especies del complejo *L. donovani* como *L. infantum*, y 330 a 350 pb para especies del complejo *L. mexicana* (25).

La mezcla de la reacción tuvo un volumen final de 10 µl, compuesto por: Buffer Mix 5X, Buffer Q Plus 1X, 0,5 µM de cada cebador, 1 U de Taq ADN Polimerasa (ExAct™ Plus) y 3 µl de ADN problema.

La amplificación se optimizó con respecto a la temperatura de fusión de los cebadores y se hizo bajo las siguientes condiciones: 3 minutos de desnaturalización inicial a 94 °C, seguida por 40 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, alineamiento de cebadores a 53 °C durante 30 segundos y extensión de la cadena a 72 °C durante 45 segundos, con una extensión final a 72 °C durante 5 minutos. El material amplificado se mantuvo a 4 °C hasta su posterior análisis en geles de agarosa (26).

### **Detección específica del kADN de *Leishmania infantum***

La detección específica de ADN de *L. infantum* en las muestras que presentaron la amplificación correspondiente al ITS1 ribosómico de *Leishmania* spp., se realizó mediante una segunda PCR, utilizando los iniciadores FLC2 (5'-GTC AGT GTC GGA AAC TAA TCC GC-3') y RLC2 (5'-GGG AAA TTG GCC TCC CTG AG-3'), que flanquean un segmento de 230 pb de la región conservada del minicírculo del ADN del cinetoplasto de *L. infantum*. La mezcla de la reacción se realizó en un volumen final de 10 µl que contenía solución tampón 1X, 0,5 µM de cada cebador, 0,6 mM de dNTP, 1,5 mM de MgSO<sub>4</sub>, 1,5 U de Taq polimerasa (Applied Biological Materials Inc., Canada) y 3 µl de ADN.

Las condiciones de ciclado fueron optimizadas con respecto a la temperatura indicada por los cebadores y bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C durante 3 minutos, seguida de 35 ciclos de 1 minuto a 94 °C, luego 1 minuto a 58 °C y finalmente 1 minuto a 72 °C. Después de 10 minutos a 72 °C, el material amplificado se mantuvo a 4 °C hasta el análisis en geles de agarosa (27).

### **Identificación de *Leishmania* spp. mediante RFLP y secuenciación de ADN**

Con el fin de confirmar los resultados obtenidos con las estrategias basadas en la amplificación de fragmentos de genes específicos, los productos de PCR de ITS1 de *Leishmania* spp. se sometieron a un análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) con la endonucleasa HaeIII, para determinar si los parásitos detectados pertenecían al *L. infantum*, al complejo *L. mexicana* o a especies del subgénero *L. (Viannia)* (28-32), siguiendo las condiciones y recomendaciones de Céspedes-Chaves, *et al.* (33).

Algunos productos de interés de la ITS1-PCR se seleccionaron para enviarlos a secuenciación (Macrogen, Seúl, Corea del Sur). Las secuencias consenso, obtenidas mediante ensamblaje de los electroferogramas de secuenciación editados, se compararon con las secuencias registradas en las bases de datos GenBank, mediante BLASTn con el algoritmo MegaBLAST. La identificación de especies se confirmó mediante los dendrogramas de las secuencias, utilizando el *software* MEGA X (34).

### **Detección específica de ADN de *Trypanosoma cruzi***

El ADN de *T. cruzi* se detectó mediante dos PCR distintas. Primero, se amplificó un fragmento de 166 pb del ADN satelital del parásito, utilizando los cebadores Cruzi 1 (5'-AST CGG CTG ATC GTT TCG A-3') y Cruzi 2 (5'-AAT TCC TCC AAG CAG CGG ATA-3'). Las reacciones se llevaron a cabo en volúmenes de 10 µl que contenían solución tampón de PCR 1X, 1,5 mM de MgSO<sub>4</sub>, 0,5 µM de cada cebador, 1,5 U de Taq Polimerasa (Applied Biological Materials Inc., Canada), 0,6 µl de dNTP y 3 µl de ADN problema. Se utilizó un termociclador Veriti™ (Applied Biosystems, USA) con el siguiente perfil térmico: 3 minutos de desnaturalización inicial a 94 °C, seguido de 40 ciclos a 94 °C durante 30 segundos, 60 °C durante 30 segundos y 72 °C durante 1 minuto. Por último, se hizo una extensión final a 72 °C durante 5 minutos (35).

Posteriormente, se practicó una segunda PCR para confirmar los hallazgos en la reacción anterior. En esta reacción se amplificó un fragmento de 330 pb del minicírculo del kADN de *T. cruzi* con los cebadores 121 (5'- AAA TAA TGT ACG GGK GAG ATG CAT GA-3') y 122 (5'- GGT TCG ATT GGG GTT GGT GTA ATA TA-3'). Las reacciones se realizaron en volúmenes de 10 µl, con la siguiente composición: solución tampón de PCR 1X, 1,5 mM de MgSO<sub>4</sub>, 0,5 µM de cada cebador, 1,5 U de Taq Polimerasa (Applied Biological Materials Inc., Canada), 0,6 µl de dNTP y 3 µl de ADN problema. El perfil térmico empleado fue el siguiente: 1 ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por 2 minutos, seguido de 40 ciclos a 95 °C por 20 segundos, 64 °C por 1 minuto, y 72 °C por 1 minuto, y una extensión final de 72 °C por 5 minutos; se empleó el termociclador Applied Biosystems™ Veriti (36,37).

La utilización de ambos tipos de dianas nucleares, ADN satélite y cinetoplásticas, se considera apropiada para el diagnóstico de este parásito en sangre de insectos vectores. Una muestra se consideraba positiva para la infección cuando se obtenía la amplificación de ambas dianas (38,39).

### **Detección de Anaplasmataceae transmitidos por garrapatas**

Debido a la gran incidencia de infecciones por proteobacterias de la familia Anaplasmataceae (*Anaplasma platys* y *Ehrlichia canis*) en perros del país y a la influencia que pueden ejercer sobre la gravedad de los síntomas que suelen relacionarse con la leishmaniasis canina (40-42), se decidió incluir el tamizaje de ambos parásitos en los perros analizados.

Primero, se hizo la detección específica de *A. platys*, empleando los cebadores AplA-Hs475F (5'-AAG GCG AAA GAA GCA GTC TTA-3') y AplA-Hs1198R (5'-CAT AGT CTG AAG TGG AGG AC-3') que amplifican una región de 723 pb del gen *groESL* (43-45). Por otra parte, la detección de *E. Canis* fue realizada con los cebadores Ehr-groESLF (5'-CAA TAG CAA GAG CCA ATG-3') y Ehr-groESLR (5'-TTA GAA GAT GCT GTA GGA TG-3') que amplifican una región ~145 pb del operon *groESL* de este género bacteriano (46).

Además, se realizó otra PCR para detectar ADN de *E. canis*, empleando cebadores desarrollados para el presente trabajo denominados: Ecaj\_0423F (5-TCC TGT TGA TGG ACA AAG TGT T-3) y Ecaj\_0423R (5-ACC TGT AGC ACC ACA TTC TTG-3), que amplifican un fragmento de 403 pb del gen putativo Ecaj\_0423 (CP000107).

La diana seleccionada (Ecaj\_0423, código de secuencia de 744 nucleótidos) está presente tanto en la cepa Jake de Estados Unidos de América (CP000107) como en la cepa YZ-1 de China (CP025749) y, de acuerdo con los análisis de similitud local contra todas las secuencias depositadas en Genbank (base de datos "nr"), es una región exclusiva de *E. canis*. Los cebadores diseñados se evaluaron extensamente en las plataformas InSilico (Universidad del País Vasco) y Primer-BLAST (NCBI) con el fragmento deseado exclusivamente en *E. canis*.

### **Análisis de datos y aspectos éticos**

Los datos de los animales (sexo, raza, edad, y comuna de procedencia) se contrastaron con la infección por los dos parásitos cinetoplástidos mediante pruebas de múltiples proporciones de Fisher o de asociación de ji al cuadrado en el programa R V. 4.1.1 (47). Además, utilizando el programa QGIS™, V. versión 3.4 (48), se hizo un mapeo de los resultados positivos para *Leishmania*, *T. cruzi* y especies de la familia Anaplasmataceae (*Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* o ambos), de acuerdo con los barrios de procedencia de los animales afectados, con el fin de ilustrar su distribución geográfica.

La toma de muestras solo llevó a cabo con la expresa autorización y firma del consentimiento informado por parte del propietario de cada animal; documentos que reposan en la Clínica para evitar conflictos éticos debido al manejo de datos en la relación médico-cliente-paciente en la práctica veterinaria (49). Los informes de los resultados moleculares se remitieron a los médicos veterinarios para concertar el manejo y tratamiento de los animales con los propietarios, aplicar medidas de protección contra vectores (collares impregnados con deltametrina y formulaciones insecticidas o repelentes de uso tópico) y hacer el seguimiento clínico; estas directrices han sido ampliamente recomendadas por expertos en el área (44,50). Todos los procedimientos de toma de muestras, manejo de los animales y tratamiento de los datos fueron avalados por el Comité Institucional de Bioética de la Universidad de Sucre (Sesión Ordinaria N°4, 12 de octubre de 2017).

## Resultados

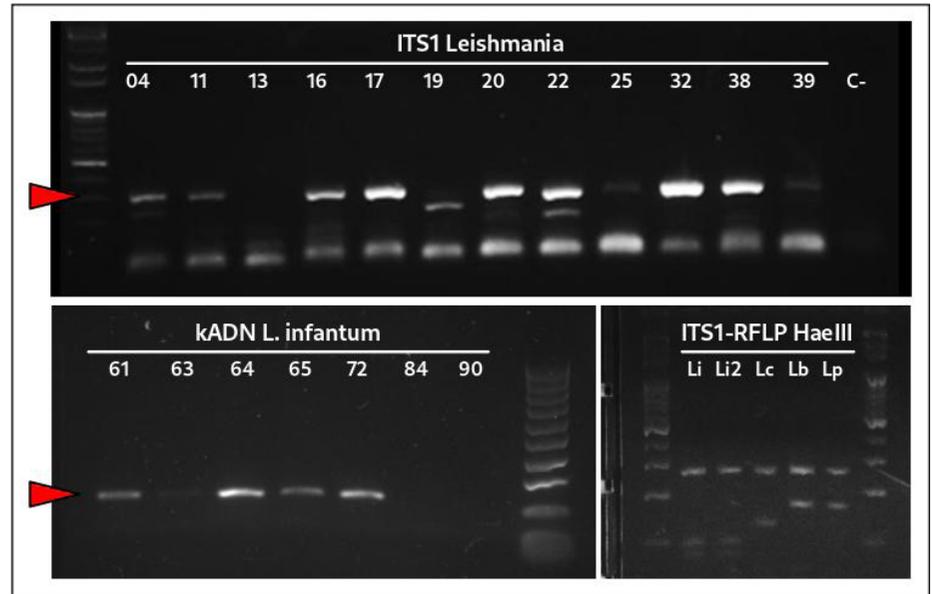
### Características de la muestra canina analizada

Se incluyeron 100 perros domésticos del sitio de estudio. Se categorizaron en 21 razas (los animales mestizos fueron tratados como una raza para conveniencia del análisis categórico); la más frecuente fue mestizos (19 %; 19/100), seguida de *French Poodle* (15 %; 15/100) y *Pincher* miniatura (13 %; 13/100). Las edades estuvieron en un rango entre los 3 y los 168 meses. Con respecto al grupo etario, el 70 % (70/100) se consideraron adultos (animales con edades entre los 13 y 84 meses), el 18 % (18/100), seniles (mayores de 84 meses), y el 12 % (12/100), cachorros (animales con edades entre 0 y 12 meses) (cuadro 1).

Mediante el examen clínico, se encontró que el 78 % de los perros estudiados fueron asintomáticos y el 22 % restante presentó, al menos, un signo clínico (oligosintomático) indicativo o que se podía relacionar con tripanosomiasis canina, leishmaniasis canina o ambas. En total, se registraron hasta 13 signos clínicos en los 22 animales sintomáticos (solo en la comuna 6 no se presentaron sintomáticos), con la siguiente frecuencia: vómito grave (4), diarrea (3), fiebre (3), sangrado nasal (2), sospecha de hemoparásitos (2), anemia (1), dermatitis (1), dermatopatía grave (1), falla renal (1), inapetencia (1), infección urinaria (1), queratoconjuntivitis seca (1) y úlcera corneal (1).

**Cuadro 1.** Evaluación de la asociación entre variables registradas y número de positivos a *Leishmania* (L+), *T. cruzi* (Tc+) y parásitos de la familia Anaplasmataceae (ATG+), en perros residentes en el área urbana de Sincelejo. Los valores de probabilidad (p), en negrilla, se consideraron estadísticamente relevantes ( $p < 0,05$ ).

Variable	Categorías	Muestra	L+	p	Tc+	p	ATG+	p
Sexo	Hembra	50	16	1	5	0,758	14	<b>0,019</b>
	Macho	50	16		7		4	
Grupo etario	Adulto	70	25	0,381	9	0,898	16	0,114
	Cachorro	12	2		1		0	
	Senil	18	5		2		2	
Raza	<i>Beagle</i>	2	0	0,701	0	0,810	0	0,906
	<i>Boston Terrier</i>	2	0		0		0	
	<i>Bulldog francés</i>	6	3		1		1	
	<i>Bulldog inglés</i>	1	0		0		0	
	<i>American Bully</i>	1	0		0		0	
	<i>Chow Chow</i>	1	0		0		0	
	<i>Cocker</i>	2	0		0		1	
	<i>Dogo argentino</i>	1	1		0		0	
	<i>Golden</i>	2	0		0		0	
	<i>Husky</i>	6	3		1		1	
	<i>Labrador</i>	4	1		0		1	
	<i>Mestizo</i>	19	9		3		2	
	<i>Pincher</i>	13	3		3		4	
	<i>Pitbull</i>	1	0		0		1	
	<i>Pointer</i>	1	0		1		0	
	<i>French Poodle</i>	15	4		1		2	
	<i>Pug</i>	5	2		0		1	
	<i>Rottweiler</i>	1	0		0		0	
<i>Schnauzer</i>	7	4		1		1		
<i>Shih Tzu</i>	4	1		1		1		
<i>Yorky</i>	6	1		0		2		
Comuna	C2	14	5	0,279	4	0,670	2	0,806
	C3	19	3		3		2	
	C4	19	9		0		4	
	C5	13	3		0		4	
	C6	3	0		4		1	
	C7	28	10		0		5	
	C8	3	1		0		0	
	C9	1	1				0	



**Figura 1.** Electroforesis en geles de agarosa al 1,5 % de la PCR para *Leishmania* spp. (ITS1, panel superior). En los paneles inferiores, se observa, específicamente, kADN de *L. infantum* (izquierda), así como los perfiles de restricción de ITS1 con HaeIII para cepas de referencia de *L. infantum* (Li y Li2), *L. colombiensis* (Lc), *L. braziliensis* (Lb) y *L. panamensis* (Lp) (derecha).

En relación con la distribución de los perros en la ciudad, toda la población analizada pertenecía a la zona urbana de Sincelejo y se pudieron representar 8 de las 9 comunas existentes dentro del municipio (comuna 1, sin datos). El mayor número de animales muestreados pertenecía a la comuna 7, seguida de la comuna 3 y la 4 (cuadro 1).

#### **Frecuencia de infección por *Leishmania* spp.**

La frecuencia de infecciones por *Leishmania* spp., determinada mediante la detección de la región ITS1 ribosómica en la población de perros estudiados, fue del 32 % (32/100) (figura 1). De estos, 16 eran hembras y 16 machos, con edades que oscilaban entre los 7 y los 168 meses (78,2 % de los 32 fueron adultos). La mayoría de los perros infectados por estos parásitos eran mestizos (9 %), seguidos por *French Poodle* (4 %) y por *Schnauzer* (4 %) (cuadro 1). En relación con los signos clínicos, 7 (21,87 %) animales presentaban, al menos, un signo clínico relevante de la infección: 3 de ellos con vómito grave (3/4), uno con úlcera corneal (1/4), uno con dermatopatía (1/4), uno con infección urinaria (1/4) y uno con cuadro febril (1/3).

#### **Tipificación de *Leishmania* spp. en los perros infectados**

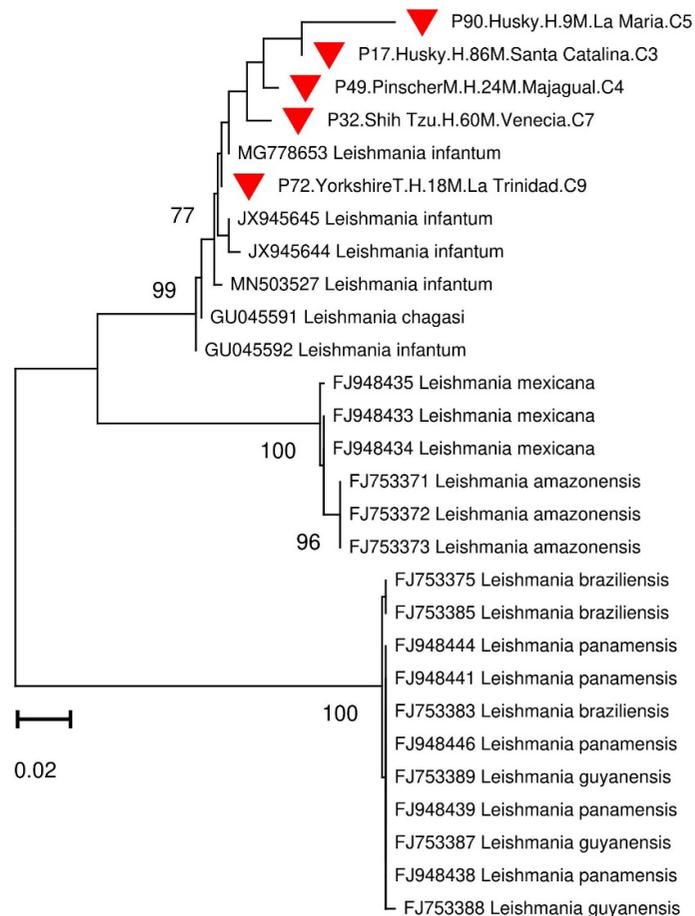
A partir de las 32 muestras positivas para la ITS1 de *Leishmania* spp., fue posible detectar específicamente ADN de los minicírculos del cinetoplasto de *L. infantum* en 13 animales (40,6 %) (figura 1). Uno de estos animales murió con un cuadro grave de dermatopatía, semanas después de la toma de la muestra en el centro veterinario.

Mediante la RFLP, se logró determinar la presencia del perfil de restricción típico para *L. infantum* en 11 de las 32 muestras evaluadas (figura 1). Además, se logró visualizar perfiles mixtos que no permitieron la identificación precisa de otras especies. Por otro lado, los análisis bioinformáticos de cinco secuencias provenientes de muestras previamente identificadas como *L. infantum* (todas determinadas mediante RFLP y 4 de

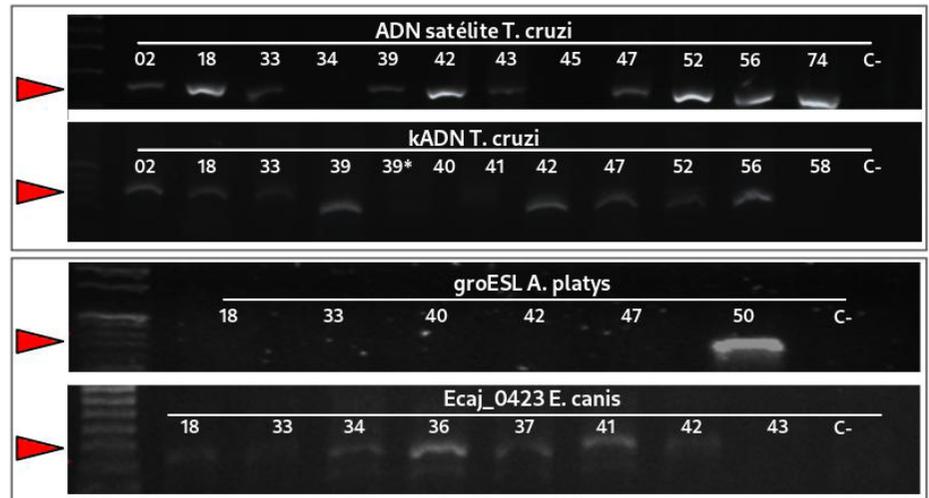
ellas positivas para el kADN de *L. infantum*), permitieron confirmar estos resultados con alta confianza de agrupación (Bootstrap 99) al compararlas con secuencias de referencia de distintas especies de este género (figura 2). Todas las secuencias presentaron una similitud mayor del 95 % y hasta del 100 %, con secuencias de *L. infantum* reportadas en Genbank (códigos MN503527-MN496380). De los 18 caninos infectados con *L. infantum*, 7 presentaban algún síntoma de los mencionados anteriormente y 11 resultaron completamente asintomáticos.

### Frecuencia de infección por *T. cruzi*

En cuanto a la frecuencia de infección por *T. cruzi*, se pudo determinar que el 12 % de las 100 muestras evaluadas fueron positivas en las pruebas practicadas, empleando los dos juegos de cebadores diseñados para la detección del ADN esta especie (figura 3). De estos, 5 fueron hembras y 7 machos, con un rango de edad entre los 7 y los 144 meses. La mayor frecuencia de infección con *T. cruzi* se obtuvo en perros adultos (9 %; 9/100). Además, 8 de las 21 razas representadas en la muestra presentaron, al menos, un individuo infectado, siendo los mestizos y los *Pincher* los más afectados por estos parásitos (3 %; 3/100). Cabe resaltar que cuatro de los perros infectados presentaron síntomas: uno de ellos con vómito grave, uno con infección urinaria, otro con úlcera corneal y otro con fiebre.



**Figura 2.** Dendrograma *neighbor-joining* (distancias K2P) de comparaciones pareadas de ITS1 de cepas de *Leishmania* spp. obtenidas de perros de la zona urbana de la ciudad de Sincelejo (triángulo rojo). Los códigos de estas secuencias presentan información adicional del perro, como raza, sexo, edad (en meses), barrio y comuna de procedencia.



**Figura 3.** Electroforesis en gels de agarosa al 1,5 % de productos de PCR del tamaño esperado para *Trypanosoma cruzi* (ADN satélite y kADN, panel superior) y PCR específicas para agentes transmitidos por garrapatas, *Anaplasma platys* y *Ehrlichia canis* (panel inferior)

Además, se encontraron 7 perros coinfectados con parásitos del género *Leishmania* spp. (4 de específicamente con *L. infantum* y *T. cruzi*) y, en 2 de ellos, se encontraron signos clínicos de úlcera corneal y, en otro, infección urinaria.

#### **Frecuencia de infección por proteobacterias de la familia Anaplasmataceae**

En relación con la infección por especies de la familia Anaplasmataceae (*Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* o ambos), 18 animales resultaron infectados con *E. canis* y uno de ellos presentó coinfección con *A. platys* (figura 3). De estos, 5 presentaron síntomas: 2 con fiebre, 1 con vómito grave, 1 con falla renal y uno con infección urinaria.

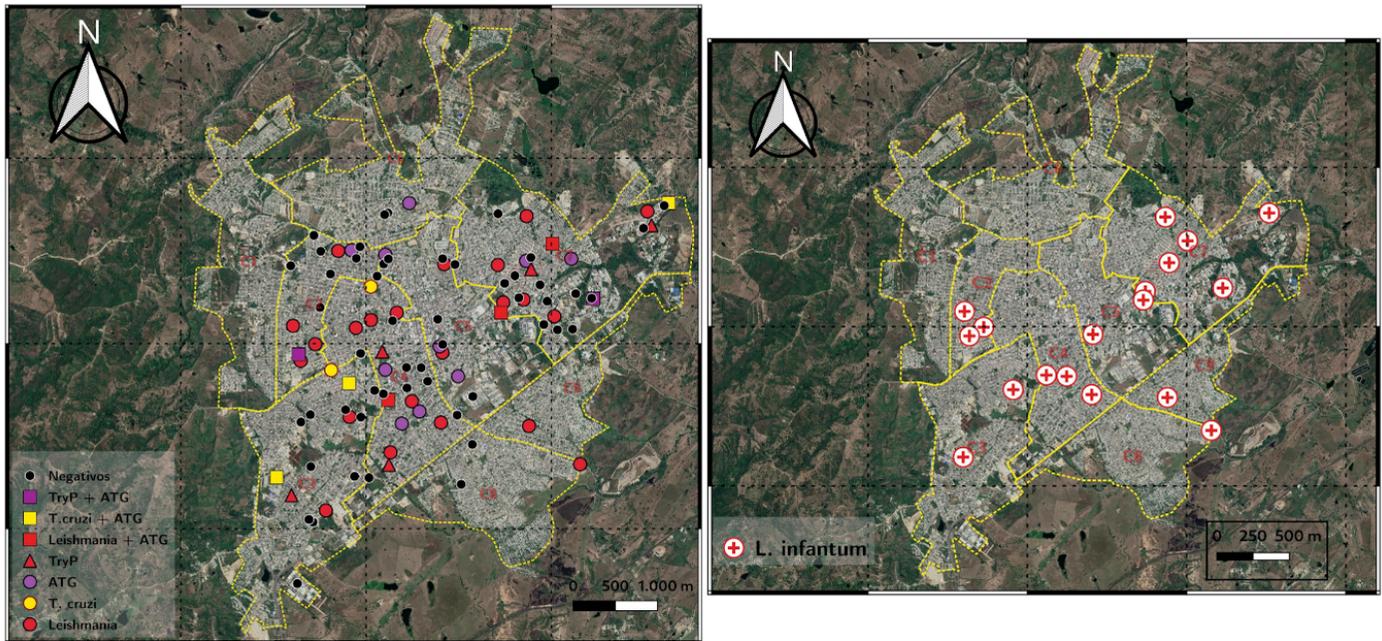
En este tamizaje, 10 perros estuvieron infectados exclusivamente con especies de la familia Anaplasmataceae (*Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* o ambos): 3 con coinfección con *Leishmania* spp. (todos por *L. infantum* y uno con coinfección con *A. platys* y *E. canis*), 3 con *T. cruzi* (todos *E. canis*), y finalmente, 2 con infección múltiple por especies de la familia Anaplasmataceae (*E. canis*), *T. cruzi* y *L. infantum*. En general, 47 animales dieron positivo, al menos, para uno de los agentes evaluados, siendo el 50 % de estos asintomáticos (11/22).

#### **Distribución de animales infectados y análisis de variables**

En todas las comunas estudiadas, se encontraron animales infectados con alguno de los cuatro agentes analizados (*Leishmania*, *T. cruzi*, *E. canis* o *A. platys*). Las comunas 4 y 7 presentaron la mayor cantidad de estos (13 cada una), mientras que solo un positivo fue hallado en las comunas 6, 8 y 9.

En cuanto a los parásitos, se encontraron animales positivos para *L. infantum* en todas las comunas analizadas, a excepción de la comuna 6; hubo 3 animales en la comuna 2, 2 en la 3, 3 en la 4, 2 en la 5, 6 en la 7, 1 en la 8, y 1 en la comuna 9.

En el caso de *T. cruzi*, este fue hallado en 4 de las 7 comunas: 1 en la Comuna 2, 4 en la Comuna 3, 3 en la Comuna 4, y 4 en la Comuna 7. En cuanto a *T. cruzi*, se encontró en 4 de las 7 comunas, así: uno en la comuna 2, 4 en la 3, 3 en la 4, y 4 en la 7. Todos los resultados mencionados anteriormente se ilustran espacialmente de acuerdo con las divisiones por comunas de la ciudad de Sincelejo (figura 4).



**Figura 4.** A la izquierda, distribución espacial de parásitos tripanosomátidos y anaplasmatáceos detectados en caninos y, a la derecha, distribución de *Leishmania infantum* en perros residentes de la zona urbana del municipio de Sincelejo.

No se encontró asociación estadísticamente significativa al contrastar los resultados positivos de la PCR para parásitos del género *Leishmania* y *T. cruzi*, con las características de la población estudiada de perros (edad, sexo, raza y comuna de residencia).

### Discusión

La distribución de los casos de leishmaniasis y tripanosomiasis americana en humanos y animales domésticos ha cambiado con el desarrollo urbanístico de los asentamientos humanos, así como por factores sociales e industriales a escala global (51). Los ciclos de transmisión de estas enfermedades se consideran influenciados por actividades humanas, como la migración de personas desde áreas rurales hacia áreas urbanas, y otros fenómenos como la creciente deforestación y el cambio climático, los cuales pueden inducir, a su vez, cambios en la ecología de los vectores y los reservorios de los microorganismos patógenos (52).

Anteriormente, la importancia del perro doméstico en el ciclo de transmisión de *T. cruzi* y *L. infantum* en Colombia estuvo restringida al ámbito rural (53,54). Sin embargo, desde hace algunos años se ha sugerido que estos animales podrían estar implicados en los procesos de urbanización de estos parásitos; por lo tanto, la vigilancia epidemiológica de los perros (como centinelas) en estas áreas, se considera fundamental para comprender su participación en estas “nuevas dinámicas” de transmisión (2,55).

La circulación de parásitos del género *Leishmania* en Sincelejo está íntimamente relacionada con la cercanía a zonas endémicas, principalmente los Montes de María, uno de los focos mixtos de leishmaniasis más importantes en Colombia. La facilidad de movilización de la población humana y animal, desde zonas rurales o hacia aquellas donde la enfermedad es endémica, permite el desplazamiento de animales infectados; esto se suma a la presencia y gran abundancia de los vectores en esta zona del país, lo que favorece que se mantenga el ciclo de transmisión de estos

parásitos en áreas urbanas (10,56,57). Todos estos se consideran factores que predisponen a la circulación de agentes zoonóticos como *L. infantum*, capaces de afectar a una gran parte de la población infantil de la ciudad, dada su amplia distribución en la zona urbana y, por supuesto, la presencia del vector local (58). Estos hallazgos encienden las alarmas sobre la potencial aparición de casos autóctonos de leishmaniasis visceral, aunque es necesario aclarar que aún no existen datos sobre vectores infectados por *Leishmania* spp. en la ciudad.

La frecuencia de las infecciones por *Leishmania* spp. en perros en zonas urbanas de Sincelejo (32 %; 32/100), es tan alta como la reportada por Paternina, et al., hace 8 años en zonas rurales de este municipio (21); estos autores encontraron que el 34,9 % (29/83) de los perros de Sabanas del Potrero (zona rural y periurbana de Sincelejo) estaban infectados con parásitos del género *Leishmania*, lo que sugiere la potencial y eventual aparición de ciclos de transmisión urbanos, y que los caninos estén participando, probablemente, como reservorios o huéspedes de estos parásitos (21).

Además, se ha encontrado que la frecuencia de infección es cercana a la reportada (44 %; 52/118) en perros de zonas urbanas del municipio de Ovejas, departamento de Sucre; aunque esta frecuencia es mayor a la observada en el presente trabajo, vale la pena señalar que este municipio, a diferencia de la ciudad de Sincelejo, reporta periódicamente casos urbanos de leishmaniasis humana y pertenece al área que se considera endémica en Los Montes de María (59).

Las grandes frecuencias de infección reportadas en perros de zonas urbanas de Sincelejo podrían sugerir su papel como reservorio de parásitos. Sin embargo, los xenodiagnósticos en perros indican que los animales asintomáticos o con pocas manifestaciones clínicas no son fuentes de parásitos tan eficientes para la infección con *Lutzomyia evansi* (vector local), en comparación con los perros con múltiples síntomas (60,61).

En cuanto al diagnóstico de las 18 muestras identificadas como *L. infantum* (utilizando combinación de RFLP, PCR de kADN o secuenciación de ADN), 4 se identificaron mediante las tres técnicas usadas para la tipificación de *Leishmania* spp. Con esto se confirma la circulación de este parásito en el área urbana de Sincelejo, aportando evidencias de la urbanización de estos parásitos en diversas zonas de la ciudad. Su presencia en Sincelejo se suma a los reportes sobre otras áreas urbanas del Caribe colombiano: primero en Cartagena (Región Caribe), en un perro con diagnóstico serológico de este mismo parásito (17), luego en el área urbana del municipio de Ovejas (Región Caribe), en cultivos de ganglio poplíteo e isoenzimas (62); por otra parte, se suma el reporte de un caso de leishmaniasis canina por *L. infantum* en el área urbana de Cali (Región Andina), confirmado mediante serología, RFLP y secuenciación de ADN (63).

Con relación a la positividad de *T. cruzi*, curiosamente, es superior a la reportada en Cumaral (Meta), donde se reportó en 1,6 % de los perros (19). En contraste, estos hallazgos se consideran similares a los reportados en las zonas urbanas de cuatro municipios del departamento de Santander con frecuencias de infección de 12,1 % (64), y a lo reportado en un área rural de Boyacá, donde se encontraron frecuencias de infección del 15 % (65).

En cuanto a la circulación de este parásito en Sincelejo, la frecuencia de infección en estos animales puede deberse a transmisión vectorial por

presencia de triatominos infectados (Romero-Ricardo LR, Martínez L, Pérez-Doria A, Bejarano EE. Infección natural de *Panstrongylus geniculatus* con *Trypanosoma cruzi* en el área urbana de Sincelejo, Sucre. XVI Congreso Colombiano de Parasitología y Medicina Tropical), aunque no se descarta la vía transfusional y, especialmente, la oral. Esta última fue responsable de un brote reciente, al menos, de 15 casos (3 de ellos fatales) en zona rural del municipio El Roble (departamento de Sucre) (6,66). Por esta razón, el hallazgo de estos parásitos en perros de zonas urbanas puede considerarse muy preocupante.

En general, se determinó que 7 perros estaban coinfectados con *Leishmania* y *T. cruzi*, 4 de ellos específicamente por *L. infantum* y *T. cruzi*, siendo este el primer estudio en reportar esta coinfección en perros en un centro urbano del país.

En Latinoamérica, esta coinfección solo se ha reportado en perros de zonas endémicas para ambas enfermedades: Venezuela (2) y Brasil (67,68).

La interacción entre *Leishmania* y *Trypanosoma* en un mismo huésped puede alterar la frecuencia u ocurrencia de la infección y la patogenicidad, como suele ser evidente por la presentación de síntomas como la onicogriposis y las lesiones cutáneas (67). Además, la presencia de coinfecciones puede influir en el diagnóstico clínico y alterar la respuesta a los tratamientos, e influir potencialmente en la dinámica de transmisión por medio de la capacidad infecciosa de los vectores, como se ha demostrado anteriormente (61,69).

El diagnóstico de infección por especies de la familia Anaplasmataceae (en particular, *E. canis*) se considera relevante debido a que se ha asociado previamente con leishmaniasis canina. En nuestro caso, aunque es frecuente en perros, solo 3 de los 8 animales coinfectados por especies de la familia Anaplasmataceae y algún o ambos tripanosomátidos, fueron sintomáticos: uno con fiebre, uno con vómito grave y otro con infección urinaria.

De hecho, se puede inferir que las infecciones por especies de la familia Anaplasmataceae se podrían encontrar en fase crónica debido a la gran cantidad de asintomáticos (13 de 18 positivos para especies de la familia Anaplasmataceae) y su incidencia principalmente en adultos. La asociación entre la positividad a especies de la Familia Anaplasmataceae y las hembras es fácilmente explicable, debido a la composición de la muestra, puesto que las comunas 4, 5 y 7 aportaron 34 de las 50 hembras al análisis y de las 14 hembras infectadas, 11 provenían de estas 3 comunas lo que explica la tendencia a un mayor número de hembras infectadas.

Con base en los resultados obtenidos, se demuestra la circulación de *L. infantum* y *T. cruzi* en perros domésticos de zonas urbanas de la ciudad de Sincelejo, independientemente de la infección por *E. canis* y *A. platys*. No existió ninguna relación entre las especies de la familia Anaplasmataceae y los tripanosomatídeos evaluados. Los hallazgos demuestran la utilidad de los caninos como centinelas en la vigilancia de estas zoonosis, los cuales alertan sobre la eventual aparición de brotes de ambas enfermedades en centros urbanos del Caribe.

### Agradecimientos

A todos los auxiliares de la Clínica Veterinaria Mascotas, por su colaboración en el manejo y la valoración general de los animales.

## Referencias

1. World Health Organization. Zoonosis. Fecha de consulta: 1 de febrero de 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>
2. Vietri M, Herrera L, Aguilar CM, Morocoima A, Reyes J, Lares M, et al. Molecular diagnosis of *Trypanosoma cruzi*/*Leishmania* spp. coinfection in domestic, peridomestic and wild mammals of Venezuelan co-endemic areas. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2018;14:123-30. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2018.10.002>
3. World Health Organization. Chagas disease (also known as American trypanosomiasis). Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis))
4. World Health Organization. Leishmaniasis. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
5. Sanabria-Calvo M. Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXXI*. 2015;616:539-44.
6. Instituto Nacional de Salud. Vigilancia intensificada de lesiones por pólvora pirotécnica. *Boletín Epidemiológico Semanal. Semana epidemiológica 52*. 2019. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019\\_Boletin\\_epidemiologico\\_semana\\_52.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019_Boletin_epidemiologico_semana_52.pdf)
7. Instituto Nacional de Salud. Enfermedad de Chagas: brotes de transmisión oral en Colombia. *Boletín Epidemiológico Semanal. Semana epidemiológica 33*. 2019. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2033.pdf>
8. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS ONE*. 2012;7:e35671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
9. Instituto Nacional de Salud. Leishmaniasis. *Boletín Epidemiológico Semanal. Semana epidemiológica 41*. 2019. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: [https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019\\_Boletin\\_epidemiologico\\_semana\\_41.pdf](https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2019_Boletin_epidemiologico_semana_41.pdf)
10. Bejarano EE, Uribe S, Rojas W, Vélez ID. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) associated with the appearance of urban leishmaniasis in the city of Sincelejo, Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002;97:645-7. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000500010>
11. Bejarano EE, Uribe S, Rojas W, Vélez ID. Presence of *Lutzomyia evansi*, a vector of American visceral leishmaniasis, in an urban area of the Colombian Caribbean coast. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001;95:27-8. [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(01\)90320-7](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(01)90320-7)
12. Canchila-Muñoz L, Contreras-Gómez M. Prevalencia de anticuerpos frente a *Leishmania* spp. en roedores sinantrópicos de un foco mixto de leishmaniasis en el área urbana del municipio de Ovejas, Colombia (tesis). Sincelejo: Universidad de Sucre; 2015.
13. Fernández J, Bello F, López M, Moncada L, Ayala M, Orejuela S, et al. Determinación de anticuerpos IgG contra *Leishmania chagasi* en caninos de la ciudad de Neiva (Huila, Colombia). *Revista de Investigación*. 2006;6:75-81.
14. Fernández J, Vargas J, López M, Bello F, Ayala M, Moncada L, et al. Seroprevalencia de leishmaniosis visceral canina en la comuna 8 de Neiva y en cuatro municipios de Huila, Colombia. *Biomédica*. 2006;26:121-30. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1506>
15. Mantilla JC, Suárez EU, Barraza MF. Enfermedad de Chagas: correlación clínico-patológica. Serie de casos del Hospital Universitario de Santander - Departamento de Patología, Universidad Industrial de Santander. *Revista Colombiana de Cardiología*. 2011;18:249-61.
16. Reyes M, Torres A, Esteban L, Florez M, Angulo VM. Riesgo de transmisión de la enfermedad de Chagas por intrusión de triatominos y mamíferos silvestres en Bucaramanga, Santander, Colombia. *Biomédica*. 2017;37:68-78. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i1.3051>
17. Zambrano-Hernández CP, Ayala-Sotelo MS, Fuya-Oviedo OP, Barraza OC, Rodríguez-Toro G. Cartagena: nuevo foco de leishmaniasis visceral urbana en Colombia. *Ciencia en Desarrollo*. 2016;7:83-91. <https://doi.org/10.19053/01217488.4234>
18. Dantas-Torres F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *Vet Parasitol*. 2007;149:139-46. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.07.007>

19. Jaimes-Duenez J, Triana-Chávez O, Cantillo-Barraza O, Hernández C, Ramírez JD, Góngora-Orjuela A. Molecular and serological detection of *Trypanosoma cruzi* in dogs (*Canis lupus familiaris*) suggests potential transmission risk in areas of recent acute Chagas disease outbreaks in Colombia. *Prev Vet Med.* 2017;141:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.03.009>
20. Ramírez JD, Turriago B, Tapia-Calle G, Guhl F. Understanding the role of dogs (*Canis lupus familiaris*) in the transmission dynamics of *Trypanosoma cruzi* genotypes in Colombia. *Vet Parasitol.* 2013;196:216-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.054>
21. Paternina M, Díaz Y, Paternina LE, Bejarano EE. Alta prevalencia de infección por *Leishmania* (Kinetoplastidae: Trypanosomatidae) en perros del norte de Colombia. *Biomédica.* 2013;33:375-82. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i3.780>
22. DANE presentación región Caribe. Censo Nacional de Población y Vivienda 2018 y desafíos socioeconómicos para la región Caribe. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2021. Disponible en: <https://www.dane.gov.co/files/censo2018/informacion-tecnica/presentaciones-territorio/080819-CNPV-presentacion-RegionCaribe.pdf>
23. Afanador LK, Haley SD, Kelly JD. Adoption of a mini-prep DNA extraction method for RAPD marker analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Bean Improv Coop.* 1993;36:10-11.
24. Kent RJ, Norris DE. Identification of mammalian blood meals in mosquitoes by a multiplexed polymerase chain reaction targeting cytochrome B. *Am J Trop Med Hyg.* 2005;73:336-42.
25. El Tai NO, El Fari M, Mauricio I, Miles MA, Oskam L, El Safi SH, et al. *Leishmania donovani*: Intraspecific polymorphisms of Sudanese isolates revealed by PCR-based analyses and DNA sequencing. *Exp Parasitol.* 2001;97:35-44. <https://doi.org/10.1006/expr.2001.4592>
26. Lozano-Sardaneta YN, Sánchez-Montes S, Sánchez-Cordero V, Becker I, Paternina LE. Molecular detection of *Leishmania infantum* in sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) from Veracruz, Mexico. *Acta Tropica.* 2020;207:105492. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105492>
27. Gualda KP, Marcussi LM, Neitzke-Abreu HC, Aristides SM, Lonardon MV, Cardoso RF, et al. New primers for detection of *Leishmania infantum* using polymerase chain reaction. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2015;57:377-83. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000500002>
28. Martínez LP, Rebollo JA, Luna AL, Cochero S, Bejarano EE. Molecular identification of the parasites causing cutaneous leishmaniasis on the Caribbean coast of Colombia. *Parasitol Res.* 2010;106:647-52. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1712-6>
29. Dweik A, Schönián G, Mosleh IM, Karanis P. Evaluation of PCR-RFLP (based on ITS-1 and *HaeIII*) for the detection of *Leishmania* species, using Greek canine isolates and Jordanian clinical material. *Ann Trop Med Parasitol.* 2007;101:399-407. <https://doi.org/10.1179/136485907X176436>
30. Fraga J, Montalvo AM, De Doncker S, Dujardin JC, van der Auwera G. Phylogeny of *Leishmania* species based on the heat-shock protein 70 gene. *Infect Genet Evol.* 2010;10:238-45. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.11.007>
31. Monroy-Ostria A, Nasereddin A, Monteon VM, Guzmán-Bracho C, Jaffe CL. ITS1 PCR-RFLP diagnosis and characterization of *Leishmania* in clinical samples and strains from cases of human cutaneous leishmaniasis in States of the Mexican Southeast. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2014;2014:607287. <https://doi.org/10.1155/2014/607287>
32. Montalvo AM, Monzote L, Fraga J, Montano I, Muskus C, Marín M, et al. PCR-RFLP y RAPD para la tipificación de *Leishmania* neotropical. *Biomédica.* 2008;28:597-606. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i4.66>
33. Céspedes-Chaves E, Portillo N, Thomaz-Soccol V, Gonçalves AL, González-Brítez N. Estandarización de la técnica de PCR-RFLP de la región ITS1, para la caracterización molecular de *Leishmania* (*L.*) *infantum*, en muestras caninas. *Mem Inst Investig Cienc Salud.* 2016;14:24-33.
34. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol.* 2018;35:1547-9. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
35. Piron M, Fisa R, Casamitjana N, López-Chejade P, Puig L, Vergés M, et al. Development of a real-time PCR assay for *Trypanosoma cruzi* detection in blood samples. *Acta Tropica.* 2007;103:195-200. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.05.019>
36. Britto C, Cardoso MA, Ravel C, Santoro A, Pereira JB, Coura JR, et al. *Trypanosoma cruzi*: Parasite detection and strain discrimination in chronic Chagasic patients from Northeastern

- Brazil using PCR amplification of kinetoplast DNA and nonradioactive hybridization. *Exp Parasitol*. 1995;81:462-71. <https://doi.org/10.1006/expr.1995.1139>
37. Hernández C, Salazar C, Brochero H, Teherán A, Buitrago LS, Vera M, et al. Untangling the transmission dynamics of primary and secondary vectors of *Trypanosoma cruzi* in Colombia: Pparasite infection, feeding sources and discrete typing units. *Parasit Vectors*. 2016;9:620. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1907-5>
  38. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, Sued M, Duffy T, Mejia Jaramillo AM, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5:e931-e. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000931>
  39. Vásquez C, Robledo S, Calle J, Triana O. Identificación de nuevos escenarios epidemiológicos para la enfermedad de Chagas en la región momposina, norte de Colombia. *Biomédica*. 2013;33:526-37. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v33i4.836>
  40. Attipa C, Solano-Gallego L, Papasouliotis K, Soutter F, Morris D, Helps C, et al. Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: A prospective case-control study. *Parasit Vectors*. 2018;11:184. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2717-8>
  41. Cardinot CB, Silva JE, Yamatogi RS, Nunes CM, Biondo AW, Vieira RF, et al. Detection of *Ehrlichia canis*, *Babesia vogeli*, and *Toxoplasma gondii* DNA in the brain of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *J Parasitol*. 2016;102:275-9. <https://doi.org/10.1645/15-821>
  42. Mekuzas Y, Gradoni L, Oliva G, Foglia Manzillo V, Baneth G. *Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum* co-infection: A 3-year longitudinal study in naturally exposed dogs. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15(Suppl.2):30-1. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02150.x>
  43. Galay RL, Manalo AAL, Dolores SLD, Aguilar IPM, Sandalo KAC, Cruz KB, et al. Molecular detection of tick-borne pathogens in canine population and *Rhipicephalus sanguineus* (*sensu lato*) ticks from southern Metro Manila and Laguna, Philippines. *Parasit Vectors*. 2018;11:643. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3192-y>
  44. Inokuma H, Fujii K, Okuda M, Onishi T, Beaufils JP, Raoult D, et al. Determination of the nucleotide sequences of heat shock operon groESL and the citrate synthase gene (*gltA*) of *Anaplasma* (*Ehrlichia*) *platys* for phylogenetic and diagnostic studies. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002;9:1132-6. <https://doi.org/10.1128/cdli.9.5.1132-1136.2002>
  45. Londoño BA, Monsalve BS, Rodas GJ, González-Álvarez D, Cabrera JA, Posada-Zapata J. Identification of bacteria from the *Anaplasmataceae* family in dog shelter of the municipality of Caldas, Antioquia. *Revista MVZ Córdoba*. 2017;22:6014-22.
  46. Pérez Pérez JC, Montoya Ruiz C, Arroyave Sierra E, Paternina LE, Rodas JD. Design and analytical validation of a duplex PCR for *Ehrlichia* and *Rickettsia* detection in ticks. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 2018;31:285-94. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/330532>
  47. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna: R Core Team; 2021.
  48. QGIS Development Team 2020. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: <https://qgis.org>
  49. Pereira Bengoa V. La historia clínica y el consentimiento informado en medicina veterinaria en Colombia: generación de instrumentos y sus reglas de organización y manejo. Bogotá, D. C.: Consejo Profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia de Colombia; 2018.
  50. Travi BL. Ethical and epidemiological dilemmas in the treatment of dogs for visceral leishmaniasis in Latin America. *Biomédica*. 2014;34:7-12. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i1.2153>
  51. Aagaard-Hansen J, Nombela N, Alvar J. Population movement: A key factor in the epidemiology of neglected tropical diseases. *Trop Med Int Health*. 2010;15:1281-8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2010.02629.x>
  52. Costa CH, Werneck GL, Rodrigues L, Jr., Santos MV, Araújo IB, Moura LS, et al. Household structure and urban services: Neglected targets in the control of visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol*. 2005;99:229-36. <https://doi.org/10.1179/136485905X28018>
  53. World Health Organization. Reporte sobre la enfermedad de Chagas. Buenos Aires: WHO; 2005. p. 104. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69724/TDR\\_SWG\\_09\\_spa.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/69724/TDR_SWG_09_spa.pdf?sequence=1)

54. Organización Mundial de la Salud. Control de las leishmaniasis: informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Ginebra, 22 a 26 de marzo de 2010. Ginebra: OMS; 2010. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/82766>
55. Travi B, Tabares C, Cadena H. *Leishmania (Viannia) braziliensis* infection in two Colombian dogs: A note on infectivity for sand flies and response to treatment. *Biomédica*. 2006;26:249-53. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v26i1.1520>
56. Bejarano EE, Rojas W, Uribe S, Vélez ID, Charles HP. Genetic analysis of a recently detected urban population of *Lutzomyia evansi* (Diptera: Psychodidae) in Colombia. *Rev Soc Entomol Argent*. 2009;68:135-41.
57. Cortés LA, Fernández J. Especies de *Lutzomyia* en un foco urbano de leishmaniasis visceral y cutánea en El Carmen de Bolívar, Bolívar, Colombia. *Biomédica*. 2008;28:433-40. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v28i3.81>
58. Lambraño Cruz LF, Manjarrez Pinzón G, Bejarano Martínez EE. Variación temporal de especies de *Lutzomyia* (Diptera: Psychodidae) en el área urbana de Sincelejo (Colombia). *Salud Uninorte*. 2012;28:191-200.
59. Rivero ME, Pérez AJ, Bejarano EE. Detección de *Leishmania* spp. en población canina (*Canis familiaris*) del área urbana del municipio de Ovejas, Sucre (tesis). Sincelejo: Universidad de Sucre, 2016. p. 102.
60. Montoya-Lerma J, Cadena H, Oviedo M, Ready PD, Barazarte R, Travi BL, *et al*. Comparative vectorial efficiency of *Lutzomyia evansi* and *Lu. longipalpis* for transmitting *Leishmania chagasi*. *Acta Trop*. 2003;85:19-29. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(02\)00189-4](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(02)00189-4)
61. Travi B, Ferro C, Cadena H, Montoya-Lerma J, Adler GH. Canine visceral leishmaniasis: Dog infectivity to sand flies from non-endemic areas. *Res Vet Sci*. 2002;72:83-6. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2001.0527>
62. Rivero Rodríguez ME, Rodríguez Jiménez JL, Pérez-Doria AJ, Bejarano Martínez EE. Aislamiento de *Leishmania infantum* a partir de *Canis familiaris* en área urbana del Caribe colombiano. *Rev Investig Vet Perú*. 2018;29:923-30. <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/13708>
63. Arbeláez N, Moreno J, Murillo J, Montoya A, Robledo SM, Vélez A, *et al*. First report of an urban case of canine visceral leishmaniasis in the municipality of Cali, Colombia. *Am J Trop Med Hyg*. 2020;102:289-93. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0515>
64. Jaimes-Dueñez J, Jiménez-Leaño AP, Esteban-Mendoza M, Moreno-Salcedo LA, Triana-Chávez O, Cantillo-Barraza O. Epidemiological and clinical characteristics of *Trypanosoma cruzi* infection in dogs (*Canis lupus familiaris*) from a Chagas disease-endemic urban area in Colombia. *Prev Vet Med*. 2020;182:105093. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105093>
65. Manrique-Abril D, Manrique-Abril F, Lorca M, Ospina J. Prevalence of antibodies for *Trypanosoma cruzi* in canines from two endemic municipalities of Boyacá. *Rev MVZ Córdoba*. 2012;17:2916-23.
66. Gobernación de Sucre. Por lo menos, 20 profesionales de la Secretaría de Salud estarán este 10 de enero en El Sitio. Fecha de consulta: 1 de agosto de 2020. Disponible en: <http://www.sucre.gov.co/noticias/por-lo-menos-20-profesionales-de-la-secretaria-de-salud>
67. de Oliveira-Porfirio GE, Martins Santos FM, Carvalho de Macedo G, Gomes Barreto WT, Campos JBV, Meyers AC, *et al*. Maintenance of *Trypanosoma cruzi*, *T. evansi* and *Leishmania* spp. by domestic dogs and wild mammals in a rural settlement in Brazil-Bolivian border. *Int J Parasitol Parasites Wildl*. 2018;7:398-404. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.10.004>
68. Fernández AR, Pimenta CL, Vidal IF, Oliveira GC, Sartori RS, Araujo RB, *et al*. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2016;25:90-8. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016010>
69. Gürtler RE, Cecere MC, Lauricella MA, Cardinal MV, Kitron U, Cohen JE. Domestic dogs and cats as sources of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology*. 2007;134:69-82. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001259>

Artículo original

## Sincronización entre la videodeglución y la electromiografía de superficie en pacientes con afectación neurológica y síntomas de disfagia

Laura V. Suárez-Patiño<sup>1</sup>, Andrés Orozco-Duque<sup>1</sup>, Estefanía Pérez-Giraldo<sup>2</sup>, Sebastián Roldán-Vasco<sup>2,3</sup>, Juan Camilo Suárez-Escudero<sup>1,4</sup>, Lillyana Martínez-Moreno<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Ingenierías, Instituto Tecnológico Metropolitano, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Facultad de Medicina, Escuela de Ciencias de la Salud, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Rehabilitación Integral, OFA IPS, Organización Fonoaudiológica E.U., Medellín, Colombia

**Introducción.** La disfagia se define como la dificultad para movilizar la comida desde la boca hasta el estómago. La prueba diagnóstica para esta condición es la videofluoroscopia, la cual no es totalmente inocua pues utiliza radiación ionizante. La electromiografía de superficie registra la actividad eléctrica de los músculos de manera no invasiva, por lo que puede considerarse como una alternativa para evaluar la deglución y estudiar la disfagia.

**Objetivo.** Evaluar la relación entre los tiempos relativos de activación de los músculos implicados en la fase oral y faríngea de la deglución, con los movimientos registrados durante la videofluoroscopia.

**Materiales y métodos.** Se analizaron las señales de la electromiografía de superficie de 10 pacientes neurológicos con síntomas de disfagia, captadas en forma simultánea con la videofluoroscopia. Se suministraron 5 ml de yogur y 10 ml de agua, y 3 g de galleta. Se estudiaron bilateralmente los grupos musculares maseteros, suprahioides e infrahioides. Se analizó el paso del bolo por la línea mandibular, las vallecúlas y el músculo cricofaríngeo, correlacionándolo con el tiempo inicial y el final de la activación de cada uno de los grupos musculares.

**Resultados.** El tiempo promedio de la fase faríngea fue de  $0,89 \pm 0,12$  s. En la mayoría de los casos, hubo activación muscular antes del paso por la línea mandibular y las vallecúlas. La terminación de la actividad muscular parece corresponder al momento en que se completa el paso del bolo alimenticio por el músculo cricofaríngeo.

**Conclusión.** Se determinaron los tiempos de actividad muscular, la duración de la fase faríngea y la secuencia de la activación de los grupos musculares involucrados en la deglución, mediante electromiografía de superficie, validada con la videofluoroscopia.

**Palabras clave:** trastornos de deglución; manifestaciones neurológicas; procesamiento de señales asistido por computador; electromiografía; esclerosis múltiple; enfermedad de Parkinson.

### Synchronization between videofluoroscopic swallowing study and surface electromyography in patients with neurological involvement presenting symptoms of dysphagia

**Introduction:** Dysphagia is defined as the difficulty in transporting food and liquids from the mouth to the stomach. The gold standard to diagnose this condition is the videofluoroscopic swallowing study. However, it exposes patients to ionizing radiation. Surface electromyography is a non-radioactive alternative for dysphagia evaluation that records muscle electrical activity during swallowing.

**Objective:** To evaluate the relationship between the relative activation times of the muscles involved in the oral and pharyngeal phases of swallowing and the kinematic events detected in the videofluoroscopy.

**Materials and methods:** Electromyographic signals from ten patients with neurological involvement who presented symptoms of dysphagia were analyzed simultaneously with videofluoroscopy. Patients were given 5 ml of yogurt, 10 ml of water, and 3 g of crackers. Masseter, suprahyoid, and infrahyoid muscle groups were studied bilaterally. The bolus transit through the mandibular line, vallecula, and the cricopharyngeus muscle was analyzed in relation to the onset and offset times of each muscle group activation.

**Results:** The average time of the pharyngeal phase was  $0.89 \pm 0.12$  s. Muscle activation was mostly observed prior to the bolus transit through the mandibular line and vallecula. The end of the muscle activity suggested that the passage of the bolus through the cricopharyngeus muscle was almost complete.

**Recibido:** 27/01/2022  
**Aceptado:** 11/10/2022  
**Publicado:** 12/10/2022

#### Citación:

Suárez-Patiño LV, Orozco-Duque A, Pérez-Giraldo E, Roldán-Vasco S, Suárez-Escudero JC, Martínez-Moreno L. Sincronización entre la videodeglución y la electromiografía de superficie en pacientes con afectación neurológica y síntomas de disfagia Biomédica. 2022;42:650-64.  
<https://doi.org/10.7705/biomedica.6446>

#### Correspondencia:

Laura Vanessa Suárez, Facultad de Ciencias Exactas y Aplicadas, Instituto Tecnológico Metropolitano, Calle 73 N° 76A-354, Medellín, Colombia  
Teléfono: (604) 440 51 00  
laurasuarez238530@correo.itm.edu.co

#### Contribución de los autores:

Laura V. Suárez-Patiño: recolección de datos, implementación de algoritmos, conceptualización, diseño metodológico, revisión y análisis de los resultados  
Andrés Orozco-Duque y Sebastián Roldán-Vasco: conceptualización, diseño metodológico y análisis de los resultados  
Estefanía Pérez: conceptualización y diseño metodológico  
Juan Camilo Suárez-Escudero y Lillyana Martínez-Moreno: conceptualización, revisión y análisis de los resultados  
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Este trabajo se encuentra financiado por la convocatoria conjunta de proyectos de I+D+i (investigación, desarrollo e innovación), en el marco de la agenda regional de I+D+i, proyecto G8 PE 2020-9, Medellín, Colombia.

#### Conflicto de intereses:

Los autores no declaran conflicto de intereses.

**Conclusión:** The muscle activity times, duration of the pharyngeal phase, and sequence of the muscle groups involved in swallowing were determined using sEMG validated with the videofluoroscopic swallowing study.

**Keywords:** deglutition disorders; neurologic manifestations; signal processing, computer-assisted; electromyography; multiple sclerosis; Parkinson's disease.

La deglución es un proceso fisiológico muy bien coordinado, que involucra varias conexiones a nivel neurológico y muscular para un eficiente y seguro transporte de líquidos y alimentos desde la boca hasta el estómago (1). La deglución consta de cuatro etapas: preparatoria oral, propulsiva oral, faríngea y esofágica. Cada etapa es regulada por diferentes centros neurológicos y funciones neuromusculares que reconfiguran la faringe de forma precisa, para poder cumplir con el acto de tragar (2,3).

La disfagia, o trastorno de la deglución, es la dificultad para movilizar de manera segura y eficaz el bolo alimenticio desde la cavidad oral hasta el estómago (1,4). Es de alta prevalencia, se presenta a cualquier edad y lo puede hacer de manera aislada o acompañando un amplio espectro de enfermedades. La disfagia puede afectar hasta el 12 % de la población general (5), llegando a tener una prevalencia de hasta el 33 % en adultos mayores (6,7). Según la localización fisiológica del trastorno, se clasifica en orofaríngea o esofágica. Además, se puede clasificar en disfagia de origen estructural, motora, iatrogénica o funcional, de acuerdo con su etiología (8).

La incidencia mundial de la disfagia funcional de origen neurológico se encuentra entre 400.000 y 800.000 casos al año (9). Por esta razón, la disfagia –en especial la orofaríngea–, se asocia frecuentemente a trastornos neurológicos como accidentes cerebrovasculares, enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson, y procesos autoinmunitarios como la esclerosis múltiple; a su vez, estas condiciones son más prevalentes en la población de adultos mayores (10).

La disfagia produce diversos síntomas y signos que permiten detectarla, y establecer el déficit fisiológico asociado y su gravedad, mediante métodos de tamización, evaluaciones clínicas de la deglución y métodos instrumentales (8).

La disfagia puede detectarse mediante pruebas clínicas o métodos instrumentales (11). Los métodos instrumentales más empleados son la videofluoroscopia (*VideoFluoroscopic Swallowing Study*, VFSS) y la endoscopia (*Fiber Endoscopic Evaluation of Swallowing*, FEES) (12), las cuales permiten detectar alguna aspiración o penetración o alteraciones funcionales de la región implicada (9). El método diagnóstico de referencia para esta condición es la videofluoroscopia de la deglución (13); sin embargo, esta técnica no es inocua pues expone al paciente a radiación ionizante (14).

Lo anterior es suficiente razón para explorar otras alternativas no invasivas, como la electromiografía de superficie, técnica diseñada para registrar la actividad eléctrica de los músculos mediante electrodos superficiales (15-17). La electromiografía de superficie se ha utilizado para evaluar la disfagia (18) y detectar patrones de actividad muscular; además, diversos autores la han utilizado para evaluar la fisiología de la deglución (Chou W, Ou CZ, Lin BS, Ko MJ, Hu SP, Ting YM, *et al.* Wireless and wearable monitoring device for dysphagia evaluation. In: 2015 IEEE MTT-S International Microwave Workshop Series on RF and Wireless Technologies for Biomedical and Healthcare Applications, IMWS-BIO 2015 - Proceedings. Taiwan: IEEE MTT; 2015. p. 174-7.), tanto para la rehabilitación (15), el diagnóstico (19,20)

duration from the maximum amplitude to the end of the swallowing activity (duration B y el análisis de la coordinación de la fase oral de la deglución (21,22). De esta manera, la electromiografía de superficie ofrece una alternativa no invasiva y de fácil acceso que eliminaría el impacto de los riesgos asociados con la radiación ionizante (11).

A pesar de que varias investigaciones (19,21,23) (Chou W, Ou CZ, Lin BS, Ko MJ, Hu SP, Ting YM, et al. Wireless and wearable monitoring device for dysphagia evaluation. In: 2015 IEEE MTT-S International Microwave Workshop Series on RF and Wireless Technologies for Biomedical and Healthcare Applications, IMWS-BIO 2015 - Proceedings. Taiwan: IEEE MTT; 2015. p. 174-7); Saijo R, Saotome K, Jayatilake D, Suzuki K. EMG signals based modelling of the initial phase of the swallowing process. 8th International IEEE/EMBS Conference on Neural Engineering, NER 2017, Shanghai, China, May 25-28, 2017. IEEE, 2017. 2017;78-81), revelan el potencial de esta técnica para el estudio de patrones deglutorios, la electromiografía de superficie no se utiliza aún ni para evaluar la deglución ni para diagnosticar la disfagia en entornos clínicos, ya que con ella solo se pueden describir indirectamente los procesos musculares involucrados en la deglución, dado que es limitado el seguimiento de la actividad muscular regional y no es posible aislar músculos u otras regiones para evaluarlos (24). Esto hace necesario validar la técnica mediante pruebas de referencia, con el fin de estandarizar su uso en la práctica clínica (17).

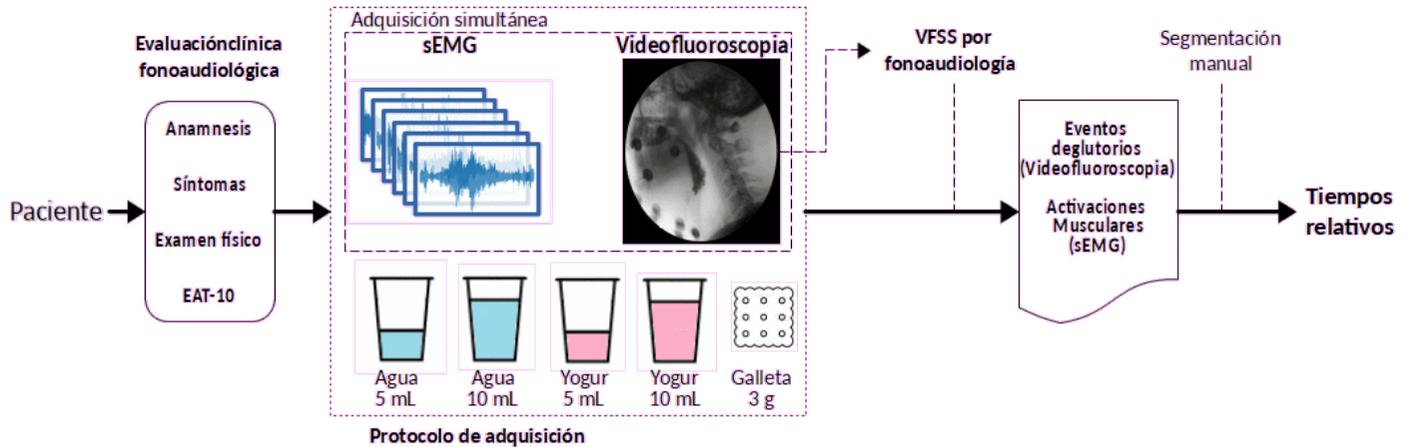
La carencia de estudios que validen este tipo de electromiografía, en combinación con pruebas instrumentales de referencia para evaluar la deglución, motiva el presente estudio preliminar sobre la sincronización entre las imágenes de la videofluoroscopia y las señales de la electromiografía de superficie, en pacientes neurológicos con síntomas de disfagia, puesto que permite evaluar los tiempos de activación de los músculos implicados en la fase oral y la faríngea de la deglución, con respecto a los movimientos detectados en la videofluoroscopia.

## **Materiales y métodos**

El presente estudio, observacional y de corte transversal, incluyó pacientes con afectación neurológica que presentaban síntomas de disfagia, a los cuales se les practicó una videofluoroscopia simultáneamente con una electromiografía de varios grupos musculares. En el esquema metodológico empleado, una vez seleccionado el paciente, se hizo la evaluación fonaudiológica con un examen clínico centrado en la deglución, seguido de la utilización del instrumento EAT-10 (*Eating Assessment Tool*) (figura 1). Posteriormente, se siguió un protocolo para obtener al mismo tiempo los datos de ambos estudios y evaluar la deglución (figura 1).

### **Reclutamiento de pacientes**

Se seleccionaron 10 pacientes adultos que hacían parte de un estudio de cohorte sobre la disfagia orofaríngea funcional de causas neurológicas y neuromusculares. Para ser seleccionado, el paciente debía tener diagnóstico de enfermedad neurológica central (enfermedad de Parkinson o esclerosis múltiple con patrón clínico de recaída y remisión) y síntomas de disfagia, con un puntaje de tres o más en el EAT-10. Se tomó como criterio de exclusión, el haber sido sometido a videofluoroscopia durante el año inmediatamente anterior a este estudio, o tener enfermedades del sistema nervioso periférico o enfermedades neuromusculares.



VFSS: *Videofluoroscopic Swallowing Study*

**Figura 1.** Esquema metodológico del estudio

### Examen clínico

Antes de la electromiografía, una fonaudióloga con experiencia y entrenamiento en deglución y disfagia hizo la evaluación clínica y se utilizó el EAT-10 validado en español para Colombia (25).

El EAT-10 es un instrumento analógico verbal, unidimensional, simple y de utilización breve, autoadministrado y de puntuación directa, que permite evaluar síntomas específicos de disfagia y el establecimiento inicial de la gravedad del síntoma (26). Posee un puntaje que va desde cero (“ningún problema”) hasta 40 (“mayor dificultad o percepción de la disfagia”). Se tomó como criterio de inclusión un puntaje del EAT-10 de 3 o más, debido a que es el punto de corte con mejor equilibrio entre sensibilidad y especificidad para la disfagia orofaríngea (27).

Los datos se obtuvieron en la IPS Hernán Ocazonez (Medellín, Colombia). De cada paciente, se obtuvo el consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Pontificia Bolivariana, sede Medellín, reunido el 14 de septiembre del 2020 (acta N°19 de 2020).

### Adquisición de señales e imágenes

Se registraron las señales bilaterales en los músculos maseteros (derecho e izquierdo: RM y LM), suprahioides (derecho e izquierdo: RSH y LSH) e infrahioides (derecho e izquierdo: RIH y LIH) (figura 2).

La activación de los últimos grupos musculares observada en la electromiografía es clave en la elevación mecánica superior y el desplazamiento anterior de la laringe (28), parámetro que se utiliza a la hora de interpretar la videofluoroscopia. Para la adquisición de las señales eléctricas, se utilizaron electrodos de superficie de referencia Ag/AgCl (3M® 2228) de 30 x 35 mm, 15 mm de diámetro en el área de gel y distancia de 25 mm entre electrodos.

La videofluoroscopia se practicó con el electromiógrafo Ultium™ EMG (Noraxon, USA), el cual se sincronizó con un arco en C (OEC Fluorostar, GE Healthcare) mediante conexión por puerto DVI (*Digital Visual Interface*). Cada paciente ingirió 5 ml de un líquido espeso (yogur) y 10 ml de un líquido claro (agua), así como 3 g de sólido seco (galleta). El protocolo no incluyó la

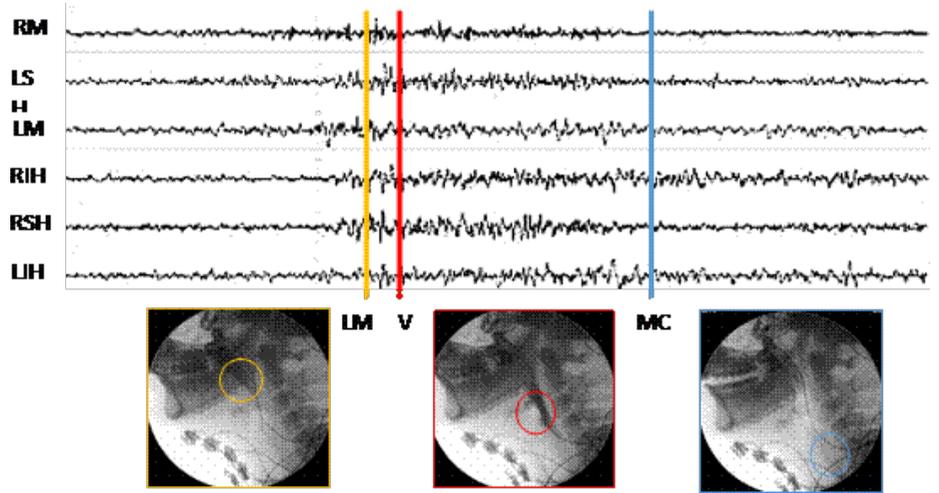
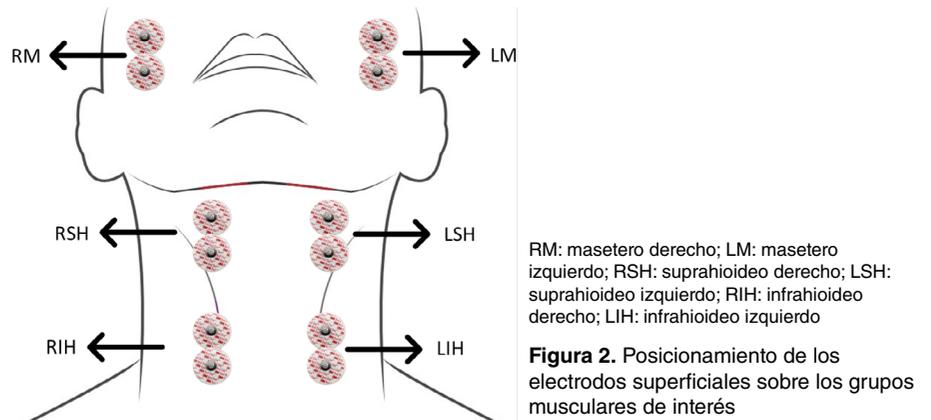
alimentación a libre demanda por parte del paciente. Se usó sulfato de bario como medio de contraste (E-Z-HD™). La deglución se evaluó en vista lateral, evitando la superposición visual de los electrodos de la electromiografía con las de estructuras anatómicas implicadas en la deglución.

Se aplicó un filtro pasabandas a cada una de las señales electromiográficas, con frecuencias de corte entre 90 y 250 Hz. Estas frecuencias se eligieron teniendo en cuenta lo descrito por Restrepo, et al., en el 2017 (29).

**Segmentación de señales**

Con ayuda de fonoaudiólogos entrenados en deglución y disfagia, se validó la calidad de cada uno de los videos obtenidos y se determinaron los tiempos en el que el bolo alimenticio inicia la trayectoria en la boca, desciende por la faringe y llega a la porción proximal del esófago. Las imágenes de la videofluoroscopia se utilizaron para detectar tres momentos deglutorios: paso por la línea mandibular, paso por las vallecúlas epiglóticas y paso por el músculo cricofaríngeo o complejo del esfínter esofágico superior.

Se establecieron marcadores de los tiempos en que sucede cada uno de estos eventos, con el propósito de validar si el paso del alimento por los puntos marcados corresponde a una activación muscular. Bajo visión videofluoroscópica, se posicionaron tres marcadores de eventos sobre una señal electromiográfica multicanal de los seis diferentes grupos musculares evaluados (figura 3).



Se identificó el tiempo en el cual el alimento pasó por la línea mandibular, las vallecúlas y el músculo cricofaríngeo; y se reconoció el momento en que las señales electromiográficas mostraron inicio y fin de la actividad muscular (*onset* y *offset*, respectivamente). Se calcularon las diferencias de tiempo asociadas con: *onset* y paso por la línea mandibular, *onset* y paso por las vallecúlas, *offset* y paso por la línea mandíbula, y *offset* y paso por el músculo cricofaríngeo. Además, se calculó la duración del segmento de activación de la señal electromiográfica y la duración de la fase faríngea. Finalmente, se calculó la media de dichos datos con su respectiva desviación estándar, con el fin de evaluar la relación entre los registros de las señales eléctricas y los de los momentos fisiológicos en la videofluoroscopia. El paso del alimento por la línea mandibular se estableció como punto de referencia.

Se utilizó la prueba U de Mann-Whitney U para comparar los diferentes tiempos relativos con la duración de la actividad muscular y la de la fase faríngea, y relacionarlos con las diferentes consistencias y volúmenes del bolo alimenticio.

## Resultados

### Descripción clínica

Las características clínicas de los pacientes se resumen en el cuadro 1. Este grupo de pacientes se encuentra pareado por sexo (5 hombres y 5 mujeres), con una edad promedio de  $58 \pm 8$  años. Cada uno de los pacientes recibió alimentación por vía oral en el momento de la prueba.

**Cuadro 1.** Características clínicas de los pacientes

Código	Sexo	Edad	Diagnóstico	Años de evolución del diagnóstico	Comorbilidades	Tolerancia a líquidos claros y espesos*	Tolerancia a sólidos secos*	Sitio sensación de atascamiento comida*	Puntaje total EAT-10**
01	F	52	EM	6	Reflujo gastroesofágico, disautonomía	Sí	No	Cuello	12
02	F	56	EM	19	Hipotiroidismo, linfedema de miembros inferiores, reflujo gastroesofágico, bypass gástrico hace 12 años	Sí	No	No	12
03	F	50	EM	17	Marcha alterada, fasciculaciones linguales	Sí	No	Cuello	22
04	M	42	EP	6	Disartria	Sí	Sí	Cuello	18
05	M	61	EP	10	Reflujo gastroesofágico, disfonía	Sí	No	Cuello	19
06	M	64	EP	4	Apnea obstructiva del sueño, disautonomía, fonastenia	Sí	No	Tórax	23
07	F	67	EP	2	Hipertensión arterial, dislipidemia, hipotiroidismo, gastritis crónica	Sí	No	Boca	15
08	M	64	EP	3	Trastorno depresivo y ansiedad, infecciones urinarias a repetición, marcha alterada, disartria	Sí	No	Boca	26
09	M	66	EP	4	Trastorno de ansiedad, disartria, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, bypass coronario más cuatro stent, síndrome de apnea obstructiva del sueño, hipertensión arterial, hernia hiatal operada hace 10 años, epiglotitis con drenaje quirúrgico, Marcha alterada, disartria y fasciculaciones linguales	Sí	No	No	12
10	F	52	EM	7	Sí	Sí	No	No	11

F: femenino; M: masculino; EM: esclerosis múltiple; EP: enfermedad de Parkinson

\* Dato reportado por el paciente

\*\* EAT-10: *Eating Assessment Tool-10*

Ningún paciente recibía oxígeno suplementario, ni tenía gastrostomía ni colostomía durante la prueba. Ninguno se encontraba en rehabilitación mediante terapia respiratoria o terapia para la deglución, en el momento inmediatamente anterior a la práctica de la prueba. Un paciente (código 09) se encontraba activo en terapia física. Ninguno de los pacientes había sido sometido a intubación durante más de una semana o a traqueostomía en los últimos seis meses, ni tampoco había sufrido neumonía por aspiración.

Todos los pacientes fueron evaluados mediante videofluoroscopia, cumpliendo el protocolo establecido (cuadro 2).

Hubo seis pacientes con enfermedad de Parkinson, con dos o más años de evolución, y cuatro pacientes con esclerosis múltiple, con seis o más años de evolución (cuadro 1).

El promedio del puntaje del EAT-10 de todos los pacientes en general, fue de 17 puntos, mientras que, en aquellos con enfermedad de Parkinson, fue de 18,83, y en aquellos con esclerosis múltiple, fue de 14,25. El puntaje más alto de autopercepción de síntomas se obtuvo en: los pacientes con código 03 (diagnóstico de esclerosis múltiple con fasciculaciones linguales y compromiso de la función faríngea en la videofluoroscopia con alimentos de consistencia espesa o sólida); en aquellos con código 06 (diagnóstico de enfermedad de Parkinson con fonostenia y sin alteración de la deglución en la videofluoroscopia, sin importar la consistencia del alimento) y, finalmente, pacientes con código 08 (diagnóstico de enfermedad de Parkinson con disartria y alteración de la función oral y faríngea durante la deglución en la videofluoroscopia). Se debe tener presente que los síntomas de disfagia no confirman una alteración de la deglución.

Mediante la videofluoroscopia, se confirmó que la deglución era normal en los pacientes con código 02 (esclerosis múltiple) o código 06 (enfermedad de Parkinson), y estaba alterada por compromiso de la función faríngea, en aquellos con códigos 01, 03, 04, 05, 09 o 10. Además, hubo alteración de la deglución en un paciente con código 07 por compromiso de la función oral y, en otro con código 08, por compromiso de la función oral y faríngea.

**Cuadro 2.** Resultados de la videodeglución en cada paciente

Código	Resultado VFSS
01	Alteración en función faríngea con episodios de acumulación en estructuras faríngeas con consistencias espesas y sólidas. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes
02	Sin alteración en biomecánica deglutoria con consistencia espesa, líquida o sólida. Adecuada eficacia y eficiencia deglutorias. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes
03	Alteración en función faríngea con episodios de acumulación en estructuras faríngeas con consistencias espesas y sólidas. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes
04	Alteración en función faríngea, disfagia de tipo neurogénica. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes.
05	Alteración en función faríngea con episodios de acumulación en estructuras faríngeas con consistencias espesas y sólidas. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes
06	Sin alteración en función faríngea con episodios de acumulación en estructuras faríngeas, con consistencias espesas y sólidas. Adecuada eficacia y eficiencia deglutoria. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes
07	Función oral de la deglución con proceso oromotor lento, falta de fuerza y movilidad en la ejecución de <i>praxias oromotoras</i> . Presenta derrame anterior y degluciones fraccionadas. Aumento de latencia con todas las consistencias. Sin alteración en función faríngea de la deglución. Adecuada eficacia y eficiencia deglutoria. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes.
08	Alteración en función oral de la deglución con pobre control de saliva en cavidad oral y proceso oromotor con falta de fuerza, movilidad y coordinación. Alteración en función faríngea con episodios de acumulación en estructuras faríngeas, con consistencias espesas y sólidas. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes.
09	Alteración en función faríngea, con episodios de acumulación en estructuras faríngeas con consistencias espesas. Adecuada funcionalidad faríngea, con consistencias líquidas y sólidas. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes.
10	Alteración en función faríngea con episodios de acumulación en estructuras faríngeas con consistencias espesas. Adecuada funcionalidad faríngea con consistencias líquidas y sólidas. Sin episodios de penetración, broncoaspiración ni aspiraciones silentes.

En general, la disfagia en los pacientes del presente estudio no era grave, pues la vía de alimentación era oral, sin gastrostomía u otras vías alternas de alimentación; además, en ninguno se observaron episodios de penetración o broncoaspiración, ni aspiraciones silentes.

### Análisis de señales

A continuación, se presentan los resultados de los tiempos relativos promedio entre *onset* y *offset* de las activaciones musculares y los eventos deglutorios observados por videofluoroscopia. Dichos resultados se basan en los promedios de todos los pacientes; en general, se observó una gran variabilidad.

A partir de la medición de los tiempos relativos, se observó que, en la mayoría de los grupos musculares y las tareas deglutorias, ocurrió una activación previa con respecto al punto de referencia (paso por la línea mandibular). Esto se evidencia con el promedio de tiempo negativo entre el *onset* de la activación muscular y el paso por la línea mandibular (cuadros 3, 4 y 5).

**Cuadro 3.** Duración en segundos del tiempo transcurrido entre los puntos marcados para cada uno de los grupos musculares para la deglución de yogur

	Grupo muscular	Onset- Paso LM	Onset- Paso V	Offset -Paso LM	Offset- Paso MC	Duración sEMG	Duración fase faríngea por VFSS
Yogur 5 ml	RM	-0,26 ± 0,31	-0,45 ± 0,24	0,61 ± 0,41	-0,25 ± 0,32	0,87 ± 0,44	0,87 ± 0,25
	LM	-0,41 ± 0,74	-0,60 ± 0,70	0,38 ± 0,64	-0,49 ± 0,55	0,79 ± 0,49	
	RSH	-0,03 ± 0,44	-0,22 ± 0,44	0,96 ± 0,87	0,10 ± 0,85	0,99 ± 0,47	
	LSH	0,04 ± 0,61	-0,15 ± 0,60	1,04 ± 0,70	0,17 ± 0,67	1,00 ± 0,30	
	RIH	-0,10 ± 0,41	-0,29 ± 0,32	1,19 ± 0,94	0,32 ± 0,85	1,29 ± 1,02	
	LIH	-0,10 ± 0,38	-0,31 ± 0,30	1,25 ± 0,90	0,39 ± 1,04	1,38 ± 0,89	
Yogur 10 ml	RM	-0,81 ± 0,88	-0,91 ± 0,93	0,01 ± 1,00	-0,82 ± 1,04	0,81 ± 0,36	0,83 ± 0,19
	LM	-0,72 ± 0,83	-0,83 ± 0,87	-0,07 ± 1,02	-0,90 ± 1,02	0,65 ± 0,41	
	RSH	-0,38 ± 0,84	-0,48 ± 0,84	0,72 ± 0,39	-0,11 ± 0,39	1,09 ± 1,12	
	LSH	-0,41 ± 0,85	-0,51 ± 0,86	0,85 ± 0,53	0,02 ± 0,55	1,26 ± 1,32	
	RIH	-0,31 ± 0,88	-0,42 ± 0,88	0,76 ± 0,45	-0,07 ± 0,41	1,07 ± 1,17	
	LIH	-0,31 ± 0,91	-0,41 ± 0,91	0,79 ± 0,45	-0,03 ± 0,41	1,10 ± 1,20	

VFSS: Videofluoroscopic Swallowing Study

Paso LM: paso por línea mandibular; paso V: paso por valléculas; paso MC: paso por músculo cricofaríngeo; sEMG: electromiografía de superficie; VFSS: videofluoroscopia; RM: masetero derecho; LM: masetero izquierdo; RSH: suprahiodeo derecho; LSH: suprahiodeo izquierdo; RIH: infrahiodeo derecho; LIH: infrahiodeo izquierdo

**Cuadro 4.** Duración del tiempo medido en segundos entre los puntos marcados para cada uno de los grupos musculares para la deglución de agua

	Grupo muscular	Onset- Paso LM	Onset- Paso V	Offset -Paso LM	Offset- Paso MC	Duración EMG	Duración fase faríngea por VFSS
Agua 5 ml	RM	-0,45 ± 0,98	-0,60 ± 0,99	0,68 ± 1,12	-0,14 ± 1,14	1,13 ± 0,77	0,82 ± 0,14
	LM	-0,76 ± 0,83	-0,90 ± 0,81	0,39 ± 0,47	-0,44 ± 0,49	1,14 ± 0,93	
	RSH	-0,18 ± 0,64	-0,32 ± 0,66	0,74 ± 0,47	-0,08 ± 0,49	0,92 ± 0,42	
	LSH	-0,18 ± 0,89	-0,32 ± 0,91	0,82 ± 0,42	-0,01 ± 0,48	0,99 ± 0,75	
	RIH	-0,23 ± 0,56	-0,37 ± 0,55	0,75 ± 0,36	-0,07 ± 0,40	0,98 ± 0,41	
	LIH	-0,33 ± 0,58	-0,47 ± 0,56	0,87 ± 0,57	0,04 ± 0,56	1,19 ± 0,80	
Agua 10 ml	RM	-0,72 ± 0,79	-0,82 ± 0,80	0,54 ± 0,46	-0,27 ± 0,55	1,26 ± 1,13	0,81 ± 0,28
	LM	-0,80 ± 0,81	-0,91 ± 0,82	0,47 ± 0,47	-0,34 ± 0,53	1,27 ± 1,16	
	RSH	-0,37 ± 0,90	-0,48 ± 0,91	1,06 ± 0,70	0,25 ± 0,81	1,43 ± 1,37	
	LSH	-0,43 ± 0,92	-0,53 ± 0,94	1,24 ± 0,75	0,43 ± 0,63	1,37 ± 1,34	
	RIH	-0,55 ± 0,90	-0,65 ± 0,91	0,85 ± 0,63	0,04 ± 0,72	1,41 ± 1,18	
	LIH	-0,37 ± 0,90	-0,47 ± 0,92	1,11 ± 0,57	0,29 ± 0,52	1,47 ± 1,13	

VFSS: Videofluoroscopic Swallowing Study

Paso LM: paso por línea mandibular; Ppaso V: paso por valléculas; paso MC: paso por músculo cricofaríngeo; sEMG: electromiografía de superficie; VFSS: videofluoroscopia; RM: masetero derecho; LM: masetero izquierdo; RSH: suprahiodeo derecho; LSH: suprahiodeo izquierdo; RIH: infrahiodeo derecho; LIH: infrahiodeo izquierdo

**Cuadro 5.** Duración del tiempo medido en segundos entre los puntos marcados para cada uno de los grupos musculares para la deglución de galleta

	Grupo muscular	Onset- Paso LM	Onset- Paso V	Offset -Paso LM	Offset- Paso MC	Duración EMG	Duración fase faríngea por VFSS
Galleta	RM	-0,63 ± 0,58	-0,86 ± 0,51	0,65 ± 0,49	-0,47 ± 0,27	1,27 ± 0,37	1,12 ± 0,46
	LM	-0,70 ± 0,72	-0,94 ± 0,65	0,63 ± 0,55	-0,48 ± 0,46	1,33 ± 0,65	
	RSH	-0,51 ± 0,54	-0,75 ± 0,56	0,93 ± 0,54	-0,19 ± 0,52	1,44 ± 0,83	
	LSH	-0,44 ± 0,48	-0,68 ± 0,50	0,92 ± 0,60	-0,20 ± 0,63	1,36 ± 0,77	
	RIH	-0,10 ± 0,38	-0,33 ± 0,21	1,37 ± 1,39	0,25 ± 1,18	1,47 ± 1,15	
	LIH	-0,09 ± 0,37	-0,33 ± 0,21	1,47 ± 1,78	0,35 ± 1,61	1,56 ± 1,52	

VFSS: *Videofluoroscopic Swallowing Study*

Paso LM: paso por línea mandibular; paso V: paso por valéculas; paso MC: paso por músculo cricofaríngeo; sEMG: electromiografía de superficie; VFSS: videofluoroscopia; RM: masetero derecho; LM: masetero izquierdo; RSH: suprahiodeo derecho; LSH: suprahiodeo izquierdo; RIH: infrahiodeo derecho; LIH: infrahiodeo izquierdo

Los resultados muestran la bilateralidad del proceso, dado que los tiempos de activación de los pares de grupos musculares tienden a ser similares. Mediante la prueba U de Mann-Whitney, se observa que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tiempos de activación de los músculos maseteros ( $p=0,18$ ), suprahiodeos ( $p=0,47$ ) o infrahiodeos ( $p=0,4$ ), al comparar el lado derecho con el izquierdo.

Para la mayoría de las tareas deglutorias, con excepción de los 5 ml de líquido claro y de líquido espeso, el proceso se inicia por activación de los músculos maseteros, seguidos de los suprahiodeos y, finalmente, de los infrahiodeos. Con los bolos líquidos de 5 ml, no fue tan clara la activación preliminar de los suprahiodeos frente a los infrahiodeos (cuadros 3 y 4).

Para los diferentes grupos musculares, existe activación previa al paso del alimento por la línea mandibular y por las valéculas, a excepción del suprahiodeo izquierdo con 5 ml de líquido espeso, el cual se activó después del paso por la línea mandibular. Se observó que el fin de la actividad de los músculos infrahiodeos está más cerca del paso por el músculo cricofaríngeo, que la de los suprahiodeos y los maseteros (cuadros 3-5).

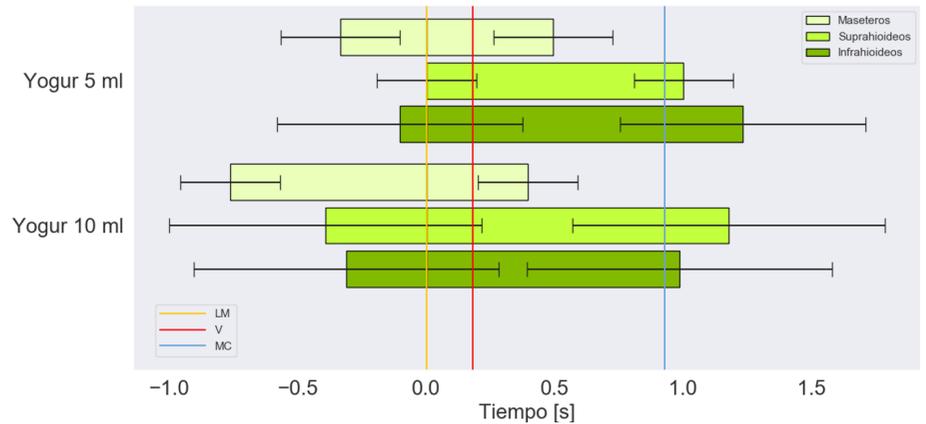
Durante la ingestión del sólido seco, el final de la actividad muscular de los infrahiodeos sufrió un retardo en relación con la deglución de líquidos. Sin embargo, estos músculos se desactivaron después del paso del alimento por el punto del músculo cricofaríngeo (cuadro 4).

Por otra parte, la duración de la fase faríngea es más prolongada con los volúmenes de 5 ml que con los de 10 ml (cuadros 3 y 4).

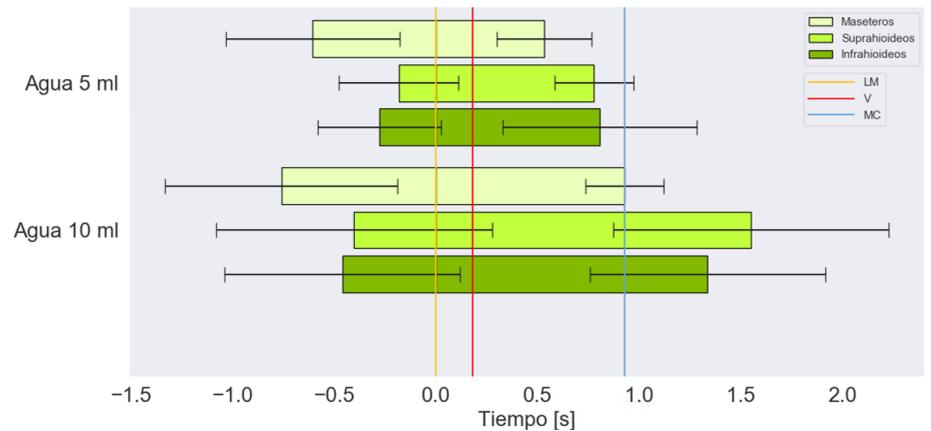
En las figuras 4, 5 y 6, se muestra el tiempo de activación de los grupos musculares bilaterales respecto a las diferentes consistencias y volúmenes, y, además, el registro del momento en el que el alimento pasa por la línea mandibular, las valéculas y el músculo cricofaríngeo.

El tiempo de activación más prolongado se presentó con los 10 ml de líquido espeso. Se observó que, con ambos volúmenes, los grupos musculares tienden a iniciar su activación antes de que el alimento pase por la línea mandibular, aunque con 5 ml de líquido espeso, los suprahiodeos se activan casi en forma simultánea con el paso del bolo por dicho punto (figura 4).

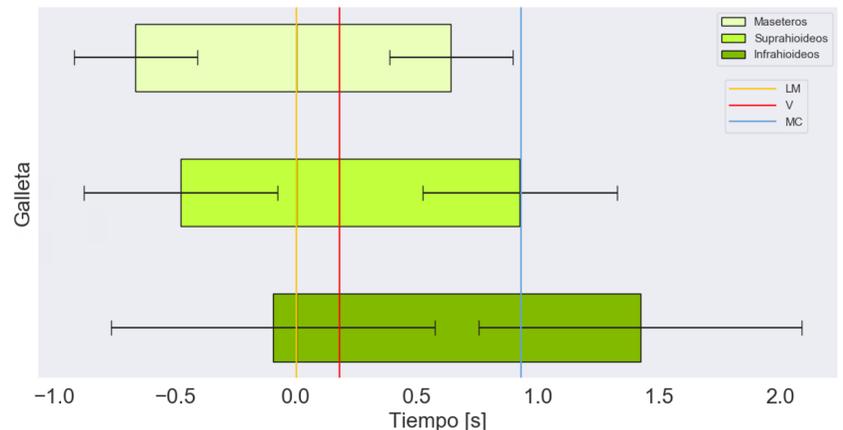
Con ambos volúmenes, se observa que los maseteros se encontraban inactivos antes del paso del alimento por el músculo cricofaríngeo; además, las desviaciones estándar más grandes se relacionaron con los músculos suprahiodeos e infrahiodeos, con la ingestión de 10 ml de líquido espeso.



**Figura 4.** Tiempo de activación en segundos de los grupos musculares bilaterales para la deglución de yogur. Marcas en el tiempo del paso por la línea mandibular (LM), la de las valéculas (V) y la del músculo cricofaríngeo (MC)



**Figura 5.** Tiempo de activación en segundos de los grupos musculares bilaterales para la deglución de agua. Marcas en el tiempo del paso por la línea mandibular (LM), la de las valéculas (V) y la del músculo cricofaríngeo (MC)



**Figura 6.** Tiempo de activación en segundos de los grupos musculares bilaterales para la deglución de galletas. Marcas en el tiempo del paso por la línea mandibular (LM), la de las valéculas (V) y la del músculo cricofaríngeo (MC)

Los maseteros se activan antes que los demás grupos musculares y, también, son los primeros en desactivarse. Con 10 ml de líquido espeso, los suprahioideos se activan antes que los infrahioideos y estos últimos se desactivan primero; lo contrario sucede con 5 ml.

Durante la ingestión de líquido claro, el orden de activación de los grupos musculares fue el siguiente: maseteros, infrahioideos y suprahioideos. Por otra parte, la desactivación tiende a ocurrir de forma diferente según el volumen: con 5 ml, tiende a desactivarse primero el grupo suprahioideo y, con 10 ml, tiende a hacerlo primero el grupo infrahioideo (figura 5).

Para los diferentes volúmenes de líquido claro, la activación muscular se inició antes del paso del alimento por la línea mandibular. En general, a mayor volumen, es mayor el tiempo de activación, independientemente de la consistencia del líquido (figuras 4 y 5). Con 5 ml, todos los músculos se desactivaron antes del paso del alimento por el punto del músculo cricofaríngeo (figura 5).

El orden de activación y de desactivación de los grupos musculares es el mismo: maseteros, suprahioideos e infrahioideos (figura 6). A diferencia de lo que observó con los suprahioideos y los maseteros, el *onset* de los infrahioideos estuvo cerca ( $0,1 \pm 0,04$  s) del momento en que el alimento pasaba por la línea mandibular. En promedio, el *offset* de los suprahioideos coincidió con el paso del alimento por el músculo cricofaríngeo.

Los maseteros se inactivaron antes del paso de la galleta por el músculo cricofaríngeo, comportamiento que fue similar al del líquido espeso y el claro (figura 6). Finalmente, la duración de la activación muscular de los infrahioideos mostró mayor variabilidad en comparación con lo que se muestra en las figuras 4 y 5.

## Discusión

En el presente estudio se expone de manera preliminar un patrón de activación de los músculos involucrados en las fases oral y faríngea de la deglución con registros electromiográficos, en relación con tres momentos observados bajo videofluoroscopia: paso del bolo alimenticio por la línea mandibular, por las vallecúlas y por el músculo cricofaríngeo. Según la revisión bibliográfica, este sería el primer trabajo que explora la sincronización entre la electromiografía de superficie y la videofluoroscopia en pacientes con compromiso neurológico y síntomas de disfagia.

La esclerosis múltiple en los pacientes de este estudio presentó un patrón de recaída y remisión y no su forma primaria progresiva, que es la que más compromiso deglutorio produce. Se ha informado que entre el 24 y el 34 % de los pacientes con esclerosis múltiple sufren disfagia, cifra que puede llegar al 65 % cuando hay afectación grave debido al proceso desmielinizante primario (30).

Entre las enfermedades neurodegenerativas, sobresale la de Parkinson, pues es una de las que más capacidad tiene de producir disfagia, tanto orofaríngea como esofágica, como consecuencia de la degeneración de las vías dopaminérgicas en la sustancia negra, el cuerpo estriado y el sistema nervioso entérico. Entre el 30 y el 82 % de los pacientes con enfermedad de Parkinson sufren disfagia (31), pero, cuando se evalúa la deglución mediante videofluoroscopia, se reportan anomalías en la fase orofaríngea en 75 a 97 % de los casos. (32). Según los resultados obtenidos durante el estudio, no se observó disfagia en las fases iniciales de esta enfermedad, lo que puede explicar la deglución normal vista en la videofluoroscopia del paciente con código 06 (33).

La etapa faríngea de la deglución, punto central de este estudio marcado entre la línea de la mandíbula y la del músculo cricofaríngeo, se caracteriza

por el paso del bolo de la faringe al esófago proximal y la oclusión de la laringe para la protección de la vía respiratoria; a su vez, el hueso hioides se eleva, y el esfínter esofágico superior se relaja y se abre. Esta se considera la etapa más compleja de la deglución, con una duración aproximada de un segundo (34).

Una manera de establecer la congruencia de los datos obtenidos es analizando la duración de la fase faríngea mediante videofluoroscopia (cuadros 3-5); su duración fue de  $0,89 \pm 0,12$  segundos.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre consistencias ( $p=0,14$ ) ni entre volúmenes ( $p=0,35$ ). La duración de la fase faríngea y los límites de la desviación estándar encontrados en este estudio, corresponden con los reportados en la literatura científica. Lee, *et al.*, en el 2020, reportaron una respuesta del reflejo de deglución en la fase faríngea de  $0,53 \pm 0,64$  s en personas de edad avanzada (mayores de 65 años) (35). De la misma manera, Park, *et al.*, en el 2017, obtuvieron un tiempo de tránsito faríngeo de  $0,84 \pm 0,12$  s, para 5 ml de líquido claro; no obstante, estos resultados se obtuvieron en personas sanas con edad cercana a los 30 años (36).

En el presente estudio, al analizar las señales electromiográficas obtenidas con la ingestión de 5 ml de líquido claro o espeso, la activación de los músculos infrahioides precede a la de los suprahioides, lo que coincide con un estudio previo en casos y controles (figuras 4 y 5) (37). Con 10 ml de líquido espeso y con 3 g de sólido seco, la activación de los músculos suprahioides precede a la de los infrahioides. Esta contradicción frente a los demás volúmenes, también ha sido reportada previamente en personas sanas (38).

El tiempo de actividad más prolongado corresponde a los infrahioides ( $1,29 \pm 0,19$  s), mientras que la actividad menos prolongada corresponde a los suprahioides ( $1,18 \pm 0,2$  s); este hallazgo es similar a lo reportado por Koyama, *et al.*, en el 2021 (cuadros 3-5) (37).

Las pruebas estadísticas entre el inicio de la actividad muscular y el paso por la línea mandibular, no mostraron diferencias estadísticamente significativas: con volúmenes de 5 ml, entre maseteros ( $p=0,12$ ), suprahioides ( $p=0,11$ ) e infrahioides ( $p=0,11$ ); con volúmenes de 10 ml, entre maseteros ( $p=0,5$ ), suprahioides ( $p=0,35$ ) e infrahioides ( $p=0,11$ ); ni entre consistencias de líquido espeso y líquido claro, entre maseteros ( $p=0,28$ ), suprahioides ( $p=0,33$ ) e infrahioides ( $p=0,054$ ); tampoco, entre bolos de líquidos espesos, entre maseteros ( $p=0,12$ ), suprahioides ( $p=0,12$ ) e infrahioides ( $p=0,11$ ); ni entre bolos de líquidos claros, entre maseteros ( $p=0,35$ ), suprahioides ( $p=0,11$ ) e infrahioides ( $p=0,35$ ).

En el 73,81 % de los casos, el inicio de la activación muscular de los maseteros, suprahioides e infrahioides antecede el paso del bolo por la línea mandibular, mientras que en el 93,81 %, antecede al paso por la vallecule. Esto coincide con lo informado por Park, *et al.* (2017), quienes demostraron, mediante electrodos de aguja, que existe una activación muscular previa al momento en que el bolo está pasando por la vallecule (36). Asimismo, el 65,24 % de los finales de activación antecede al paso del alimento por el músculo cricofaríngeo. Esto permite inferir un patrón electromiográfico de activación asociado con el tránsito del bolo en la fase faríngea, en la cual la activación muscular precede a los fenómenos mecánicos de la deglución.

Dado que este es el primer estudio en que se compara la electromiografía de superficie con la videofluoroscopia practicadas de manera sincrónica, estos valores no se pueden contrastar con los informados en la literatura científica, razón por la cual consideramos que es una contribución.

La amplia desviación estándar de los resultados puede deberse a la variabilidad en la fisiología de la deglución asociada con la edad, la enfermedad, el volumen y la consistencia del bolo alimenticio, tal y como lo reportan Poorjavad, *et al.* (2017), y Lee, *et al.* (2020) (35,39).

El presente trabajo muestra algunas limitaciones, especialmente en la composición de la base de datos, dado que el grupo de muestra es pequeño (n=10) y se exponen dos diferentes tipos de enfermedades neurológicas de origen central, la esclerosis múltiple y la enfermedad de Parkinson.

Asimismo, en este estudio se suministraron volúmenes de alimentos inferiores al del límite de disfagia, establecido en 20 ml, aproximadamente (40); además, el no tomar alimento según la demanda, puede ocasionar que el paciente no manifieste penetración u aspiración durante la prueba.

En este estudio, se presenta un análisis exploratorio en etapa de desarrollo, previo a una fase de validación. Aunque es un estudio preliminar, se dio a conocer el tiempo de actividad muscular, la duración de la fase faríngea y la secuencia de los grupos musculares involucrados en la deglución, mediante la electromiografía de superficie sincronizada con la videofluoroscopia. En los resultados obtenidos, se puede evidenciar la compleja dinámica neuromuscular de la deglución y la disfagia.

Como trabajo futuro, se espera ampliar la muestra de pacientes para aumentar la capacidad de generalizar los resultados obtenidos en el presente estudio. El principal aporte de este estudio es el hallazgo de correlaciones entre la información obtenida con la electromiografía y el tránsito del bolo observado mediante videofluoroscopia, lo cual permite generar información para la utilización de la electromiografía en la evaluación de la disfagia.

Esto permitiría desarrollar métodos no invasivos para el seguimiento de los pacientes, de tal manera que la videofluoroscopia como método estándar sea utilizado en el diagnóstico, pero complementada con la electromiografía de superficie para el seguimiento, minimizando la exposición a radiación ionizante en los pacientes. Por lo anterior, este estudio tiene un potencial impacto frente a la disponibilidad de métodos no invasivos que puedan ser llevados a la práctica clínica, y que contribuyan en el proceso de tamización, seguimiento y rehabilitación de las personas con síntomas de disfagia.

### **Agradecimientos**

Este estudio fue financiado por la Convocatoria Conjunta de Proyectos I+D+i (G8+1, Medellín, Colombia), código PE 2020-9. Además, los autores agradecen a Hernán Ocazonez S.A.S., por su colaboración en la adquisición de datos y la evaluación de pacientes.

### **Referencias**

1. Baijens LWJ, Clavé P, Cras P, Ekberg O, Forster A, Kolb GF, *et al.* European society for swallowing disorders - European union geriatric medicine society white paper: Oropharyngeal dysphagia as a geriatric syndrome. *Clin Interv Aging.* 2016;11:1403-28. <https://doi.org/10.2147/CIA.S107750>
2. Cámpora HL, Falduti AL. Evaluación y tratamiento de las alteraciones de la deglución. *Rev Am Med Respir Rev Am Med Resp.* 2012;12:98-107.

3. Matsuo K, Palmer JB. Anatomy and physiology of feeding and swallowing: Normal and abnormal. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2008;19:691-707. <https://doi.org/10.1016/j.pmr.2008.06.001>
4. Wirth R, Dziewas R, Beck AM, Clavé P, Hamdy S, Heppner HJ, *et al*. Oropharyngeal dysphagia in older persons – from pathophysiology to adequate intervention: A review and summary of an international expert meeting. *Clin Interv Aging*. 2016;11:189-208. <https://doi.org/10.2147/CIA.S97481>
5. Hey C, Pluschinski P, Pajunk R, Almahameed A, Girth L, Sader R, *et al*. Penetration–aspiration: Is their detection in FEES® reliable without video recording? *Dysphagia*. 2015;30:418-22. <https://doi.org/10.1007/s00455-015-9616-3>
6. Roy N, Stemple J, Merrill RM, Thomas L. Dysphagia in the elderly: Preliminary evidence of prevalence, risk factors, and socioemotional effects. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2007;116:858-65. <https://doi.org/10.1177/000348940711601112>
7. Kawashima K, Motohashi Y, Fujishima I. Prevalence of dysphagia among community-dwelling elderly individuals as estimated using a questionnaire for dysphagia screening. *Dysphagia*. 2004;19:266-71. <https://doi.org/10.1007/s00455-004-0013-6>
8. Suárez-Escudero JC, Rueda-Vallejo ZV, Orozco-Duque AF. Disfagia y neurología: ¿una unión indefectible? *Acta Neurológica Colomb*. 2018;34:92-100.
9. Dudik JM, Coyle JL, Sejdic E. Dysphagia screening: Contributions of cervical auscultation signals and modern signal-processing techniques. *IEEE Trans Human-Machine Syst*. 2015;45:465-77. <https://doi.org/10.1109/THMS.2015.2408615>
10. Rommel N, Hamdy S. Oropharyngeal dysphagia: Manifestations and diagnosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13:49-59. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2015.199>
11. Azola A, Greene L, Taylor-kamora I, Macrae P, Anderson C, Humbert IA. The relationship between submental surface electromyography and Hyo-Laryngeal kinematic measures of Mendelsohn maneuver duration. *J Speech Lang Hear Res*. 2015;24:1-14. *Rev Gastroenterol Hepatol*. 2016;13:49-59. [https://doi.org/10.1044/2015\\_JSLHR-S-14-0203](https://doi.org/10.1044/2015_JSLHR-S-14-0203)
12. Chen DF. Dysphagia in the hospitalized patient. *Hosp Med Clin*. 2017;6:38-52. <https://doi.org/10.1016/j.ehmc.2016.07.004>
13. Fattori B, Giusti P, Mancini V, Grosso M, Barillari MR, Bastiani L, *et al*. Comparison between videofluoroscopy, fiberoptic endoscopy and scintigraphy for diagnosis of oro-pharyngeal dysphagia. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2016;36:395-402. <https://doi.org/10.14639/0392-100X-829>
14. Ertekin C, Aydogdu I. Neurophysiology of swallowing. *Clin Neurophysiol*. 2003;114:2226-44. [https://doi.org/10.1016/s1388-2457\(03\)00237-2](https://doi.org/10.1016/s1388-2457(03)00237-2)
15. Archer SK, Smith CH, Newham DJ. Surface electromyographic biofeedback and the effortful swallow exercise for stroke-related dysphagia and in healthy ageing. *Dysphagia*. 2021;36:281-92. <https://doi.org/10.1007/s00455-020-10129-8>
16. Nazmi N, Rahman MAA, Yamamoto SI, Ahmad SA, Zamzuri H, Mazlan SA. A review of classification techniques of EMG signals during isotonic and isometric contractions. *Sensors (Basel)*. 2016;16:1-28. <https://doi.org/10.3390/s16081304>
17. Restrepo-Agudelo S. Methodology of sequential classification of non-invasive multichannel biosignals, oriented to automatic diagnosis of dysphagia (tesis). Medellín: Instituto Tecnológico Metropolitano; 2019.
18. Poorjavad M, Talebian S, Nakhostin Ansari N, Soleymani Z. Surface electromyographic assessment of swallowing function. *Iran J Med Sci*. 2017;42:194-200.
19. Sakai K, Nakayama E, Rogus-Pulia N, Takehisa T, Takehisa Y, Urayama KY, *et al*. Submental muscle activity and its role in diagnosing sarcopenic dysphagia. *Clin Interv Aging*. 2020;15:1991-9. <https://doi.org/10.2147/CIA.S278793>
20. Wang CM, Chen JY, Chuang CC, Tseng WC, Wong AM, Pei YC. Aging-related changes in swallowing, and in the coordination of swallowing and respiration determined by novel non-invasive measurement techniques. *Geriatr Gerontol Int*. 2015;15:736-44. <https://doi.org/10.1111/ggi.12343>
21. Suzuki M, Sasaki M, Kamata K, Nakayama A, Shibamoto I, Tamada Y. Swallowing pattern classification method using multichannel surface EMG signals of suprahyoid and infrahyoid muscles. *Adv Biomed Eng*. 2020;9:10-20. <https://doi.org/10.14326/abe.9.10>

22. Shieh WY, Wang CM, Chang CS. Development of a portable non-invasive swallowing and respiration assessment device. *Sensors (Basel)*. 2015;15:12428-53. <https://doi.org/10.3390/s150612428>
23. Shieh W-Y, Wang C-M, Cheng H-YK, Wang C-H. Using wearable and non-invasive sensors to verification, and clinical application. *Sensors (Basel)*. 2019;19:2624. <https://doi.org/10.3390/s19112624>
24. Sejdic E, Malandraki GA, Coyle JL. Computational deglutition: Using signal- and image-processing methods to understand swallowing and associated disorders. *IEEE Signal Process Mag*. 2019;36:138-46. <https://doi.org/10.1109/MSP.2018.2875863>
25. Giraldo-Cadavid LF, Gutiérrez-Achury AM, Ruales-Suárez K, Rengifo-Varona ML, Barros C, Posada A, *et al.* Validation of the Spanish version of the Eating Assessment Tool-10 (EAT-10spa) in Colombia. A blinded prospective cohort study. *Dysphagia*. 2016;31:398-406. <https://doi.org/10.1007/s00455-016-9690-1>
26. Belafsky PC, Mouadeb DA, Rees CJ, Pryor JC, Postma GN, Allen J, *et al.* Validity and reliability of the Eating Assessment Tool (EAT-10). *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2008;117:919-24. <https://doi.org/10.1177/000348940811701210>
27. Newman R, Vilardell N, Clavé P, Speyer R. Effect of bolus viscosity on the safety and efficacy of swallowing and the kinematics of the swallow response in patients with oropharyngeal dysphagia: White Paper by the European Society for Swallowing Disorders (ESSD). *Dysphagia*. 2016;31:232-49. <https://doi.org/10.1007/s00455-016-9696-8>
28. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL, editors. *Gastrointestinal motility*. En: *Ganong's Review of Medical Physiology*. Twenty-fifth ed. New York, NY: McGraw Hill; 2018. <https://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1587&sectionid=97165321>
29. Restrepo-Agudelo S, Roldán-Vasco S, Ramírez-Arbeláez L, Cadavid-Arboleda S, Pérez-Giraldo E, Orozco-Duque AF. Improving surface EMG burst detection in infrahyoid muscles during swallowing using digital filters and discrete wavelet analysis. *J Electromyogr Kinesiol*. 2017;35:1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2017.05.001>
30. Prosigel M, Schelling A, Wagner-Sonntag E. Dysphagia and multiple sclerosis. *Int MS J*. 2004;11:22-31.
31. Daroff R, Jankovic J, Mazziotta J, Pomeroy S. *Bradley's neurology in clinical practice*. 7th edition. Elsevier Inc.; 2015.
32. Pfeiffer RF. Gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease. *Lancet Neurol*. 2003;2:107-16. [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(03\)00307-7](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(03)00307-7)
33. Clavé P, Kraa M, Arreola V, Girvent M, Farré R, Palomera E, *et al.* The effect of bolus viscosity on swallowing function in neurogenic dysphagia. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;24:1385-94. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2006.03118.x>
34. Guzmán MJ, Dulbecco M. Abordaje del paciente con disfagia. *ACTA Gastroenterológica Latinoam*. 2020;50:42-50.
35. Lee JT, Park E, Hwang JM, Jung T Du, Park D. Machine learning analysis to automatically measure response time of pharyngeal swallowing reflex in videofluoroscopic swallowing study. *Sci Rep*. 2020;10:1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71713-4>
36. Park D, Lee HH, Lee ST, Oh Y, Lee JC, Nam KW, *et al.* Normal contractile algorithm of swallowing related muscles revealed by needle EMG and its comparison to videofluoroscopic swallowing study and high resolution manometry studies: A preliminary study. *J Electromyogr Kinesiol*. 2017;36:81-9. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2017.07.007>
37. Koyama Y, Ohmori N, Momose H, Kondo E, Yamada S, Kurita H. Detection of swallowing disorders using a multiple channel surface electromyography sheet: A preliminary study. *J Dent Sci*. 2021;16:160-7. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2020.06.009>
38. Ko JY, Kim H, Jang J, Lee JC, Ryu JS. Electromyographic activation patterns during swallowing in older adults. *Sci Rep*. 2021;11:1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84972-6>
39. Poorjavad M, Talebian S, Ansari NN, Soleymani Z. Surface electromyographic assessment of swallowing function. *Iran J Med Sci*. 2017;42:194-200.
40. Ertekin C. Electrophysiological evaluation of oropharyngeal dysphagia in ALS. *Handb Clin Neurophysiol*. 2004;4:487-512.

Artículo original

## Análisis de las interacciones entre los actores de la Red de Gestión del Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria de Colombia

Mayra Jiménez-Manjarrés<sup>1</sup>, Diana M. Santana<sup>1</sup>, Mario J. Olivera<sup>2</sup>, Luz Stella Cantor-Poveda<sup>1</sup>, Carlos A. Castañeda-Orjuela<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia

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

**Introducción.** La malaria, o paludismo, es una enfermedad de gran impacto en la población colombiana, que debe ser abordada desde el punto de vista del trabajo en equipo de instituciones para el intercambio de conocimiento.

**Objetivo.** Analizar las interacciones de la Red de Gestión del Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria de Colombia.

**Materiales y métodos.** Se hizo un análisis de redes sociales que permitió identificar la proximidad entre los actores y el grado de conocimiento entre ellos; se observaron indicadores de densidad, diámetro, distancia media y centralidad de grado. El corpus documental para el estudio estuvo constituido por 193 documentos técnicos publicados entre el 2016 y el 2021, que fueron analizados empleando técnicas de procesamiento de texto mediante el lenguaje de programación R. La categorización de la red se realizó a partir de cinco variables: atención integral a pacientes, diagnóstico, epidemiología y sistemas de análisis de información en salud, política pública, y promoción y prevención.

**Resultados.** El análisis de las interacciones indicó que la red la conformaban 99 actores, de los cuales 97 (98 %), mostraron más interés en la producción de conocimientos en epidemiología y sistemas de análisis de información en salud, seguido de la categoría de atención integral a pacientes con 79 (80 %). El 54 % de los actores llevó a cabo estudios de promoción y prevención, siendo esta la categoría de menor abordaje.

**Conclusiones.** Este estudio contribuye al fortalecimiento de estrategias clave en la divulgación del conocimiento sobre la malaria en Colombia.

**Palabras clave:** malaria; epidemiología; gestión del conocimiento; análisis de redes sociales; procesamiento de texto; intercambio de información en salud

### Analysis of interactions between actors of the Red de Gestión del Conocimiento e Innovación en Malaria de Colombia

**Introduction:** Malaria is a disease with a high impact on Colombian population, which must be approached from the point of view of teamwork of institutions for knowledge exchange.

**Objective:** To analyze the interactions of the Red de Gestión del Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria de Colombia.

**Materials and methods:** An analysis of social networks was applied that allowed identifying the proximity between actors and the degree of knowledge between them. Indicators of density, diameter, average distance, and degree of centrality were observed. The documentary corpus for the study consisted of 193 technical documents published between 2016 and 2021, which were analyzed using text mining using the R programming language. The network was categorized based on five variables: comprehensive patient care, diagnosis, epidemiology and health information analysis systems, public policy and promotion and prevention.

**Results:** The analysis of interactions indicated that the network was made up by 99 actors. The main interest in knowledge production was on epidemiology and health information analysis systems (98 % of the actors), followed by the integral patient care (80 % of the actors). On the contrary, the least approached category was malaria promotion and prevention practices (54 % of the actors).

**Conclusions:** In general, this study contributes to the strengthening of key strategies in the dissemination of knowledge about malaria in Colombia.

**Key words:** malaria epidemiology; knowledge management; social network analysis; word processing; health information exchange.

**Recibido:** 10/05/2022

**Aceptado:** 12/10/2022

**Publicado:** 21/10/2022

#### Citación:

Jiménez-Manjarrés M, Santana DM, Olivera MJ, Cantor-Poveda LS, Castañeda-Orjuela CA. Análisis de las interacciones entre los actores de la Red de Gestión del Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria de Colombia. Biomédica. 2022;42:665-78. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6596>

#### Correspondencia:

Mayra Jiménez-Manjarrés, Observatorio Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Avenida calle 26 N° 51-20, Bogotá, Colombia  
Teléfono: (57) (304) 549 8620  
[ma.jimenezm@uniandes.edu.co](mailto:ma.jimenezm@uniandes.edu.co)

#### Contribución de los autores:

Mayra Jiménez-Manjarrés: diseño y desarrollo de la metodología, análisis de datos, manejo del software y visualización de datos informáticos  
Diana M. Santana y Carlos A. Castañeda-Orjuela: diseño y desarrollo de la metodología  
Luz Stella Cantor-Poveda: búsqueda de información y conceptualización de las categorías de análisis  
Mario J. Olivera: conceptualización de las categorías de análisis y validación de los datos  
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Este estudio fue financiado con recursos del Observatorio Nacional de Salud y la Dirección de Investigación en Salud Pública del Instituto Nacional de Salud.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera que las dos últimas décadas han sido de éxitos sin precedentes en la lucha contra la malaria, con 1.5 millones de casos evitados y 7,6 millones de vidas salvadas en todo el mundo. Los países que eliminaron la malaria en su territorio han contribuido sustancialmente en la reducción de la carga mundial de la enfermedad.

La incidencia de casos de malaria se redujo de 81 por 1.000 habitantes en riesgo en el 2000 a 57 por 1.000 en el 2019 antes de aumentar nuevamente a 59 por 1.000 en el 2020. Se estima que el aumento en el año 2020 estuvo asociado con la interrupción de uno o más servicios en la atención de la malaria durante la pandemia de COVID-19. El 96 % de los casos de paludismo en todo el mundo corresponden a 29 países africanos. En las Américas, el 77 % de la carga total de malaria se registró en Brasil, Colombia y la República Bolivariana de Venezuela (1).

En Colombia, se registran 70.000 casos anuales, aproximadamente, con predominio de la infección por *Plasmodium vivax*. Se estima que cerca de 10 millones de personas se encuentran en riesgo de enfermar o morir por esta causa; principalmente en aquellas poblaciones que habitan en las regiones del Pacífico, la Amazonía y la Orinoquía, y los departamentos de Antioquia, Córdoba, Bolívar y Magdalena, y también, en la frontera con Venezuela (2,3).

El Plan Estratégico de Malaria en Colombia 2019-2022 se estableció con base en la Estrategia Técnica Mundial contra la Malaria 2016-2030, e incluye acciones para la prevención, el diagnóstico, el tratamiento y la mejora de la vigilancia epidemiológica de la malaria, para avanzar hacia su eliminación. Allí se indican las áreas en que las soluciones innovadoras serán esenciales para cumplir los objetivos y en las cuales el trabajo colaborativo en red será relevante (4,5).

En la última década, los procesos de globalización se han acelerado con importantes repercusiones para la ciencia y la tecnología (6). Por ello, los retos que plantea un mundo globalizado motivan a la sociedad a buscar nuevas soluciones para enfrentar de manera efectiva los desafíos emergentes, y replantear las formas de abordar los problemas endémicos de interés en salud pública, como la malaria (7).

En Colombia, se han promovido actividades científicas, tecnológicas y de innovación, que han incrementado el número de producciones científicas en malaria, y establecido la Red de Gestión de Conocimiento, Investigación e Innovación (Red Malaria), que tiene como objetivo facilitar el flujo y el intercambio de información, así como producir nuevos conocimientos y asegurar su aplicación implementando estrategias para involucrar a los tomadores de decisiones (8,9).

En el 2016, se conformó la Red Especializada del Conocimiento en Malaria como una iniciativa del Ministerio de Salud y Protección Social, el Instituto Nacional de Salud y la Organización Panamericana de la Salud, con la participación de entidades territoriales departamentales, distritales y municipales, instituciones prestadoras de servicios de salud, centros de investigación, la academia y la sociedad civil (10). Esta red ha gestionado el conocimiento en malaria, desarrollando estrategias para su creación y utilización, visualizando este conocimiento como un recurso estratégico para apoyar el cumplimiento de las metas de eliminación que se ha propuesto el país (11).

Se trata de determinar la productividad de la investigación sobre malaria y la manera como los diferentes actores e instituciones públicas y privadas se relacionan e interactúan al momento de generar producción científica, y considerar la toma de decisiones como parte de la gestión del conocimiento, ante la necesidad de crear líneas de investigación poco estudiadas y evaluar la interacción científica de autores e instituciones del país (12,13).

Las relaciones entre actores o autores de la producción científica se analizan mediante las menciones que realizan unos de otros. La teoría de redes sociales permite calcular la aproximación, la lejanía y la intermediación, así como la prevalencia, que son relevantes al momento de fortalecer el conocimiento de una enfermedad con tal grado de afectación en la población como la malaria (14,15).

Se han publicado pocos estudios bibliométricos sobre la investigación de la malaria en diferentes partes del mundo. Los primeros datan de los años 1984, 1989 y 1994, y posteriormente, entre los años 1996 y 2000, se estudió la financiación para la investigación sobre la malaria (13,14). Más recientemente, entre el 1972 y el 2003, se han producido investigaciones rigurosas en Brasil e India, en relación con la resistencia a los antipalúdicos, durante los años 2006 y 2015 (13,15). Sin embargo, ninguno de estos se ha llevado a cabo en Colombia. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar las interacciones de la Red Malaria en el último lustro, para contribuir en su fortalecimiento, identificando los actores que la conforman y los temas relevantes que se trabajan para la gestión del conocimiento en el tema de la malaria en Colombia.

### **Materiales y métodos**

En esta investigación se llevó a cabo un estudio cualitativo para categorizar el corpus documental identificado sobre malaria, y para la selección de un glosario de términos denominado “tesauro” (16), así como, la selección y organización de de unos documentos base de frecuente referencia llamados “acervos” (17). Además, se hizo un estudio de tipo cuantitativo para clasificar la producción bibliográfica recopilada, mediante el uso de algoritmos *k-means*, para el análisis de la medición de las diferentes categorías consideradas. El carácter del estudio se considera descriptivo con metodología bibliométrica (18).

La metodología del análisis consistió en la consolidación del listado de actores o autores relacionados con temas de malaria en Colombia, la identificación de categorías de estudio en malaria, la selección del glosario “tesauro” y de los “acervos”, la búsqueda y clasificación del corpus documental por actor, y la identificación de las relaciones y el cálculo de medidas estadísticas empleando el análisis de redes sociales.

La consolidación del listado de actores o autores en Colombia relacionados con temas de malaria incluyó a los miembros de la Red Malaria, y a los autores encontrados en las bases de datos bibliográficas, incluyendo grupos de investigación, publicaciones, etc. Para la selección de las categorías de estudio en malaria, se tuvieron en cuenta los documentos base sobre el manejo y el estudio de la malaria, tales como: el Plan Estratégico Nacional de Malaria 2019-2022 (4); la evaluación del retorno de la inversión de la investigación en malaria financiada por Colciencias durante el periodo 1995-2005 (19); las directrices políticas de investigación, innovación científica y tecnológica y la gestión del conocimiento que contribuye a la eliminación

de la malaria (2018) (7); la Iniciativa para la Eliminación de la malaria (IREM) en Mesoamérica y República Dominicana IREM (20); y la categorización de los énfasis de los proyectos de investigación en malaria financiados por Colciencias durante 1995-2005 (21).

También, se llevó a cabo una revisión exploratoria de la literatura científica, con el *software* Nvivo 12, con el fin de identificar *a priori* temas sobre la investigación de malaria en Colombia que pudieran ser el punto de partida para la generación de las categorías y, sobre todo, se tuvo en cuenta la opinión de expertos en el manejo, el análisis y el control de la malaria.

Se identificaron y utilizaron las categorías de estudio presentadas en el cuadro 1, para el análisis del corpus documental.

Una vez identificadas las categorías como temas de interés para la red de conocimiento en malaria, se procedió a seleccionar los términos característicos (tesauros) y los documentos distintivos (acervos) de cada una de ellas. Los términos y documentos permiten cotejar y clasificar el corpus documental en las categorías mencionadas en el cuadro 1, mediante la aplicación de algoritmos *k-means* que, a su vez, van estructurando una base de datos con las relaciones de entrada y salida de nodos; estos últimos representan los autores o actores de la red de conocimiento.

La población de estudio incluyó la producción científica relacionada con malaria, en idioma español y en formato pdf, que las instituciones públicas y privadas de Colombia generaron entre enero de 2016 y marzo de 2021. Se incluyeron artículos de investigación o revisión, documentos técnicos, documentos de política, capítulo de libro o libro completo, boletín técnico, estudios de caso, tesis y trabajos académicos, monografías, revisión de productos o memorias de seminarios.

Se excluyeron del estudio los siguientes: cartas al editor, resúmenes de presentaciones en congresos, infografías y folletos, documentos normativos y textos legales.

La técnica de recolección de los documentos fue la búsqueda por actor en bases de datos bibliográficas como Scopus y Google Scholar, así como en los repositorios institucionales y mediante solicitudes por correo electrónico a los actores que hacen parte de la red de malaria.

**Cuadro 1.** Categorías de análisis de la Red de Gestión de Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria en Colombia 2021

Nombre de categoría	Temas incluidos en la categoría
Atención integral al paciente	Atención de pacientes, guías en el manejo del paciente hospitalario e intrahospitalario, respuesta, redes de prestación de servicios de salud, características de la atención de salud, medidas para la atención en presencia de malaria, diagnóstico muy general de la malaria
Diagnóstico	Diagnóstico, suministros, pruebas, síntomas, detección, clínica, tratamiento, fisiopatología de la malaria, resistencia a los medicamentos antimaláricos, genética del parásito, vacunas contra la malaria
Epidemiología y sistema de información de análisis en salud	Epidemiología y sistema de información de análisis en salud
Política pública	Política pública, economía y aspectos sociales de la malaria
Promoción y prevención	Promoción, prevención, entomología y control de vectores

### Procesamiento y análisis

Una vez identificadas las categorías, seleccionados los tesauros y los acervos, y recopilado el corpus documental, se procedió al almacenamiento y carga de toda la información en el código creado, para facilitar la clasificación de los documentos en categorías y la identificación de las relaciones entre actores. Este proceso se llevó a cabo en el lenguaje R con *Rstudio* como entorno de desarrollo integrado.

Las salidas de la carga del corpus documental en el código dieron como resultado una tabla que contiene las relaciones entre actores en cada una de las categorías identificadas en la producción bibliográfica. A partir de esta tabla, se calcularon las medidas estadísticas utilizadas para el análisis cuantitativo de la red de conocimiento en malaria. Estas medidas correspondieron a:

- Número de nodos: indica el número de actores o instituciones que intervinieron en la red de conocimiento (22).
- Número de enlaces: indica el número de conexiones o aristas que relacionan los nodos (23).
- Centralidad de grado: indica si una red es popular, independiente y con diversas formas de satisfacer las necesidades de los actores (24).
- Densidad: propiedad que calcula la proporción de los enlaces presentes en la red sobre el máximo número de enlaces que pueden existir; la red es poco densa cuando no existen relaciones entre los actores, y es muy densa cuando todos los actores están relacionados entre sí (22).
- Diámetro: menor número de enlaces recorridos entre los dos actores más alejados de la red (25).
- Distancia o longitud media del camino: media de las distancias entre todos los pares posibles de nodos; corresponde a una medida de la eficiencia de la información o el transporte masivo en una red (26).
- Por nodo o actor, se calcularon las siguientes medidas estadísticas métricas:
  - Grado de entrada de un nodo: número de enlaces que apuntan hacia él y centralidad del vector propio; mide la influencia de un actor en una red (27).
  - Excentricidad: medida que brinda la distancia entre un nodo y el nodo que está más alejado de él (25).
  - Cercanía (*closseness*): mide la accesibilidad de un nodo (24).
  - Intermediación (*betweenness*): cuantifica la frecuencia o el número de veces que un nodo actúa como un puente a lo largo del camino más corto entre otros dos nodos (15).

Para facilitar el análisis, se desarrolló en Power BI pro una visualización que permite apreciar las características de la red, así como las medidas por categoría y por nodo o actor, en cada categoría. La red se visualiza en el siguiente enlace: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiYjMwMzYyZDIiNjkwOC00MTQ1LWl1xNWYtZTRhZjUxNmExODc3IiwidCI6ImE2MmQ2YzdiLTImNTktNDQ2OS05MzU5LTM1MzcxNDc1OTRiYiIsImMiOiR9>

**Cuadro 2.** Métricas por categoría de la Red de Malaria

<b>Categoría</b>	<b>Densidad</b>	<b>Diámetro</b>	<b>Nodos</b>	<b>Enlaces</b>	<b>Distancia media</b>	<b>Centralidad de grado</b>
Promoción y prevención	0,04	3	53	114	2,56	0,19
Diagnóstico	0,04	6	70	184	2,57	0,20
Atención integral al paciente	0,04	4	88	319	2,36	0,26
Epidemiología y sistema de información de análisis en salud	0,04	6	97	397	2,31	0,26
Política pública	0,05	4	79	317	2,19	0,30

## Resultados

### **Análisis entre las categorías de la red de malaria**

La red se constituyó a partir de 193 documentos de producción bibliográfica sobre malaria y se identificaron relaciones entre 99 nodos o autores.

En el cuadro 2, se observa que las categorías con mayor número de enlaces, nodos o actores y centralidad de grado son: epidemiología y sistema de análisis de información de salud y atención integral al paciente, respectivamente, lo cual significa que son los temas sobre malaria más abordados en Colombia. Estas dos categorías, junto con la política pública, tienen menor distancia media, lo cual significa que hay una mayor eficiencia en la difusión de la información dentro de cada categoría con respecto a prevención, promoción y diagnóstico, que tienen mayor valor en esta medición. La categoría de política pública presentó una densidad superior porque, a pesar de identificarse la participación de 79 nodos, estos se relacionan con 317 enlaces, lo cual significa que están conectados.

### **Análisis por categoría de la Red Malaria**

Para la categoría de “promoción y prevención de malaria”, los nodos o actores con mayor número de menciones fueron: la Organización Mundial de la Salud (OMS) (23), el Instituto Nacional de Salud (19), la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (15), el Ministerio de Salud y Protección Social (8), y la Universidad de Antioquia (6). Los nodos cercanos a otros, detectados en esta categoría de la red, fueron: el Instituto Nacional de Salud (0,16), la OMS (0,16), el Ministerio de Salud y Protección Social (0,16), la Gobernación del Valle (0,16), la Corporación Saberes en Salud (@saberensalud) (0,16) y la OPS (0,16). Los nodos con mayores valores en centralidad del vector propio fueron: la OMS (1,00), la Universidad de Antioquia (0,89), el Instituto Nacional de Salud (0,86), la OPS (0,64), la Universidad Nacional (0,48); y la Universidad del Valle (0,40), por lo cual en la figura 1 se aprecian como los nodos más grandes. Los nodos intermediarios de la categoría fueron: el Instituto Nacional de Salud (0,03), la Universidad de Antioquia (0,01), la Universidad Nacional (0,01), la OMS (0,01) y la Pontificia Universidad Javeriana (0,01). Según los indicadores, los nodos que sobresalen como intermediario, también sobresalen como influenciadores.

Para la categoría de “diagnóstico de malaria”, los nodos con mayor número de menciones fueron: la OMS (31), el Instituto Nacional de Salud (23), la OPS (17), la Universidad de Antioquia (11), el Ministerio de Salud y Protección Social (10), y la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (8). Los nodos con mayor valor en cercanía detectados en esta categoría de la red, fueron: la OMS (0,26), el Instituto Nacional de Salud (0,26), la Superintendencia de Industria y Comercio (0,25), la Universidad de Cartagena (0,25), el Ministerio de Salud y Protección Social (0,24), la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (0,24), la Pontificia Universidad Javeriana (0,24) y la OPS (0,24). Los nodos con mayores









## Discusión

En el presente estudio, la aplicación de la bibliometría permitió identificar las interacciones y los actores clave en la producción científica de la Red Malaria en Colombia. Los resultados de este análisis de redes sociales contribuirán al diseño de estrategias que incentiven el fortalecimiento y expansión de esta red de conocimiento especializada en malaria.

Un hallazgo relevante en este estudio fue que el tema de la prevención y promoción de la malaria presentó menor número de conexiones y actores. Esto significa que es una temática que debe ser abordada más eficientemente, de modo que los actores puedan mejorar en el proceso de divulgación del conocimiento sobre las medidas de eliminación y prevención de esta enfermedad.

Este resultado podría explicarse por la dificultad para trabajar de manera articulada entre la academia, el Estado y la comunidad. Los proyectos de investigación que desarrollan esta línea de trabajo, generalmente son iniciativas de instituciones gubernamentales que incluyen la participación comunitaria para el abordaje integral de esta problemática en salud y que afectan en los municipios, temas como el saneamiento básico, el acceso al servicio de salud, la falta de educación y la fragilidad de infraestructura, entre otros (28).

Otro hallazgo relevante se presentó en todas las categorías temáticas con parámetros de densidad similares. Desde la teoría de redes se puede inferir que se encuentran en condiciones similares de conectividad entre sus actores y que todos ellos, en todas las categorías, podrían aumentar su capacidad de comunicación o cooperación entre ellos, por medio de estrategias como: talleres, seminarios, congresos, colaboración en artículos científicos, intercambio de ideas, o asesorías (Lopera Lopera, Luis Hernando Integración de redes de conocimiento: una responsabilidad de la biblioteca universitaria, 2000. Sexto Congreso Nacional de Bibliotecología y Documentación, ASCOLBI, Santafé de Bogotá (Colombia), 4-7 July, 2000).

Analizando las categorías desde una perspectiva global, los actores más citados y que coincidieron en todas las categorías, fueron: la OMS, el Instituto Nacional de Salud, la OPS, el Ministerio de Salud y Protección Social, y la Universidad de Antioquia. Estos actores tienen en común ser entidades nacionales e internacionales de referencia en la gestión del conocimiento en salud.

Por otro lado, centros educativos como la Universidad Nacional, la Universidad de Antioquia, la Universidad del Rosario y la Universidad del Valle, son las entidades que comúnmente participan de manera activa en actividades de investigación en salud pública, y son considerados actores centrales en la presente investigación.

Los hallazgos de estas interacciones deberían permitir impulsar el trabajo colaborativo de las instituciones, para que mejoren las relaciones en pro de la creación y aplicación del conocimiento para lograr la eliminación de la malaria.

Un análisis bibliométrico, publicado en el 2021, sobre la investigación de la malaria en Latinoamérica coincide con las categorías temáticas de estudio más y menos abordadas en Colombia: la epidemiología y la prevención (29). A pesar de que cada estudio tiene sus criterios de clasificación, también hay coincidencia en la escogencia de tres temas como categorías de análisis: epidemiología, diagnóstico y prevención de la malaria. En el mismo estudio,

se menciona a Colombia como el segundo país con mayor número de publicaciones sobre malaria, y a la afiliación a la Universidad de Antioquia como la segunda más frecuente en Latinoamérica. Este resultado coincide con el presente estudio en el que la Universidad de Antioquia es uno de los actores más citados y activos en la producción de conocimiento sobre malaria en Colombia.

Entre las recomendaciones de este estudio se plantea tener en cuenta qué actores se clasifican como influenciadores (con alto valor en centralidad del vector propio) e intermediarios, ya que pueden ser clave en la difusión de eventos, información y divulgación del conocimiento. Especialmente, los intermediarios pueden generar conexiones entre grupos de actores para asociarse en investigaciones y en la realización de actividades de gestión del conocimiento.

También, se recomienda tener en cuenta aquellos autores que están incursionando en las temáticas en malaria, porque tienen poca o ninguna mención. Esto representa una oportunidad para que sean integrados en la red de conocimiento y puedan dar a conocer el potencial de aportes que tienen. Esto significa que estos actores deben dar a conocer su producción documental para que sean tenidos en cuenta en la apropiación y divulgación del conocimiento, dependiendo de la categoría de análisis.

Teniendo en cuenta otras metodologías de búsqueda del corpus documental para el análisis bibliométrico, se puede evidenciar que existe la posibilidad de encontrar mayor producción bibliográfica por medio de búsquedas sistemáticas bastante específicas, en bases de datos y en revistas científicas, como Scopus (29) o *Infectio* (30), respectivamente. Sin embargo, el número de textos analizados también se relaciona con el período considerado para la recopilación de información y la posibilidad de analizar documentos en idiomas diferentes al español en dichas metodologías.

En el marco de los objetivos misionales del Instituto Nacional de Salud y del Ministerio de Salud y Protección Social, no solo ha estado la conformación de las redes de conocimiento en salud pública, incluida la Red de Gestión de Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria, sino también, su fortalecimiento incentivando a otras instituciones e investigadores a vincularse y aportar los productos esperados en cada red (31). El esfuerzo del Instituto Nacional de Salud se ve reflejado en estrategias diseñadas para favorecer una constante comunicación entre actores. Una de ellas es el mantenimiento de plataformas y medios digitales (31). Esto ha hecho posible un liderazgo que ha fortalecido la cooperación, fomentando una integración constructiva y creativa (32). Además, la pandemia por SARS-CoV-2 representó una valiosa oportunidad que permitió ampliar el uso de nuevas herramientas de difusión de la información y crear nuevos espacios para la interacción entre los actores (33).

Entre las limitaciones de esta investigación se puede mencionar el posible sesgo al momento de recopilar documentos sobre el tema de la malaria. Aunque la producción científica se solicitó a los actores por correo electrónico y se hizo una búsqueda activa en repositorios, páginas web y bases de datos, siempre existe la posibilidad de que algunos documentos queden por fuera de los análisis. En segundo lugar, la metodología limita la clasificación en categorías al basarse únicamente en documentos en español. Otra posible limitación está en la definición de las categorías de malaria, porque existe la posibilidad de definir las y seleccionarlas por medio de múltiples estrategias de

análisis cualitativo. Sin embargo, cabe destacar que los expertos en malaria intervinieron en la aprobación de los temas por analizar con la red, por lo cual se representa el interés de quienes son los líderes en la red de malaria.

### Agradecimientos

A la Red de Gestión de Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria.

### Referencias

1. World Health Organization. World Malaria Report 2021. Geneva; WHO; 2021.
2. Instituto Nacional de Salud - Sivigila. Informe de evento malaria. Bogotá, D.C.: Instituto Nacional de Salud; 2019.
3. Padilla-Rodríguez JC, Olivera MJ, Ahumada-Franco ML, Paredes-Medina AE. Malaria risk stratification in Colombia 2010 to 2019. PLoS ONE. 2021;16:e0247811. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247811>
4. Ministerio de de Salud y Protección Social. Plan Estratégico Nacional de Malaria 2019-2022. Bogotá, D.C.: Minsalud; 2020.
5. World Health Organization. Global technical strategy for Malaria 2016-2030. Geneva; WHO; 2015.
6. United Nations Educational Scientific and Cultural Organization, UNESCO. Science Report: Towards 2030. Paris: UNESCO; 2015.
7. Instituto Nacional de Salud. Lineamiento político de investigación, innovación científica y tecnológica y gestión del conocimiento que contribuye a la eliminación de la malaria 2018. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2018.
8. Instituto Nacional de Salud. Medidas de intervención para la constitución de la red de gestión del conocimiento, investigación e innovación en malaria. Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2018. p. 63.
9. Ministerio de Salud y Protección Social. Orientaciones para el desarrollo de la información en salud en el marco del Plan de Salud Pública de Intervenciones Colectivas – PIC. Bogotá, D.C.: Minsalud; 2015.
10. Martínez E, Franco D, Villa L. Las redes de conocimiento en salud pública y el fortalecimiento de capacidades a través de estrategias de cooperación. Rev Fac Nac Salud Pública. 2009;27:2-7.
11. Ministerio de de Salud y Protección Social. Guía para la gestión por procesos en el marco del modelo integrado de planeación y gestión. Bogotá, D.C.: Minsalud; 2020.
12. Otálora-Escorcia A. El análisis bibliométrico como herramienta para el seguimiento de publicaciones científicas, tesis y trabajos de grado. Bogotá, D.C.: Pontificia Universidad Javeriana; 2008.
13. Mac Clean M, Anderson J, Davies C. Making malaria research bite. Nature. 1997;3:14-6. <https://doi.org/10.1038/nm0197-14>
14. Lewison G, Lipworth S, Francisco A. Input indicators from output measures: A bibliometric approach to the estimation of malaria research funding. Research Evaluation 2002;11:155-63. <https://doi.org/10.3152/147154402781776826>
15. Sweileh WM, Al-Jabi SW, Sawalha AF, AbuTaha AS, Zyoud SH. Bibliometric analysis of worldwide publications on antimalarial drug resistance (2006-2015). Malar Res Treat. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/6429410>
16. Martínez-Méndez FJ, Pastor-Sánchez JA. Gestión colaborativa de tesauros en Internet. iSGAT. Scire: Representación y organización del conocimiento. 2003;9:85-98.
17. Archivo General de la Nación. Acervo documental. 2013. Fecha de consulta: 20 de septiembre de 2020. Disponible en: <https://glosario.archivogeneral.gov.co/vocab/index.php?tema=4&acervo=documental>
18. Romani F, Huamani C, González G. Estudios bibliométricos como línea de investigación en las ciencias biomédicas: una aproximación para el pregrado. CIMEL: Ciencia e Investigación Médica Estudiantil Latinoamericana. 2011;16:52-62.

19. Macías-Ángel B del P. Evaluación del retorno de la inversión de la investigación en malaria financiada por Colciencias durante el periodo 1995 - 2005. Bogotá, D. C.: Universidad Nacional de Colombia; 2015.
20. Ministerio de Salud Pública. Iniciativa Regional para la Eliminación de la Malaria en Mesoamérica y República Dominicana – IREM. Santo Domingo; Ministerio de Salud Pública; 2017.
21. Macías-Angel B, Agudelo CA, Ronderos-Torres MM. Categorización de los énfasis de los proyectos de investigación en malaria financiados por Colciencias durante 1995-2005. *Rev Salud Pública*. 2017;19:101-10. <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n1.58957>
22. Universidad ICESI. Breve tutorial para visualizar y calcular métricas de Redes (grafos) en R (para Economistas). Cali: ICESI; 2019.
23. Vidal-Ledo M, Vialart M, Hernández G. Redes sociales. *Educación Médica Superior*. 2013;27:1-14.
24. Prada-Madrid E. Las redes de conocimiento y las organizaciones. *Revista Bibliotecas y Tecnologías de la Información*. 2005;2:23.
25. Humberstone J. Análisis de redes sociales: Identificación de comunidades virtuales en Twitter. *Real y Reflexión*. 2019;50:70-81. <https://doi.org/10.5377/ryr.v50i50.9095>
26. Ander J. Análisis e implementación de redes de interconexión de diámetro baj (tesis). Leioa: Universidad del País Vasco; 2019.
27. Ruhnau B. Eigenvector-centrality - a node-centrality. *Soc Networks*. 2000;22:357-65. [https://doi.org/10.1016/S0378-8733\(00\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0378-8733(00)00031-9)
28. Knudson-Ospina A, Barreto-Zorza M, Castillo C, Mosquera L, Apráez-Ippolito G, Olaya-Másmela L, *et al.* Estrategias para la eliminación de la malaria: una perspectiva afro-colombiana. *Rev Salud Pública*;2019;21:9-16. <https://doi.org/10.15446/rsap.v21n1.76210>
29. Briceño-Gómez C, Tapia-Sequeiros G, Torreblanca-Rodríguez SM, Valdivia-Vargas L, Aquino-Canchari CR. Scientific research on malaria: A bibliometric analysis in Latin America, 2011-2020. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*. 2021;61:588-95. <https://doi.org/10.52808/BMSA.7E5.614.005>
30. Suárez JO. Análisis bibliométrico de la revista *Infectio*, 1995 a 2011. *Infectio*. 2012.16:166-72. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(12\)70007-3](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(12)70007-3)
31. Instituto Nacional de Salud. Plataforma Web Redes del conocimiento. Fecha de consulta: 5 de abril de 2021. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/Paginas/Redes-de-conocimiento-cientifico.aspx>
32. Instituto Nacional de Salud de Colombia. Medidas de intervención para la constitución de la red de gestión de conocimiento, investigación e innovación en malaria. Fecha de consulta: 5 de abril de 2021. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/BibliotecaDigital/Medidas-para-constitucion-red-malaria.pdf>
33. Agudelo M, Chomali E, Suinaga J, Núñez G, Jordán V, Rojas F, *et al.* Las oportunidades de la digitalización en América Latina frente al Covid-19. Corporación Andina de Fomento, Naciones Unidas, 2020. p. 2-33. Fecha de consulta: 10 de abril de 2021. Disponible en: [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/45360/4/OportDigitalizaCovid-19\\_es.pdf](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/45360/4/OportDigitalizaCovid-19_es.pdf)

Artículo original

## Condiciones de salud de los indígenas hitnü potencialmente expuestos a petróleo crudo (Arauca, Colombia)

Carolina Rivero-Rubio<sup>1</sup>, Angélica I. Navarro-Rodríguez<sup>1</sup>, María C. Castro-Reyes<sup>1</sup>, Óscar Araújo-Quintana<sup>1</sup>, José Moreno-Montoya<sup>2</sup>, Jesús A. Estévez-García<sup>3</sup>, Pablo A. Martínez-Silva<sup>1,4</sup>, Álvaro J. Idrovo<sup>1</sup>, Claudia Amaya-Castellanos<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Subdirección de Estudios Clínicos, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D.C., Colombia

<sup>3</sup> Centro de Investigación en Salud Poblacional, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México

<sup>4</sup> Sinergias - Alianzas Estratégicas para la Salud y el Desarrollo Social, Bogotá, D.C., Colombia

**Introducción.** El pueblo hitnü vive en condiciones sanitarias precarias, con inseguridad alimentaria y víctima de la violencia sociopolítica en Arauca (Colombia). Además, se sospecha que pueden estar afectados por la exposición a los hidrocarburos del petróleo.

**Objetivo.** Identificar los eventos de salud del perfil de morbilidad y mortalidad de los indígenas hitnü que podrían asociarse con la exposición a petróleo crudo.

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio transversal con indígenas hitnü, durante febrero y marzo de 2021, época de sequía. Se aplicó un cuestionario de hogares y uno individual para recolectar datos del ambiente peridomiciliario, ocupaciones y otras actividades, así como datos sociodemográficos, signos, síntomas y hallazgos de un examen médico.

La potencial asociación con los hidrocarburos se exploró considerando tres grupos, según su localización: cabecera de Arauca, resguardo Aspejená (no expuestos) y resguardos de San José del Lipa y La Voráquina (expuestos por su cercanía al río Ele y afluentes). Con listados libres, se exploraron las causas de muerte. El estudio incorporó un riguroso manejo intercultural en todos sus componentes.

**Resultados.** Participaron 576 indígenas de 16 asentamientos. El agua consumida pudo servir como medio de exposición a los hidrocarburos. Los problemas de salud fueron muy variados e incluían enfermedades infecciosas y crónicas, malnutrición y trauma. Las masas en el cuello se asociaron con residir en los resguardos ancestrales (RP=3,86; IC<sub>95%</sub> 1,77-8,39), territorios potencialmente expuestos al petróleo. Las causas de muerte más relevantes fueron el homicidio, los tumores y la tuberculosis.

**Conclusión:** Por su posible asociación con los hidrocarburos, es prioritario el estudio intercultural de linfadenopatías entre indígenas potencialmente expuestos al petróleo.

**Palabras clave:** salud de poblaciones indígenas; contaminación por petróleo; salud ambiental; perfil de salud; cáncer; epidemiología

### Health conditions of Hitnü indigenous people potentially exposed to crude oil in Arauca, Colombia

**Introduction:** The Hitnü indigenous people live in precarious sanitary conditions, with food insecurity and being victims of sociopolitical violence in Arauca, Colombia. In addition, it is possible that they may be affected by exposure to hydrocarbons found in oil.

**Objective:** To identify the health outcomes of morbidity and mortality profiles of the Hitnü people that could be associated with the exposure to crude oil.

**Materials and methods:** A cross-sectional study was carried out with Hitnü indigenous people, during February and March, 2021, time of drought. A household questionnaire was applied, and one individual to collect data from the environment around the house, occupations and other activities, as well as data from sociodemographic, signs, symptoms, and findings of a medical examination. The potential association with hydrocarbons was explored considering three groups: inhabitants in Arauca city, Aspejená reserve (not exposed), and San José del Lipa and La Voráquina reserves (exposed by the Ele river and tributaries). With free listings, causes of death were explored. The study incorporated a rigorous intercultural management in all its components.

**Results:** A total of 576 indigenous people from 16 settlements participated. The water consumed could serve as means of exposure to hydrocarbons. Health problems were very varied, including infectious and chronic diseases, malnutrition, and trauma. The masses on the neck were associated with residing in the ancestral reserves (PR = 3.86; CI<sub>95%</sub> 1.77-

**Recibido:** 23/05/2022

**Aceptado:** 24/10/2022

**Publicado:** 29/10/2022

#### Citación:

Rivero-Rubio C, Navarro-Rodríguez AI, Castro-Reyes MC, Araújo-Quintana O, Moreno-Montoya J, Estévez-García JA, *et al.* Condiciones de salud de los indígenas hitnü potencialmente expuestos a petróleo crudo (Arauca, Colombia). *Biomédica*. 2022;42:679-96. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6591>

#### Correspondencia:

Álvaro Javier Idrovo, Departamento de Salud Pública, Escuela de Medicina, Universidad Industrial de Santander, Carrera 32 N° 29-31, Bucaramanga, Colombia  
Teléfono: +(577) 634 4000, extensión 3195  
[idrovoaj@yahoo.com.mx](mailto:idrovoaj@yahoo.com.mx)

#### Contribución de los autores:

Carolina Rivero-Rubio, Pablo A. Martínez-Silva, Álvaro J. Idrovo y Claudia Amaya-Castellanos: diseño del estudio  
Carolina Rivero-Rubio, Jesús A. Estévez-García, Angélica I. Navarro-Rodríguez, María C. Castro-Reyes y Óscar Araújo-Quintana: componente médico  
José Moreno-Montoya y Álvaro J. Idrovo: análisis estadísticos  
Todos los autores participaron en la escritura del manuscrito.

#### Financiación:

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología (contrato N° 942 de 2019), el Fondo de Investigación en Salud del Ministerio de Salud y Protección Social, la Universidad Industrial de Santander, la Universidad del Sinú Elías Bechara Zainúm y la Fundación Santa Fe de Bogotá.

#### Conflicto de intereses:

No hubo ninguno.

8.39), territories with potential exposure to crude-oil. The most relevant causes of death were homicide, tumors, and tuberculosis.

**Conclusion:** For its possible association with exposure to hydrocarbons, it is a priority to start the intercultural study of lymphadenopathies in indigenous communities potentially exposed to crude oil,

**Key words:** Health of indigenous peoples; petroleum pollution; environmental health; health profile; cancer; epidemiology.

El petróleo crudo está constituido por una mezcla de sustancias químicas, entre las que sobresalen por su toxicidad el benceno, el xileno, el tolueno y otros hidrocarburos aromáticos policíclicos (1). Debido a estos compuestos y sus mezclas, la extracción petrolera se ha asociado con el incremento de diversos efectos adversos para la salud, entre los que sobresalen los daños hematológicos, los cromosómicos y otras expresiones de genotoxicidad, abortos espontáneos, deterioro de la calidad del semen y trastornos respiratorios diversos, así como cambios conductuales, específicamente entre menores de edad residentes en lugares con derrames de petróleo (2).

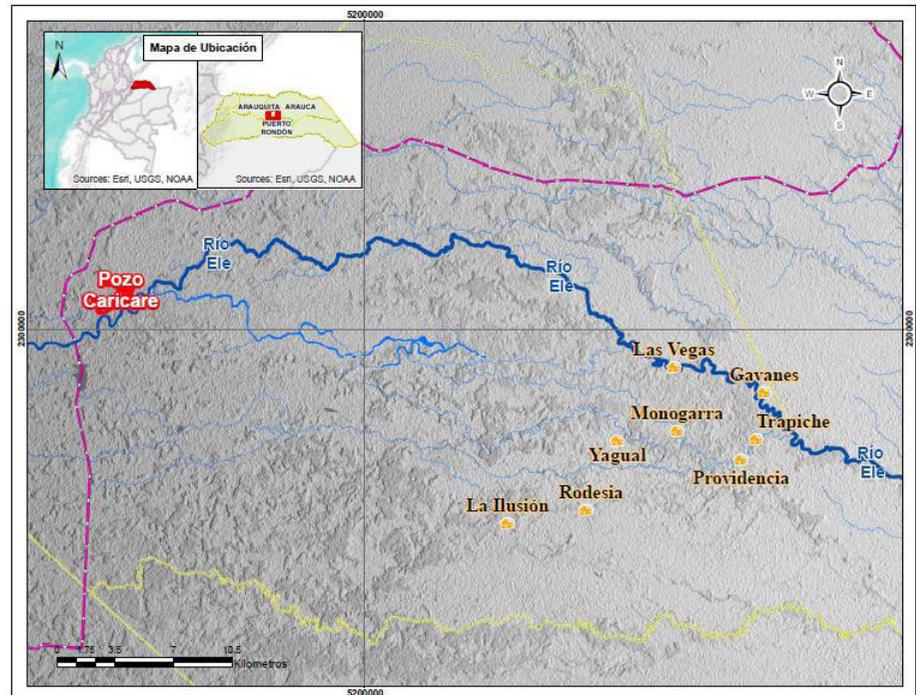
Reconociendo que pueden existir diferencias con los grupos indígenas amazónicos, en una revisión reciente se sugirió que las actividades de extracción petrolera en estas comunidades se asocian con neoplasias, especialmente, cáncer en estómago, recto, piel, tejidos blandos, riñones y cuello uterino en adultos, y leucemia entre menores de edad (3).

En Colombia, la extracción petrolera es un importante generador de divisas, siendo el departamento de Arauca una de las zonas con mayor producción, pese al contexto de conflicto armado existente desde décadas atrás (4). Tres de los campos petroleros más importantes de esta región son: Caño Limón, Caricare y Chipirón; este último se encuentra en medio de la estera de Lipa y ha sido el detonante de quejas de diversos líderes sociales y de un conflicto socioambiental aún vigente. Véase: <https://ejatlas.org/conflict/destruccion-ecosistema-bioestrategico-el-lipa-arauca-colombia>

Los esteros son ambientes acuáticos de zonas planas y bajas que, debido a sus múltiples conexiones con caños, se inundan en épocas lluviosas. Dado el ecosistema de esteras, en el caso del campo petrolero Caricare, existe la posibilidad de que las piscinas presentes en los campos petroleros viertan su contenido en los esteros, especialmente en épocas lluviosas, y que de allí pase al río Ele (figura 1).

Debido a las condiciones precarias de los indígenas hitnū identificadas por funcionarios públicos que estuvieron años atrás en sus territorios, en 2017, un juez solicitó al Ministerio de Salud y Protección Social adelantar un estudio para valorar más detalladamente la situación (5), labor que fue delegada a instituciones académicas y de salud. El diseño original del estudio fue hecho por dependencias del Ministerio de Salud y Protección Social, con un enfoque totalmente epidemiológico, por lo que el equipo investigador incorporó otros componentes metodológicos, con el fin de hacerlo más sólido en la medición de la exposición a hidrocarburos y la búsqueda de efectos adversos.

El presente estudio epidemiológico hace parte de este proyecto de salud ambiental, y corresponde a la aproximación panorámica de las condiciones de salud del pueblo hitnū, que buscó identificar y seleccionar los eventos de salud que podrían ser explorados de manera más detallada. Se espera que el enfoque de identificación de posibles efectos adversos de salud ambiental usado en esta experiencia sirva de ejemplo a futuros estudios similares en poblaciones en situación de vulnerabilidad y de difícil acceso.



Fuente: Grupo de Geomática, Universidad Industrial de Santander

**Figura 1.** Ubicación de las comunidades hitnü en los territorios ancestrales y su relación con el pozo Caricare. El río Ele y sus afluentes en una zona de esteros de la Orinoquia colombiana, durante periodos de sequía

## Materiales y métodos

### Contexto

El pueblo hitnü es un grupo indígena de tradición nómada que, debido a las actividades de ganadería y agricultura de los colonos, la extracción petrolera y los grupos armados ilegales, se ha asentado en territorios reducidos y en condiciones muy precarias (6). Los territorios ancestrales, todavía ocupados por las comunidades hitnü, están ubicados en los resguardos de San José del Lipa y La Vorágine, en los municipios de Arauca y Arauquita, ambos en el departamento de Arauca (7,8). Además, hay un grupo creciente de indígenas asentado en la cabecera municipal de Arauca, en condiciones muy precarias, y otro grupo, en el recién creado resguardo de Aspejená en el municipio de Puerto Rondón, donde se han ubicado con el propósito de escapar de diversos hechos de violencia sociopolítica.

Actualmente, las comunidades hitnü tienen relación estrecha con el río Ele, y otras fuentes de agua relacionadas, por lo que es posible que la contaminación generada en el campo petrolero Caricare llegue por medio del agua a los individuos residentes en sus riberas, aproximadamente 30 km río abajo. Otras formas de exposición, como la vía aérea, no se consideraron relevantes en este caso debido a los hallazgos de un estudio ambiental previo (Amaya-Castellanos CI, Idrovo AJ. Petróleo, despojo y enfermedad entre el pueblo Hitnü. Una experiencia de investigación intercultural en salud ambiental. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander). Además, se han registrado y observado cambios en la coloración del río, junto con manchas oleosas que fueron reportadas durante la exploración etnográfica de este estudio. Esto puede ser similar a lo ocurrido en el río Arauca y sus afluentes, por donde se transportaron hidrocarburos muchos kilómetros río abajo de donde ocurrieron derrames o explosiones de oleoductos (9).

Además, es importante señalar que el cambio cultural impuesto al pueblo hitnú, al pasar del nomadismo al sedentarismo de manera rápida, ha tenido un enorme impacto en sus formas de vida. Esto ha generado serios problemas de saneamiento básico e inseguridad alimentaria, junto a problemas de violencia intracomunitaria, con los colonos y con grupos al margen de la ley, así como el incremento en la prevalencia de enfermedades infecciosas. Esta situación es similar a la ocurrida con el pueblo nukak en el departamento del Guaviare (10), y a la que sufrió el pueblo u'wa en el nororiente colombiano (11).

### **Diseño, población y muestra**

Se realizó un estudio de corte transversal con indígenas de distintas edades que aceptaron participar voluntariamente, constituyendo así, una muestra significativa de la población hitnú. Si bien se tenían datos del último censo nacional de 2019 (n=513), con el fin de realizar un muestreo representativo, después de contactar a algunos representantes indígenas se identificó que era culturalmente más adecuado hacer un censo *in situ* como parte del estudio (n=658, durante el trabajo de campo). Esta sería una oportunidad única de conocer su condición de salud, algo útil para la comunidad, debido a las grandes dificultades de acceso a los servicios de salud. De esta manera, durante el trabajo de campo se buscó actualizar los datos poblacionales y de salud, quedando por fuera del censo únicamente quienes no se encontraban en los asentamientos en el momento del trabajo de campo o aquellos que libremente decidían no participar.

### **Recolección de datos**

Por causa de la pandemia de COVID-19, el trabajo de campo tuvo que esperar a que los gobiernos nacional y departamental, así como las autoridades indígenas, permitieran el ingreso al territorio. De esta manera, el trabajo de campo se llevó a cabo entre mediados de febrero y comienzos de marzo de 2021, época que corresponde a la temporada sin lluvias. Esto facilitó el acceso por vía terrestre y tuvo como consecuencia que los problemas de salud asociados a las temporadas lluviosas fueran menos frecuentes, incluyendo los de aparición aguda, posiblemente relacionados con la exposición hidrocarburos por vía hídrica.

Los datos fueron recolectados en tres tipos de instrumentos: uno para datos de vivienda y familia, que fue contestado por el jefe del hogar; el segundo, para recolectar datos individuales, contestado por cada participante o el encargado de su cuidado, y el tercero fue una guía de examen físico, que fue diligenciado por un profesional de la medicina.

En el cuestionario sobre vivienda y familia, se indagó sobre ubicación de la vivienda, número de integrantes de la familia, materiales de construcción de la vivienda, servicios disponibles, características de la cocina, acceso y tipo de agua para consumo, actividades para obtener el alimento familiar y casos de familiares fallecidos en los últimos diez años.

El instrumento individual tuvo un componente general, y unos ítems especiales para los menores de edad y las mujeres. En este, se indagó el sexo, la edad, la calidad de la convivencia, la dependencia económica y social, el alfabetismo, las ocupaciones, y el consumo de alcohol, cigarrillo, café y yopo (sustancia alucinógena de origen vegetal, usada en rituales). De igual manera, se obtuvo información sobre la condición de salud general,

signos y síntomas variados en los diferentes sistemas y órganos corporales. En el caso de las mujeres, se adicionaron ítems que permitieran obtener información sobre la menarquia, la menstruación, los embarazos previos y resultados reproductivos.

El examen físico incluyó signos vitales, un examen por segmentos corporales (cabeza, tronco y miembros) y por sistemas; se incluyó un apartado amplio para los resultados de la búsqueda de ganglios linfáticos, y un diagnóstico presuntivo, cuando los médicos así lo consideraron.

El instrumento usado para recolectar datos se elaboró en español, porque no existe escritura en el pueblo hitnü (12). Para un mejor entendimiento de las preguntas, los encuestadores leían las preguntas en español y las explicaban si era requerido, incluso usando expresiones faciales o señales con las manos. La comprensión de los cuestionarios sobre el hogar y el individual, fueron validados con indígenas.

Quienes recolectaron la información mediante cuestionario fueron dos indígenas con estudios universitarios (una sikuaní y otro inga), y una auxiliar de enfermería. Las tres personas eran conocidas por la comunidad hitnü e, incluso, fueron recomendados por ellos mismos por la confianza que les generaban y la mayor facilidad para la comunicación oral.

Los exámenes físicos fueron practicados por médicos graduados, dos mujeres y un hombre, previamente entrenados para hacerlo de manera estandarizada, siguiendo un instrumento diseñado *ad hoc* por un médico toxicólogo experto en salud ambiental. En todo momento, el equipo investigador estuvo acompañado por un médico con reconocida experiencia con indígenas a nivel nacional, una antropóloga y una trabajadora social; entre sus actividades estuvo el asesorar y cuidar para que hubiese respeto hacia la cultura hitnü en todos los momentos del estudio, pero, con especial énfasis, durante el trabajo de campo por el contacto estrecho. Además, los líderes del equipo investigador ya contaban con experiencia previa en estudios con población indígena.

Siguiendo las costumbres del pueblo hitnü, la convocatoria a participar en el estudio estuvo acompañada de una “olla comunitaria”, en la que el equipo investigador llevaba la comida (con preferencia por la carne de res, a la que suelen tener poco acceso), o se la compraba a los mismos indígenas. Además, durante el trabajo de campo, se requirió la participación de traductores que acompañaron a los investigadores en sus diversas actividades, así como, el apoyo de lancheros para la movilidad fluvial (ríos y caños), y el transporte hasta algunos asentamientos distantes. Las cocineras y leñadores encargados de cocinar los alimentos de la “olla comunitaria”, fueron indígenas hitnü que recibieron un pago económico por sus servicios.

Cuando se requirió, se hicieron trueques de participación con objetos considerados útiles entre indígenas e investigadores. Durante el trabajo de campo, los investigadores vivieron en similares condiciones a las de los indígenas, incluso, durmieron en viviendas sin muros (características de los indígenas hitnü) o en casas de colonos. Mayores detalles sobre este tema se encuentran en otro escrito (Amaya-Castellanos CI, Idrovo AJ. Petróleo, despojo y enfermedad entre el pueblo Hitnü. Una experiencia de investigación intercultural en salud ambiental. Bucaramanga: Universidad Industrial de Santander).

### **Medición de la exposición**

Dado el carácter exploratorio del presente estudio sobre la exposición al petróleo crudo o a las actividades relacionadas con el proceso extractivo, se optó por una aproximación en los asentamientos, que corresponden a la región donde suelen realizar actividades cotidianas, incluyendo las que implican contacto con el agua; de esta manera, los asentamientos fueron clasificados en tres grupos, así:

- i. los localizados en los resguardos de San José de Lipa y La VoráGINE, en los municipios de Arauca y Arauquita, territorios ancestrales del pueblo hitnü. Las condiciones de saneamiento básico y seguridad alimentaria eran variadas, pero, dado que por allí pasa el río Ele, es posible que se hubiera presentado exposición al petróleo crudo u otros químicos usados en su extracción.
- ii. los localizados en la cabecera municipal de Arauca, que incluyó a individuos que habían sido desplazados violentamente de sus territorios (asesinato de sus líderes) y tenían problemas de saneamiento básico e inseguridad alimentaria de diversa magnitud. Se supone que no habían estado expuestos recientemente a las mezclas de petróleo crudo o a las sustancias usadas en su extracción.
- iii. los localizados en el resguardo de Aspejená, en el municipio de Puerto Rondón, donde se encuentran individuos que fueron desplazados violentamente de sus territorios originales, y que han sido reubicados lejos de posibles fuentes de exposición a mezclas de petróleo crudo o sustancias usadas en su extracción. Sus condiciones de saneamiento básico y alimentación son mejores que en los asentamientos anteriores, y están alejados de la cabecera municipal.

### **Resultados y covariables**

Partiendo del supuesto de que en salud ambiental suele ser difícil encontrar asociaciones entre exposición y eventos en salud, por la poca frecuencia de estos últimos y las dificultades de medir apropiadamente la exposición (13,14), los instrumentos del estudio se diseñaron, específicamente para explorar e identificar varios eventos de salud, con potencial de ser estudiados con el tamaño de muestra disponible en el contexto de un estudio transversal. Si bien se exploraron muchos síntomas y eventos autorreportados, así como signos identificados por los médicos, por motivos de espacio, únicamente se presenta un número limitado de datos que sirvan para vislumbrar el perfil general de morbilidad del pueblo hitnü, y para mostrar la lógica utilizada para seleccionar los eventos adversos que requieren un análisis específico para determinar su potencial asociación con los hidrocarburos del petróleo provenientes del pozo Caricare.

### **Métodos estadísticos y listados libres**

Inicialmente, se describieron las variables categóricas mediante porcentajes, y las cuantitativas con medidas de tendencia central y dispersión, según la distribución observada. Esto permitió hacer comparaciones de ocurrencia entre los grupos de interés, e incorporar los hallazgos en el algoritmo de identificación de eventos adversos potencialmente asociados con la exposición a hidrocarburos en la explotación petrolera del pozo Caricare.

Es importante señalar que hubo variables que no fueron respondidas por todos los participantes, ocasionando la aparición de datos faltantes. En los eventos de salud que se encontró que podían ser investigados de manera más detallada, se estimaron razones de prevalencia (RP) crudas, con sus respectivos intervalos de confianza de 95 %, para evaluar su asociación con los grupos de exposición.

Además de estos análisis, y dado que era difícil verificar si se repetían o no los casos de familiares fallecidos, la aproximación a la mortalidad se hizo mediante listados libres.

Este método es de uso principalmente antropológico, aunque se fundamenta en el estudio clásico de psicología experimental de Bousfield y Barclay (15). En epidemiología tiene diversos usos, pero el que se buscó en este caso fue el de identificar perfiles epidemiológicos de mortalidad, con base en el conocimiento lego (16). El instrumento permitió recolectar datos de hasta cinco fallecidos, de tal manera que el orden en que eran enunciados, y las veces en que se repetía entre todos los informantes, permitió generar el indicador de relevancia denominado “*saliency*” de Smith (17). Esta aproximación no muestra la frecuencia del evento, sino su importancia para la comunidad (18).

### **Identificación y selección de eventos con potencial para profundizar**

Los eventos de salud de origen ambiental no son fáciles de identificar. Por un lado, pueden ser muy específicos de algunos agentes ambientales (unicausales), pero de muy baja ocurrencia; la otra opción es que sean más frecuentes, pero con varios factores asociados (multifactoriales) (19). En el caso de los hidrocarburos presentes en el petróleo crudo, no existen eventos del primer tipo, por lo que su identificación se fundamenta en establecer su mayor ocurrencia entre quienes tienen una exposición mayor; en este caso, esto indica que debe ser mayor entre quienes viven en los resguardos en territorios ancestrales.

De acuerdo con el objetivo del estudio, este se enfocó solo en estos casos, pues cuando había diferencias que mostraban mayor frecuencia en zonas sin exposición, estas se descartaron para su análisis posterior.

Además, teniendo en cuenta las limitaciones temporales, metodológicas y presupuestales, los eventos de interés para un estudio más detallado debían ser detectables mediante una anamnesis sencilla y un examen físico practicado por un médico, sin el apoyo de exámenes paraclínicos.

El proceso seguido para identificar y seleccionar los eventos potencialmente asociados con la exposición se muestra en la figura 2. Se escogió explorar la ocurrencia de cáncer, efectos reproductivos y efectos neurotóxicos, principalmente. Con los signos y síntomas reportados, los médicos pudieron llegar a una impresión diagnóstica que fue complementada con análisis de los datos clínicos para obtener los diagnósticos sindromáticos (20), que podían servir para hacer el diagnóstico diferencial.

Nótese que, además de lo anterior, se tuvieron en cuenta las posibles causas de muerte, y las que pudieran mejorar el diagnóstico médico mediante el uso de tres biomarcadores definidos *a priori*.

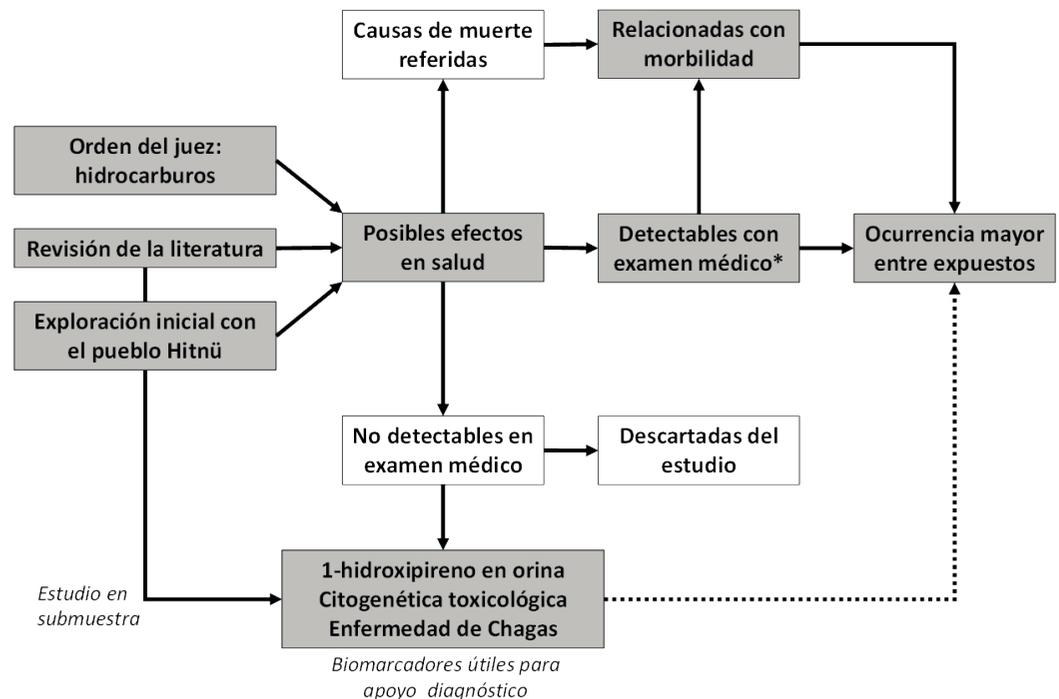
El 1-hidroxipireno fue seleccionado por ser el mejor biomarcador de exposición a hidrocarburos del petróleo; la citogenética toxicológica es un biomarcador de sensibilidad importante cuando hay exposición a

hidrocarburos, dado su potencial cancerígeno (21). Por último, la enfermedad de Chagas también fue seleccionada, debido a que la región donde vive la población hitnü se considera endémica (22), lo cual podría tener un efecto sinérgico o antagónico con la exposición a hidrocarburos, de manera similar a lo observado con la malaria y la exposición a mercurio (23). Con este procedimiento se buscó evitar lo que, en jerga epidemiológica, se conoce como “expedición de pesca” (*fishing expedition*), que puede llevar a falsos positivos (24) y disminuir la eficiencia del estudio.

**Otras consideraciones interculturales**

Siguiendo los lineamientos del *CONSIDER statement* para estudios relacionados con personas indígenas (25), se intentó tener en todo momento el máximo respeto por la cultura del pueblo hitnü, apoyándose con traductores en los casos en que fue necesario. En relación con la gobernanza, primero se siguieron los pasos sugeridos por las comunidades indígenas de la región para contactarlos, y se tuvo especial consideración en identificar las autoridades tradicionales para que asumieran su rol protagónico.

En las reuniones comunitarias del estudio, se explicaron detalladamente todas las actividades por realizar, haciendo énfasis en los beneficios y los posibles riesgos de participar; fue claro en todo momento que el estudio fue priorizado por ellos mismos, dadas las carencias señaladas por el juez que ordenó la realización del estudio. Las actividades del estudio se explicaron oralmente en reuniones comunitarias y se solicitó consentimiento individual a los participantes para las diversas actividades. Los hallazgos obtenidos en el estudio fueron informados a la población hitnü, teniendo en cuenta las diferencias culturales, y se tuvo una reunión especial con las autoridades para explicarles en mayor detalle y, finalmente, una reunión conjunta con las autoridades, los encargados de su atención en salud y las autoridades de otros pueblos indígenas de la región.



**Figura 2.** Proceso observado para la identificación de eventos en salud potencialmente asociados con la exposición a hidrocarburos y con posibilidades de ser investigados

Dado que el trabajo de campo se llevó a cabo en medio de la pandemia de COVID-19, cuando aún no se había iniciado la vacunación, y es bien conocido el potencial efecto adverso que los microorganismos pueden tener en la salud de los indígenas, el equipo investigador tuvo especial cuidado en desarrollar las actividades siguiendo protocolos de bioseguridad. El seguimiento durante varias semanas después del encuentro entre los individuos del pueblo hitnü y los investigadores en campo, permitió verificar que no hubo casos incidentes en ninguno de los grupos.

### **Consideraciones éticas**

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander (Acta del 5 de febrero de 2021), después de que los investigadores lograron obtener aprobación oral para la realización del estudio por parte de representantes del pueblo hitnü, en una reunión presencial a la que asistieron dos de los investigadores.

### **Resultados**

#### **Caracterización de los asentamientos**

Antes de presentar las características de los grupos de estudio, es importante señalar los asentamientos y el número de hogares (nh) que los conforman. En el grupo localizado en la cabecera de Arauca, se incluyeron: Bello Horizonte (nh=6), Matevenado (nh=5), Villa Esperanza (nh=1), Caño Jesús (nh=5), Mategallina (nh=3) y El Paraíso (nh=14). Por su parte, los resguardos ancestrales incluyeron los asentamientos de Las Vegas (nh=21), Gavanés (nh=5), Providencia (nh=3), Trapiche (nh=8), Monogarra (nh=13), Caño Azul (nh=4), Yagual (nh=7), Rodesia (nh=8) y La Ilusión (nh=14). El resguardo de Aspejená se encuentra en un grupo independiente de análisis con 30 hogares.

En el cuadro 1 se presentan las características principales de las viviendas. Como se puede apreciar, se observan cambios asociados con el proceso de sedentarización de un grupo nómada; se pasa de viviendas con material vegetal y sin paredes, al uso de material artificial (26). Es evidente que no abunda la infraestructura para tener agua potable, ni para defecar u orinar. La cocina, pese a los cambios, la mayoría de las veces es al aire libre, aunque hay una tendencia a tener un lugar cerrado diferente al de dormir, de acuerdo con la sedentarización; el combustible sigue siendo la biomasa, y cocinar es una actividad de las mujeres de manera predominante.

En relación con el consumo de agua, que puede ser el vehículo en que llegan los hidrocarburos a los indígenas que habitan en los resguardos ancestrales, hay diferencias relevantes entre los tres grupos.

En la cabecera, se tiene mayor variedad de fuentes de agua y han dejado de usar el río. En Aspejená, toda el agua es subterránea, por lo que se usan bombas manuales para su extracción. Por último, en los resguardos ancestrales, se mantiene el río Ele y los caños, junto a las bombas manuales y los jagüeyes, como fuentes de agua para consumo. Resulta llamativo que la mayoría bebe agua sin ningún tipo de tratamiento; en ninguna vivienda se informó que se hierva el agua antes de consumirla. En los asentamientos de los resguardos se observaron cultivos, mas no agricultura en sentido estricto (27); son importantes los cultivos de plátano (75,51 %), yuca (74,15 %), maíz (69,39 %) y batata (56,46 %). También, se crían animales, con mayor frecuencia aves como las gallinas.

**Cuadro 1.** Principales características de las viviendas, según regiones con exposición potencial a hidrocarburos del petróleo proveniente del pozo Caricare, establecidas para el estudio (n=147)

Variable	No expuestos		Expuestos	p
	Cabecera de Arauca (n=34)	Resguardo Aspejená (n=30)	Resguardo San José del Lipa y La Vorágine (n=83)	
<b>Paredes (%)</b>				
Ladrillo	0	0	6,25	
Guaduas, palos, madera o palma	3,70	75,86	33,75	
Caucho, plásticos o cartón	81,48	20,69	10	
Cinc o metal	3,70	0	0	
Sin paredes	11,11	3,45	50	<0,001*
<b>Piso (%)</b>				
Tierra	90,91	100	91,25	
Madera	0	0	6,25	
Cemento	9,09	0	2,50	0,096*
<b>Techo (%)</b>				
Plástico	64,71	3,33	1,20	
Madera o palma	5,88	23,33	89,16	
Cinc o metal	29,41	73,33	9,64	<0,001
Acueducto <sup>a</sup> (%)	2,94	0	0	0,435
<b>Lugar para orinar/defecar (%)</b>				
Monte	85,29	100	100	
Hueco o letrina	5,88	0	0	
Inodoro	8,82	0	0	0,002*
<b>Lugar de cocina (%)</b>				
Aire libre	82,35	66,67	57,83	
Cerrado; aparte para cocinar	14,71	33,33	26,51	
Cerrado; donde duermen.	2,94	0	10,84	
No cocinan en su vivienda.	0	0	4,82	0,073*
<b>Combustible para cocinar (%)</b>				
Madera	94,12	100	98,80	
Gas	5,88	0	1,20	0,240*
Mujeres cocinan (%)	88,24	90	95,18	0,321*
Menores de edad cocinan (%)	14,71	6,67	13,25	0,620*
Hombres cocinan (%)	8,82	33,33	27,71	0,035*
<b>Agua para consumo (%)</b>				
Acueducto	20,59	0	1,20	<0,001*
Bomba manual ("puntillo")	73,53	100	44,58	<0,001*
Jagüey (zanja con agua)	2,94	0	36,14	<0,001*
Río o caño	0	0	24,10	<0,001*
Tratamiento del agua (%)	5,88	23,33	22,89	0,062*
Falta agua para consumo (%)	70,59	73,33	74,70	0,901
Agua con mal sabor (%)	32,35	40	69,88	<0,001*
Agua con mal olor (%)	17,65	26,67	66,27	<0,001
Agua de color oscuro (%)	14,71	30	61,45	<0,001
Tienen cultivos (%)	29,41	83,33	86,75	<0,001
Cazan y pescan (%)	23,53	76,67	85,54	<0,001
Crían aves (%)	26,47	83,33	68,67	<0,001
Crían ganado vacuno <sup>b</sup> (%)	0	3,33	27,71	<0,001*

<sup>a</sup> Esta variable tiene una distribución similar a la del servicio eléctrico y el alcantarillado (no se presentan los datos).

<sup>b</sup> Esta variable tiene una distribución similar a la de la cría de vacunos (no se presentan los datos).

### Caracterización de los participantes

Con base en el propio censo llevado a cabo durante el trabajo de campo, en este estudio participaron 86,93 % (572/658) de los miembros del pueblo hitnü; la mayoría de los no participantes estaban trabajando en labores agrícolas fuera de los asentamientos, de acuerdo con la información brindada por sus familiares.

En el cuadro 2 se resumen algunas características de los individuos participantes. Como se puede apreciar, es un grupo con proporciones similares entre mujeres y hombres, de edad muy joven en su gran mayoría. El analfabetismo es alto, y el nivel de escolaridad de la población no suele sobrepasar la primaria. Se dedican a diversas actividades, y las que tienen

que ver con el sustento alimentario todavía son mayoritarias. Consumen alcohol (principalmente en forma de vinete), tabaco y yopo; este último se mantiene como algo principalmente ritual entre los mayores.

**Cuadro 2.** Características de los indígenas hitnũ participantes en el estudio, según grupos de potencial exposición a los hidrocarburos del petróleo extraído en el pozo Caricare (n=572)\*

Variable	n	No expuestos		Expuestos	p
		Cabecera de Arauca (n=34)	Resguardo Aspejená (n=30)	Resguardo San José del Lipa y La Vorágine (n=83)	
Sexo: mujeres (%)	572	73 (53,68)	42 (45,65)	177 (51,45)	0,479
Edad (años)					
Mediana	565	14	18	12	0,175
Percentil 75		27	30	30	
(mínimo-máximo)		(0,08 – 78)	(1 – 69)	(0,25 – 70)	
Sin dato*		1	0	10	
Alfabetismo (%)	274	36 (54,55)	38 (65,52)	66 (44,00)	0,017
Educación					
Sin estudios (%)	409	21 (24,42)	13 (18,31)	84 (33,33)	0,009
Primaria (%)		46 (53,49)	36 (50,70)	118 (46,83)	
Secundaria (%)		16 (18,60)	17 (23,94)	29 (11,51)	
Técnicos/tecnológicos (%)		2 (2,33)	3 (4,23)	3 (1,19)	
Prescolar, sin estudios (%)		1 (1,16)	2 (2,82)	18 (7,14)	
Ocupación					
Cazador (%)	245	12 (26,67)	26 (47,27)	87 (60,00)	<0,001
Pescador (%)	248	12 (27,27)	24 (43,64)	96 (64,43)	<0,001
Agricultor (%)	247	10 (22,22)	35 (66,04)	99 (66,44)	<0,001
Artesano (%)	241	10 (20,83)	12 (26,09)	53 (36,05)	0,101
Cuidado de hijos (%)	247	32 (64,00)	29 (61,70)	96 (64,00)	0,958
Cría de animales (%)	239	4 (9,30)	36 (70,59)	81 (55,86)	<0,001
Consumos adictivos					
Alcohol <sup>a</sup> (%)	562	16 (12,12)	26 (28,26)	136 (40,24)	<0,001
Tabaco (%)	560	18 (13,74)	11 (11,96)	86 (25,52)	0,002
Yopo <sup>b</sup> (%)	560	10 (7,63)	3 (3,26)	62 (18,40)	<0,001
Hallazgos clínicos de desnutrición					
Cabello opaco (%)	528	42 (35,29)	44 (48,89)	206 (64,58)	<0,001
Cabello rojizo (%)	533	4 (3,31)	10 (11,11)	79 (24,53)	<0,001
Emaciación (%)	531	12 (10,00)	8 (8,89)	8 (2,49)	0,002
Coiloniquia (%)	532	14 (11,57)	8 (8,89)	23 (7,17)	0,328
Grasa subcutánea ausente (%)	533	1 (0,83)	1 (1,11)	3 (0,93)	1
Cara edematosa (%)	533	3 (2,48)	3 (3,33)	12 (3,73)	0,811
Cara enflaquecida (%)	529	2 (1,65)	4 (4,49)	3 (0,94)	0,072
Edema abdominal (%)	531	11 (9,17)	8 (8,89)	6 (1,87)	0,001
Signos potencialmente neurotóxicos					
Prueba índice-nariz (%)	498	0 (0,00)	0 (0,00)	14 (4,56)	0,014
Signo de Romberg (%)	499	0 (0,00)	0 (0,00)	15 (4,89)	0,010
Nistagmus (%)	529	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (0,93)	0,749
Temblor al movimiento (%)	533	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,31)	1
Convulsiones (%)	269	0 (0,00)	6 (18,75)	19 (10,73)	0,001
Salud reproductiva					
Abortos espontáneos (%)	140	9 (25,71)	3 (12,00)	25 (31,25)	0,162
Muerte de hijo (%)	136	9 (26,47)	5 (20,00)	26 (33,77)	0,385
Dificultad para lograr embarazo (%)	108	4 (13,33)	4 (21,05)	17 (28,81)	0,255
Menstruación regular (%)	106	23 (88,46)	23 (100)	55 (96,49)	0,134
Otros hallazgos clínicos					
Tiroides palpable (%)	517	44 (36,97)	21 (23,86)	95 (30,65)	0,129
Masa en cuello (%)	519	7 (5,83)	5 (5,68)	70 (22,51)	<0,001
Masa en abdomen (%)	526	0 (0,00)	2 (2,22)	2 (0,63)	0,171
Sangrado nasal (%)	527	0 (0,00)	1 (1,14)	0 (0,00)	0,167
Soplos cardíacos (%)	532	3 (2,48)	3 (3,33)	7 (2,18)	0,822
Hipoventilación torácica (%)	523	3 (2,56)	3 (3,33)	1 (0,32)	0,038
Dolor abdominal a la palpación (%)	530	1 (0,84)	12 (13,33)	22 (6,85)	0,001

\* Algunos participantes no brindaron todas las respuestas, por lo que el tamaño de muestra no fue constante entre las variables.

<sup>a</sup> Lo más frecuente es en forma de vinete, bebida alcohólica elaborada a partir de la savia del árbol de palma real (*Scheelea roystonea regia*).

<sup>b</sup> Polvo alucinógeno de color verde-amarillo para uso inhalado; se basa en semillas de *Anadenanthera peregrina*, mezclado con plátano, miel y caracol, entre otros; su principal uso es ritual.

\* Algunos indígenas hitnũ no conocen su edad o pueden no conocerla con exactitud.

### **Perfil de morbilidad**

Hubo signos y síntomas de baja ocurrencia que fueron descartados para la descripción y los posteriores análisis (no se muestran por su extensión). A continuación, se presentan algunos hallazgos que sirven para evidenciar el perfil general de morbilidad, y de eventos potencialmente asociados con la exposición a los hidrocarburos.

En relación con los síntomas, los cuales son muy variados, es notorio que la cefalea, la fiebre, las palpitaciones, la hematuria, la disnea, el dolor abdominal y la diarrea, ocurran principalmente en los asentamientos no urbanos. Otras manifestaciones clínicas, como: poliuria, picazón en la nariz, rinorrea, estornudos, faringitis, tos y flemas, son más frecuentes en los resguardos ancestrales.

En relación con los signos identificados por los médicos, fue notorio que la emaciación y la hipoventilación torácica fueron más frecuentes entre quienes viven en zonas urbanas o el resguardo de Aspejená, en comparación con los territorios ancestrales.

El cabello opaco o rojizo, las masas en el cuello, la prueba índice-nariz fallida y el signo de Romberg, se observaron más frecuentemente entre quienes viven en los resguardos ancestrales.

En relación con los eventos reproductivos, es evidente una mayor ocurrencia de abortos, muerte de hijos, y dificultades para lograr el embarazo, entre quienes viven en los resguardos. Sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas, quizá por el tamaño reducido de la muestra con respecto a las mujeres que respondieron estas preguntas.

Al expresar las asociaciones con la relación de proporción (RP) y tomando como referencia el grupo que está en zonas urbanas, se observó que las masas en el cuello detectadas por los médicos se asociaban con el grupo de exposición en los resguardos ancestrales (RP=,86; IC<sub>95%</sub> 1,77-8,39). Esto concuerda con el autorreporte de “chichones” en el grupo de Aspejená (RP=2,66; IC<sub>95%</sub> 1,65-4,29); y en el grupo de los resguardos ancestrales (RP=1,92, IC<sub>95%</sub> 1,28-2,96). No hubo otros eventos asociados con el grupo expuesto, por lo menos en una primera exploración bivariada

### **Perfil de mortalidad**

Después de la reclasificación, los listados libres permitieron identificar 18 causas de muerte, que incluyeron: causas externas, enfermedades infecciosas y crónicas variadas e, incluso, síndromes de filiación cultural (cuadro 3). Se destaca el homicidio en el primer lugar, lo que denota la importancia que tiene la violencia que ha sufrido el pueblo hitnü; le siguen los tumores, que pueden ser de diferente origen y que podrían asociarse con la contaminación por hidrocarburos o enfermedades infecciosas. En tercer lugar, se encuentra la tuberculosis, seguida por las cardiopatías que pueden ser de origen chagásico, pues se sabe que la enfermedad es endémica en la región y entre los hitnü (22). Resulta interesante observar que el alcoholismo y el suicidio (28,29), el hambre (30), la mordedura de serpientes y la “brujería,” son frecuentes entre los indígenas colombianos.

**Cuadro 3.** Importancia reportada de las causas de muerte informadas por el jefe del hogar; resultados de listados libres

Causa de muerte	(%) <sup>a</sup>	Posición promedio <sup>b</sup>	Relevancia <sup>c</sup>	Observaciones
Homicidio	24,4	1,27	0,219	Incluye por guerrilla, paramilitares y ejército, y minas antipersona. Incluye cáncer, "masas" y "chichones"
Tumor	13,3	1,17	0,122	
Tuberculosis	13,3	1,33	0,115	
Gastrointestinal	8,9	1	0,089	
Cardiopatía	8,9	1	0,089	
No sabe	8,9	1	0,089	
COVID-19	8,9	1,25	0,078	Datos oficiales, no tienen este registro.
Alcoholismo	6,7	1,33	0,056	
Vejez	6,7	1,67	0,052	
Hambre	4,4	1	0,044	
Respiratorio	4,4	2	0,022	
Ofidismo	2,2	1	0,022	Possible mordedura de Bothrops sp.
Suicidio	2,2	1	0,022	
"Brujería"	2,2	1	0,022	
Sangrado interno	2,2	1	0,022	
Muerte materna	2,2	1	0,022	
Ahogamiento	2,2	2	0,015	
Nefropatía	2,2	3	0,007	

<sup>a</sup> Número de participantes que incluyeron la respuesta.

<sup>b</sup> Es el valor promedio de la posición en las listas de la respuesta.

<sup>c</sup> Valores de indicadores de relevancia (salience) de Smith

## Discusión

Los hallazgos del presente estudio sugieren que, en el perfil de morbimortalidad del pueblo hitnü, tienen preponderancia las enfermedades infecciosas y crónicas, así como las lesiones traumáticas y los problemas nutricionales. Hay una amplia variedad de condiciones de salud, que parecen depender en gran medida del contexto, las cuales sugieren ser consecuencia acentuada de los factores determinantes socioculturales y ambientales. La rápida transición del nomadismo al sedentarismo sin seguridad alimentaria (31) y el desplazamiento forzado, parecen ocasionar cambios, y unos de sus efectos más evidentes son la desnutrición, en la región urbana, y el sobrepeso y obesidad entre algunos subgrupos de Aspejená y de los resguardos ancestrales. Esto último parece estar relacionado con la estratificación social interna de cada asentamiento. Es un perfil epidemiológico muy particular, ajeno a lo observado a nivel nacional; se evidencian la pobreza extrema y la falta de acceso a servicios de salud.

Las enfermedades infecciosas están presentes ampliamente, desde las más comunes, como las infecciones respiratorias y gastrointestinales, hasta enfermedades crónicas como la tuberculosis y la enfermedad de Chagas; de esta última se confirmó su alta ocurrencia, similar a la observada 10 años antes (22). Su presencia, incluso, es evidencia clara de las condiciones socioambientales precarias y la falta de acceso a servicios de salud de calidad.

Por el interés que motivó este estudio, surge la necesidad de explorar con mayor detalle si las linfadenopatías observadas con mayor frecuencia en los resguardos relacionados con el río Ele y sus afluentes, indican la presencia de neoplasias. Algunos tumores, según informaron algunos participantes, se han visto en el cuerpo de individuos que han fallecido. Sus allegados no conocen muy bien su causa, y es difícil que lleguen a ser atendidos por médicos; la consecuencia es que no hay registros de mortalidad confiables para los miembros del pueblo hitnü.

Infortunadamente, esto es algo común en este tipo de poblaciones y su consecuencia es el ocultamiento de un hecho sanitario importante. En similar condición se encuentran los hallazgos neurológicos que podrían explicarse por algún agente ambiental presente.

Asimismo, este estudio mostró que el contexto del pueblo hitnü es similar al de otros indígenas de Latinoamérica, donde existen conflictos socioambientales por la extracción petrolera. Quizá los más conocidos son los casos de los mapuches en Argentina; los apurina, deni, juma y paumari en Brasil; los achuar, cofan, quichua, secoya, shuar, siona y waorani en la Amazonía ecuatoriana; los maya en Guatemala y México; los amahuaca, ese'eje, mascho-piro urarina y yoro en Perú; y los warao en Venezuela (32).

En Colombia, especial atención tiene el caso de los u'wa, cuyo clímax ocurrió hace casi dos décadas, relacionado con la extracción petrolera en Samoré (Toledo, Norte de Santander). Este grupo indígena se opuso al proyecto debido, entre otros aspectos, a los posibles derrames de hidrocarburos por problemas en los procesos productivos y, sobre todo, por las posibilidades de derrames ocasionados por ataques de los grupos guerrilleros al oleoducto Caño Limón-Coveñas (33).

Hallazgos como los descritos anteriormente son similares a los reportados en situaciones parecidas, pero infortunadamente, muy poco estudiados en su mayoría. Esto contrasta con los variados estudios sobre explotación petrolera en la Amazonía ecuatoriana, lo cual hace que su comparación resulte de gran utilidad. El trabajo aquí presentado se realizó en menos de dos años y en tiempos de pandemia, lo que obligó a los investigadores a optimizar los métodos para poder obtener resultados con utilidad para la toma de decisiones.

Esto contrasta con el estudio en Ecuador, el cual, durante varios años utilizó una aproximación participativa siguiendo el modelo de: "epidemiología popular" propuesto por Brown (34). Esto se facilitó por el trabajo previo del investigador principal en el territorio, pero el proceso fue complejo y requirió bastante tiempo para tener resultados (35). Lo interesante es que los hallazgos son similares a los que aquí se presentaron en relación con la importancia de las neoplasias como posibles efectos de la exposición a los hidrocarburos del petróleo (36).

Aunque los resultados fueron objeto de crítica (37), sirvieron para una discusión entre epidemiólogos sobre las limitaciones inherentes de la epidemiología ambiental y la ética, al investigar problemas sanitarios en los cuales los afectados son minorías étnicas, con condiciones como dificultad para el acceso por la geografía, y la precariedad de los servicios de salud y educación (38).

Por o anterior, los resultados aquí presentados corresponden a una aproximación general a la problemática sanitaria del pueblo hitnü que, por el propio diseño del estudio, tiene limitaciones. No obstante, el estudio favoreció la observación de efectos crónicos no letales o asociados con el tiempo de sequía en la región. De esta manera, se excluyeron eventos como los asociados con insectos transmisores de infecciones, infecciones respiratorias y mordeduras de serpientes, que son de alta ocurrencia durante los periodos lluviosos.

Por el diseño, participaron todos los indígenas hitnü que estaban en el asentamiento en el momento del estudio, razón por la cual los resultados son representativos, pese a no tener un muestreo específico para tal fin.

Los resultados no indican que solo las linfadenopatías requieren ser estudiadas con mayor profundidad para verificar su posible asociación con la exposición a hidrocarburos del petróleo, sino que puede haber más posibles efectos adversos, tal vez de menor ocurrencia o que requieren otras formas

de diagnóstico, que se escapan a las limitaciones de un estudio sin apoyos diagnósticos ni consulta con especialistas.

En conclusión, se confirma la necesidad de explorar con más detalle la posible ocurrencia aumentada de linfadenopatías, asociada con la exposición a los hidrocarburos presentes en el petróleo crudo, identificada mediante RP cruda. Los métodos y resultados descritos en este trabajo sirven de fundamento para un estudio epidemiológico específico sobre ellas, así como la profundización del tema con análisis de citogenética toxicológica y mediciones de exposición a hidrocarburos del petróleo, mediante la detección de 1-hidroxi pireno en orina y, así, determinar si las linfadenopatías pueden ser de origen neoplásico (leucemias, linfomas o metástasis). En esos estudios ya se podrán controlar los posibles factores de confusión en la asociación.

Las limitaciones inherentes a un estudio observacional exploratorio como éste ya son conocidas, así como la necesidad de tomar acciones ante situaciones sanitarias precarias como las de los hitnū. Debe mencionarse, por tanto, que los hallazgos presentados no indican causalidad, pero sí son sugestivos de una posible asociación que debería ser mejor estudiada; además, es evidente que este tipo de poblaciones se encuentra afectada por factores sociales y culturales muy específicos que pueden actuar conjuntamente, y que entender sus interacciones requiere abordajes que van más allá de la epidemiología y las actividades convencionales de salud pública (39).

Será importante explorar con mayor detalle los efectos reproductivos adversos más sutiles, como la disminución de la fecundidad y los efectos neurotóxicos que, por su baja ocurrencia o dificultades culturales de medición, generan un reto mayúsculo. De igual manera, es evidente que las condiciones de nutrición y seguridad alimentaria son precarias en una proporción importante de los hitnū, así como la ocurrencia de enfermedades infecciosas como la tuberculosis y la enfermedad de Chagas. Sin embargo, el estudio de la potencial asociación de estas enfermedades con la exposición a hidrocarburos no implica que se detengan acciones e intervenciones urgentes que tengan como objetivo mejorar el agua para consumo, las condiciones de salud, nutrición y seguridad, desde un enfoque intercultural que respete la autonomía del pueblo hitnū.

Dados los resultados, la búsqueda activa de casos sospechosos de cáncer, enfermedad de Chagas, tuberculosis y desnutrición, fue solicitada por el equipo investigador a la IPS-I encargada de la atención de esta población, a la EPS, a las autoridades locales y al Ministerio de Salud y Protección Social. Se ha transmitido de manera clara, la falta de atención en salud que está poniendo en peligro de extinción a la cultura hitnū, y que, por ser un pueblo de especial protección constitucional, las autoridades deberían vigilar estrechamente dichas actividades y no simplemente delegar responsabilidades a los prestadores de salud y aseguradora.

Los hallazgos aquí descritos corresponden a un claro caso de injusticia ambiental (40), en el que uno de los grupos más desfavorecidos de Colombia puede estar siendo afectado por una suma de factores determinantes socioculturales y ambientales. Estos hallazgos serán presentados por el Ministerio de Salud y Protección Social ante las autoridades judiciales, para que se tomen acciones que busquen la protección del pueblo hitnū y sirvan de modelo para estudios interculturales de salud ambiental que se realicen en el país.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo del Área de Promoción Social de la Unidad Administrativa Especial de Salud (UAES) de Arauca, la Asociación de Cabildos y Autoridades Tradicionales Indígenas del Departamento de Arauca (ASCATIDAR), para contactar al pueblo hitnü y, la Universidad Nacional de Colombia, sede Orinoquia, por el apoyo logístico para el trabajo de campo. El grupo de Geomática de la Universidad Industrial de Santander elaboró los mapas del estudio.

Un especial agradecimiento a las autoridades indígenas hitnü y a todos los miembros de las comunidades participantes.

## Referencias

1. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man: Occupational exposures to petroleum refining; crude oil and major petroleum fuels. Lyon: IARC, 1989.
2. Ramírez MI, Arévalo AP, Sotomayor S, Bailon-Moscoso N. Contamination by oil crude extraction – Refinement and their effects on human health. *Environ Pollut.* 2017;231:415-25. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.017>
3. Coronel Vargas G, Au WW, Izzotti A. Public health issues from crude-oil production in the Ecuadorian Amazon territories. *Sci Total Environ.* 2020;719:134647. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134647>
4. Maher D. The fatal attraction of civil war: Violence and the oil sector in Arauca. In: Maher D, Editor. *Civil war and uncivil development. Rethinking political violence.* Manchester, UK: University of Manchester, 2018.
5. Juzgado Primero Civil del Circuito Especializado en Restitución de Tierras de Cúcuta. Medida cautelar para protección del territorio de la comunidad indígena Hitnü [Auto interlocutorio]. 20 de enero, 2017. San José de Cúcuta: Juzgado Primero Civil; 2017.
6. Lobo-Guerrero M, Herrera X. La supervivencia de un pueblo: los Hitnü. *Revista Amerindia* 1983;8(Supl.2):1-27.
7. Pinzón NM. José del Carmen Terán, una historia de vida para contar. *Memoria y relatos del Llano.* Bogotá, D. C.: Centro de Investigación y Estudios Sociales para la Paz (CIESPAZ); 2015.
8. Soto-Aguirre JA. Cazadores sin presas, horticultores sin tierra. Una aproximación a las formas actuales de producción y acceso al alimento en el pueblo indígena Hitnü. *Jangwa Pana.* 2017;16:179-96.
9. Guerrero Useda ME. Ruptura de oleoductos por interferencia externa, daño ambiental y sostenibilidad en Colombia. *Revista Producción + Limpia.* 2018;13:7-13. <https://doi.org/10.22507/pml.v13n2a1>
10. Cabrera G. Los Nukak: de caníbales a indígenas. *Itinerario de una exclusión.* *Palimpsestvs.* 2002;2:112-8.
11. Aponte Miranda L. The U'wa and Occidental Petroleum: Searching for corporate accountability in violations of indigenous land rights. *Am Indian Law Rev.* 2006/2007;31:651-73. <https://doi.org/10.2307/20070802>
12. Lobo-Guerrero M, Herrera X. El jitnu /hitnu/ del medio río Ele. En: *Lenguas indígenas de Colombia. Una visión descriptiva.* Santafé de Bogotá: Instituto Caro y Cuervo; 2000. p. 611-24.
13. Rothman K. Methodological frontiers in environmental epidemiology. *Environ Health Perspect* 1993;101(Suppl.4):19-21. <https://doi.org/10.2307/3431656>
14. Pekkanen J, Pearce N. Environmental epidemiology: Challenges and opportunities. *Environ Health Perspect* 2001;109:1-5. <https://doi.org/10.2307/3434913>
15. Bousfield WA, Barclay WD. The relationship between order and frequency of occurrence of restricted associative responses. *J Exp Psychol.* 1950;40:643-7. <https://doi.org/10.1037/h0059019>

16. Coronel-Sánchez VH, Álvarez-Pabón Y, Esteban LY, Vargas-Valero Ó, Omaña JJ, Idrovo AJ. Lay-based morbidity profiles of sugar cane workers: Testing a new method using free lists. *J Prim Prev.* 2020;41:39-49. <https://doi.org/10.1007/s10935-019-00575-y>
17. Smith J. Using ANTHOPAC 3.5 and a spreadsheet to compute a free-list salience index. *Field Methods.* 1993;5:1-3. <https://doi.org/10.1177/1525822X9300500301>
18. Fernández-Niño JA, Idrovo AJ, Giraldo-Gartner V, Molina-León HF. Los dominios culturales de la malaria: una aproximación a los saberes no institucionales. *Biomédica.* 2014;34:250-9. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.1629>
19. Landrigan PJ. Commentary: Environmental disease – A preventable epidemic. *Am J Public Health.* 1992;82:941-3. <https://doi.org/10.2105/ajph.82.7941>
20. Scadding JG. Health and disease: What can medicine do for philosophy? *J Med Ethics.* 1988;14:118-24.
21. Galeano-Páez C, Ricardo-Caldera D, Jiménez-Vidal L, Peñata-Taborda A, Coneo-Pretelt A, Rumié-Mendoza M, *et al.* Genetic instability among Hitnü people living in Colombian crude-oil exploitation areas. *Int J Environ Res Public Health* 2022;19:11189. <https://doi.org/10.3390/ijerph191811189>
22. Cucunubá ZM, Nouvellet P, Conteh L, Vera MJ, Angulo VM, Dib JC, *et al.* Modelling historical changes in the force-of-infection of Chagas disease to inform control and elimination programmes: Application in Colombia. *BMJ Glob Health.* 2017;2:e000345. <https://doi.org/10.1136/bmjgh-2017-000345>
23. Silva IA, Nyland JF, Gorman A, Perisse A, Ventura AM, Santos EC, *et al.* Mercury exposure, malaria, and serum antinuclear/antinucleolar antibodies in Amazon populations in Brazil: A cross-sectional study. *Environ Health.* 2004;3:11. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-3-11>
24. Swaen GG, Teggeler O, van Amelsvoort LG. False positive outcomes and design characteristics in occupational cancer epidemiology studies. *Int J Epidemiol.* 2001;30:948-54. <https://doi.org/10.1093/ije/30.5.948>
25. Huria T, Palmer SC, Pitama S, Beckert L, Lacey C, Ewen S, *et al.* Consolidated criteria for strengthening reporting of health research involving indigenous peoples: The CONSIDER statement. *BMC Med Res Methodol.* 2019;19:173. <https://doi.org/10.1186/s12874-019-0815-8>
26. Leandro-Reguillo P, Thomson-Luque R, Monteiro WM, de Lacerda MVG. Urban and architectural risk factors for malaria in indigenous Amazonian settlements in Brazil: A typological analysis. *Malar J.* 2015;14:284. <https://doi.org/10.1186/s12936-015-0806-0>
27. Langebaek CH. La agricultura. En: *Antes de Colombia.* Bogotá DC: Debate; 2021. p. 173-305.
28. Gómez-Restrepo C, Rincón CJ, Urrego-Mendoza Z. Salud mental, sufrimiento emocional, problemas y trastornos mentales de indígenas colombianos. Datos de la Encuesta Nacional de Salud Mental 2015. *Rev Colomb Psiquiat.* 2016;45(Suppl.1):119-26. <https://doi.org/10.1016/j.rcp.2016.09.005>
29. Martínez-Silva PA. La conducta suicida en el grupo étnico indígena de Colombia: un fenómeno por comprender. *Salud UIS.* 2015;47:241-2.
30. Bermúdez JN, Ayala D, Herrán OF. Nutrition gap in children, urban-rural: The key education and food. Colombia, 2015. *Rev Saúde Pública.* 2020;54:111. <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2020054001925>
31. Pontzer H, Wood BM, Raichlen DA. Hunter-gatherers as models in public health. *Obes Rev.* 2018;19(Suppl.1):24-35. <https://doi.org/10.1111/obr.12785>
32. Johansen BE. *Indigenous peoples and environmental issues.* Westport: Greenwood Press; 2003.
33. Chelala C. Colombian U'wa face hazards of oil drilling. *Lancet.* 1998;352:209. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)77820-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)77820-X)
34. Brown P. Popular epidemiology and toxic waste contamination: Lay and professional ways of knowing. *J Health Soc Behav.* 1992;33:267-81. <https://doi.org/10.2307/2137356>
35. San Sebastián M, Hurtig AK. Oil development and health in the Amazon basin of Ecuador: The popular epidemiology process. *Soc Sci Med.* 2005;60:799-807. <https://doi.org/10.1016/j.socscimed.2004.06.016>
36. Hurtig AK, San Sebastián M. Geographical differences in cancer incidence in the Amazon basin of Ecuador in relation to residence near oil fields. *Int J Epidemiol.* 2002;31:1021-7. <https://doi.org/10.1093/ije/31.5.1021>

37. Rothman KJ, Arellano F. Responses to “Texaco and its consultants”: elevating the level of scientific discourse. *Int J Occup Environ Health*. 2005;11:327-8. <https://doi.org/10.1179/107735205800245939>
38. Breilh J, Branco Jefer C, Castelman BI, Cherniack M, Christiani DC, Cicolella A, *et al.* Texaco and its consultants. *Int J Occup Environ Health*. 2005;11:217-20. <https://doi.org/10.1179/oeht.2005.11.2.217>
39. Hurtig AK, San Sebastián M. Epidemiology on the side of the angels or the people? *Int J Epidemiol*. 2002;32:658-9. <https://doi.org/10.1093/ije/dyg210>
40. Méndez F, Zapata AM. Conflicto armado, contaminación y riesgos en salud: Una evaluación de riesgo por tres fuentes de exposición ambiental asociadas al conflicto en Colombia. *Biomédica* 2021;41:660-675. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5928>

Artículo original

## Perfiles de expresión de los genes *ERG11*, *MDR1* y *AFR1* en *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* aislados de pacientes con HIV

Isaura Torres<sup>1,2</sup>, Juan E. Gallo<sup>2</sup>, Óscar Mauricio Gómez<sup>3,4</sup>, Álvaro Rúa-Giraldo<sup>3,4</sup>, Juan G. McEwen<sup>3,5</sup>, Ana María García<sup>3,6</sup>

<sup>1</sup> Grupo Biociencias, Facultad de Ciencias de la Salud, Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> GenEIA, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad EIA, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Unidad de Biología Celular y Molecular, Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Escuela de Microbiología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>5</sup> Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>6</sup> Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Departamento de Farmacia, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

**Introducción.** El fluconazol es el antifúngico más utilizado para la prevención y el tratamiento de infecciones causadas por el género *Cryptococcus*, agente etiológico de la criptococosis. La resistencia al fluconazol en los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* puede hacer fracasar el tratamiento y generar recaídas de la infección.

**Objetivo.** Evaluar los perfiles de expresión de los genes *AFR1*, *MDR1* y *ERG11* en aislamientos clínicos de *C. neoformans* var. *grubii*, durante la respuesta *in vitro* a la inducción con fluconazol.

**Materiales y métodos.** Se estudiaron 14 aislamientos de *C. neoformans* var. *grubii* provenientes de pacientes con HIV, de los cuales 6 eran sensibles al fluconazol y 8 presentaban sensibilidad disminuida. Los niveles de expresión de los genes *ERG11*, *AFR1* y *MDR1* se determinaron mediante PCR en tiempo real.

**Resultados.** Los aislamientos resistentes al fluconazol mostraron sobreexpresión de los genes *AFR1* y *MDR1*, mientras que la expresión de los fenotipos de resistencia evaluados se mantuvo homogénea en *ERG11*, en todos los aislamientos de *C. neoformans* var. *grubii*.

**Conclusiones.** La sobreexpresión de los genes *AFR1* y *MDR1* que codifican las bombas de eflujo, contribuye a la resistencia al fluconazol en los aislamientos estudiados. Sin embargo, los patrones de resistencia que se registran en este hongo, sumado a los casos de recaídas en pacientes con HIV, no pueden atribuirse únicamente a los casos de resistencia por exposición al fármaco. Otros mecanismos podrían también estar involucrados en este fenómeno, como la resistencia emergente (resistencia mediante otros genes *ERG*) y la heteroresistencia, los cuales deben ser estudiados en estos aislamientos.

**Palabras clave:** *Cryptococcus neoformans*; criptococosis; fluconazol; azoles; farmacoresistencia microbiana

### Gene expression profiles of *ERG11*, *MDR1* and *AFR1* in *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* isolated from HIV patients

**Introduction:** Fluconazole is the most used antifungal drug for prevention and treatment of *Cryptococcus* spp. infections, the etiological agent of cryptococcosis. Resistance to fluconazole among *Cryptococcus neoformans* isolates can lead to treatment failure and generate relapses.

**Objective:** To evaluate the expression profiles of the *AFR1*, *MDR1* and *ERG11* genes in *C. neoformans* var. *grubii* clinical isolates during the *in vitro* response to fluconazole induction.

**Materials and methods:** Fourteen *C. neoformans* var. *grubii* isolates recovered from HIV patients were studied, in which 6 showed sensitivities to fluconazole and 8 decreased sensitivity. The expression levels of *ERG11*, *AFR1* and *MDR1* genes were determined by real-time PCR from extracted mRNA.

**Results:** *AFR1* and *MDR1* genes from *C. neoformans* var. *grubii* were overexpressed in fluconazole resistant isolates, whereas *ERG11* maintains homogeneous expression in all the evaluated resistance phenotypes of *C. neoformans* var. *grubii* isolates.

**Conclusions:** The overexpression of *AFR1* and *MDR1* genes, which codify for efflux pumps, contributes to fluconazole resistance in the studied isolates. However, the resistance patterns in this fungus and the relapse cases in HIV patients cannot be attributed solely to the exposure to the drug. Heteroresistance and the emerging resistance (resistance through other *ERG* genes), might be other mechanisms involved in this phenomenon, which must be studied in these isolations.

**Recibido:** 25/08/2021

**Aceptado:** 21/07/2022

**Publicado:** 29/07/2022

#### Citación:

Torres I, Gallo JE, Gómez OM, Rúa-Giraldo A, McEwen JG, García AM. Perfiles de expresión de los genes *ERG11*, *MDR1* y *AFR1* en *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* aislados de pacientes con VIH. Biomédica. 2022;42:697-706.

<https://doi.org/10.7705/biomedica.6519>

#### Correspondencia:

Isaura Torres, GenEIA, Facultad de Ciencias de la Vida, Universidad EIA, Medellín, Colombia  
Teléfono: (+57) (300) 775 6303  
isaurap10@gmail.com; isaura.torres@eia.edu.co

#### Contribución de los autores:

Isaura Torres: ejecución de los experimentos y escritura del manuscrito

Juan Gallo: ejecución de experimentos moleculares, análisis de los resultados y escritura del manuscrito

Óscar Gómez: análisis de los datos y escritura del manuscrito

Álvaro Rúa: ejecución de las pruebas de sensibilidad al fluconazol, conservación de las cepas, análisis de los resultados y revisión del manuscrito

Juan G. McEwen: asesoría metodológica y revisión del manuscrito

Ana María García: coordinación general de la ejecución de los métodos experimentales, análisis de los resultados y escritura del manuscrito

#### Financiación:

Este trabajo fue cofinanciado por la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, por medio de la convocatoria Proyectos de Investigación 2013, y por la Corporación para Investigaciones Biológicas.

#### Conflicto de intereses:

Los autores declaran que no existió conflicto de intereses para la realización del estudio.

**Key words:** *Cryptococcus neoformans*; cryptococcosis; fluconazole; azoles; drug resistance, microbial.

La criptococosis es una enfermedad infecciosa de distribución mundial que abarca un amplio espectro de presentaciones clínicas. Afecta desde el huésped aparentemente inmunocompetente y sin una enfermedad subyacente, hasta los inmunocomprometidos por infección con el virus de la inmunodeficiencia humana [*Human Immunodeficiency Virus* (HIV)] o con sida, trasplante de órganos o tumores malignos.

Las manifestaciones clínicas de esta micosis pueden variar desde la colonización asintomática de las vías respiratorias, hasta la diseminación de la infección hacia cualquier parte del cuerpo humano (1). Se estima que cada año ocurren 220.000 casos de meningitis criptocócica entre personas con HIV-sida en todo el mundo, lo que resulta en 181.000 muertes, aproximadamente (2). En Colombia, la micosis alcanza una incidencia anual de 0,23 casos por cada 100.000 habitantes y, en los pacientes que padecen sida, se registra un incremento de 1,1 individuos por cada 1.000 (3); la criptococosis es una de las principales causas de muerte (15 %) en esta población (2).

*Cryptococcus* spp. es el agente etiológico de la criptococosis. Es una levadura del filo Basidiomycota, de la cual se han descrito más de 80 especies que se clasifican como dos complejos de especies que son patógenas para los humanos: el complejo *C. neoformans* y el complejo *C. gattii* (4). Esta levadura saprófita encapsulada se reproduce en su fase asexual mediante blastoconidias unigemantes o multigemantes asincrónicas que son infecciosas al inhalarse.

Se han descrito cinco serotipos nombrados como A, B, C, D y AD, clasificación que se basa en las diferencias estructurales de los polisacáridos de la cápsula. El complejo de especies de *C. neoformans* está, a su vez, subdividida en dos variedades conocidas como *C. neoformans* var. *grubii* (serotipo A) y *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D y AD). Por otro lado, los serotipos B y C se agrupan en el complejo *C. gattii* (1). De igual manera, el complejo *C. gattii* ha sido reorganizado en cinco especies: *C. gattii*, *C. bacillisporus*, *C. deuterogattii*, *C. tetragattii* y *C. decagattii*. Además, se han reportado otros serotipos generados por híbridos, como el serotipo AB (*C. neoformans* × *C. gattii* hybrid o *C. neoformans* × *C. deuterogattii*) y el serotipo DB (*C. deneoformans* × *C. gattii*) (4,5). La infección con estas especies se ha relacionado con afección pulmonar y daño en el sistema nervioso central (6-8).

La epidemiología de *C. neoformans* está bien caracterizada, afectando huéspedes inmunocomprometidos e inmunocompetentes. Por el contrario, *C. gattii* se ha considerado históricamente como agente patógeno de huéspedes aparentemente inmunocompetentes (8).

En la mayoría de los países en desarrollo, el tratamiento fungicida inicial combinando anfotericina B y 5-fluorocitosina (5-FC) se excluye de los protocolos por su alto costo, disponibilidad y dificultad de administración y seguimiento, a pesar de que es el recomendado por la Organización Mundial para la Salud (OMS) durante la fase de inducción para los casos de criptococosis (9). Lamentablemente, la disponibilidad de la 5-FC es limitada en los lugares en donde la carga y la mortalidad de la enfermedad son más altas (8).

La monoterapia con fluconazol (200-800 mg/día) es recomendada por la OMS como el tratamiento de elección solo durante la consolidación, el mantenimiento o la profilaxis secundaria (9). Sin embargo, en países en desarrollo, suele ser la única opción de tratamiento para todas las fases y etapas de la infección, a pesar de que tome más tiempo lograr la esterilización del líquido cefalorraquídeo (10).

El éxito de la implementación de esta terapia durante la etapa inicial de la micosis, al igual que el tratamiento en la fase de mantenimiento con fluconazol, podría ser riesgosa debido al surgimiento de cepas resistentes, cuya prevalencia es del 20 % en algunas regiones del mundo. Además, son muy frecuentes los aislamientos de este hongo obtenidos de pacientes con recaídas, con cultivo positivo, que muestran disminución de la sensibilidad a la flucitosina (11, 12). Las fallas en el tratamiento con fluconazol de la enfermedad criptocócica, no se pueden atribuir únicamente al uso prolongado del fármaco, sino también a la resistencia emergente del agente etiológico. Además, debe considerarse el fenómeno de la heterorresistencia, el cual también ha sido reportado como un mecanismo alternativo con potencial para explicar el comportamiento del hongo ante este antifúngico (13).

El principal mecanismo por el cual los hongos adquieren resistencia contra los azoles, se basa en la sobreexpresión del gen *ERG11*, el cual codifica para la enzima lanosterol 14- $\alpha$ -desmetilasa (Erg11p), blanco de acción de estos antifúngicos. Las mutaciones en *ERG11* disminuyen la sensibilidad de esta enzima Erg11p para ser inhibida por los azoles (14). Venkateswarlu, *et al.* (1997), sugirieron la posibilidad de que estas proteínas transportadoras de membrana estuviesen involucradas como mecanismos de resistencia a los azoles en *Cryptococcus*. Estos autores reportaron que los aislamientos clínicos de *C. neoformans* con altos valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) mostraban bajas concentraciones intracelulares de fluconazol, en comparación con las cepas con CIM bajas para el fluconazol (15).

Es así como en *C. neoformans* se han identificado dos bombas de eflujo en la membrana plasmática. La primera, es codificada por el gen *MDR1*, el cual genera para una proteína de transporte de membrana en eucariotas, relacionada con proteínas de resistencia a múltiples fármacos (16); y la segunda, codificada por el gen *AFR1*, el cual origina codifica para otro transportador de membrana plasmática (transportador ABC) diferente.

Las células del hongo que muestran expresión aumentada de *AFR1*, también tienen altos valores de CIM, en comparación con sus controles silvestres. Algunos autores han encontrado que los ratones inoculados con cepas de *C. neoformans* que muestran sobreexpresión de *AFR1*, responden de manera menos favorable al tratamiento con fluconazol, comparados con los controles infectados con la cepa silvestre. Además, la disrupción de este gen causa disminución de los valores de la CIM, y un incremento de la sensibilidad en los ratones tratados con fluconazol (16-18).

El objetivo de este trabajo fue evaluar los perfiles de expresión de los genes *AFR1*, *MDR1* y *ERG11* en aislamientos clínicos de *C. neoformans* var. *grubii* de pacientes con HIV, durante la respuesta *in vitro* a la terapia de inducción con fluconazol.

## Materiales y métodos

### Aislamientos clínicos

Las muestras biológicas (líquido cefalorraquídeo o suero) se sembraron en agar Sabouraud glucosado sin cicloheximida; después de 24 a 48 horas de incubación a 30 °C, se observaron colonias caracterizadas como *Cryptococcus* spp., las cuales fueron replicadas en el mismo medio hasta obtener colonias aisladas. Los aislamientos recuperados durante un periodo de dos años se sometieron a criopreservación a -20 °C en medio de cultivo con agar y leche descremada, en la Unidad de Micología Médica y Experimental de la Corporación para Investigaciones Biológicas de Medellín, Colombia.

En total, se seleccionaron 14 aislamientos clínicos de *C. neoformans* var. *grubii* obtenidos a partir de dichas muestras clínicas, todas provenientes de pacientes con HIV (cuadro 1). Según la prueba de sensibilidad *in vitro* y de acuerdo con los puntos epidemiológicos de corte, 8 aislamientos mostraron disminución de la sensibilidad al fluconazol y 6 mostraron un fenotipo sensible (19,20).

### Pruebas de sensibilidad

Las pruebas de sensibilidad se realizaron mediante el método de difusión con discos de fluconazol de 25 µg (Beckton Dickinson, Spark, MD), siguiendo el protocolo establecido por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), en la guía M44 propuesta por el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) (21). La lectura de los halos de inhibición fue documentada en el equipo BIOMIC™.

En el caso de *Cryptococcus* spp., aún no se han establecido los puntos de corte clínicos para determinar los fenotipos de sensibilidad al fluconazol, por lo cual se utilizan los puntos de corte epidemiológicos (19,20); estos corresponden al valor de la CIM que marca el límite superior de los aislamientos de tipo salvaje (*wild type*). Para *C. neoformans* var. *grubii*, se definió un punto de corte epidemiológico de 8 µg/ml; por consiguiente, los aislamientos con una CIM mayor de 8 µg/ml se consideraron con sensibilidad disminuida al fluconazol (20).

**Cuadro 1.** Características de los aislamientos de *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* empleados en el estudio

Identificación del aislamiento*	Fenotipo de resistencia	CIM* fluconazol (µg/ml)	Sub-CIM* (µg/ml)
64212	Resistente	>256	64
66992	Resistente	>256	64
64146	Resistente	>256	64
57332	Resistente	>256	64
53687	Resistente	>165	64
24198	Sensible	1	0,5
8843	Sensible	5	2
22602	Sensible	6	2
24405	Sensible	1,1	0,5
23849	Sensible	1,1	0,5
63127	Sensible	4	2
23433	Sensible dosis dependiente	32	16
18666	Sensible dosis dependiente	16	8
52550	Sensible dosis dependiente	61	32

\* La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó mediante el método de difusión con discos.

\* Todos los aislamientos fueron recuperados de pacientes con HIV

\* Concentraciones sub-CIM usadas para el tratamiento de cada uno de los aislamientos estudiados. Los valores se asignaron según el valor de CIM previamente determinado.

## Análisis de expresión

### Purificación del ARN

Se recuperó el ARN total de los 14 aislamientos del estudio, después de su crecimiento en el medio de cultivo líquido YPD (*Yeast Peptone Dextrose*) mediante incubación a 30 °C y 150 rpm durante 24 horas. Se inoculó 1 ml del cultivo del hongo en fase logarítmica ( $1 \times 10^6$  blastoconidias por ml, contadas en cámara de Neubauer) en dicho medio, con el fin de normalizar las condiciones de todos los aislamientos evaluados.

Los cultivos se incubaron a 30 °C y 150 rpm durante 48 horas en ausencia del antifúngico, para luego ser incubados durante 2 horas bajo concentraciones de fluconazol inferiores a la CIM (16) (cuadro 1). A continuación, se recolectaron las blastoconidias y se procedió a extraer el ARN total por el método de Trizol™ (Life Technology, USA), junto con un choque térmico, siguiendo las indicaciones del fabricante. El ARN se trató con 1 U/μl de DNase 1 (ThermoFisher, USA).

Con el fin de verificar la ausencia de ADN genómico, las muestras de ARN se emplearon en una PCR convencional, utilizando cebadores específicos para el gen de la actina como gen normalizador (cuadro 2), en la cual la ausencia de un producto de amplificación garantiza la ausencia de ADN genómico. El ARN purificado fue cuantificado y analizado utilizando un Nanodrop 2000™ (ThermoFisher, USA).

### Síntesis del ADN complementario (ADNc)

La cadena complementaria de ADN (ADNc) se sintetizó a partir de los ARN totales extraídos, empleando una concentración 600 ng totales (3 μl de una solución a 200 ng/μl) de ARN, en una reacción de 20 μl de volumen final, usando el juego de reactivos comercial: Maxima H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit™ (ThermoFisher, USA), según las instrucciones del fabricante.

### Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

La PCR en tiempo real se practicó usando el juego de reactivos comerciales Maxima SYBR Green/Fluorescein qPCR Master Mix™ (2X), siguiendo las indicaciones del fabricante (ThermoFisher, USA).

La reacción de PCR contenía 2 μl de ADNc, el cual se hallaba a una concentración de 300 ng/μl, 10 μl de SYBR Green Master Mix 2X, y 0,1 mM de cada cebador (cuadro 1). Las reacciones tuvieron un volumen final de 20 μl, el cual fue ajustado con agua libre de nucleasas. El equipo empleado para detectar la fluorescencia fue el CFX96 Real-Time PCR Detection System™ (Bio-Rad, Headquarters Hercules, California, USA).

**Cuadro 2.** Cebadores usados en el análisis de la PCR en tiempo real

Gen	Cebador	Secuencia	Tamaño del fragmento de ADN
<i>ERG11</i> *	Forward	5' CCATGTCCGAGCTCATCATTCTT 3'	150 pb
	Reverse	5' ACTGGAAGGGGCAAGTTGG 3'	
<i>AFR1</i> *	Forward	5' CCCACTTTGCCATACTTTTGG 3'	85 pb
	Reverse	5' AACTGTGGAGACAAGACCACTGATAA 3'	
<i>MDR1</i> *	Forward	5' ACCCACTCTTTTCGGTAC 3'	180 pb
	Reverse	5' TACCGCGCTCACCAAC 3'	
<i>Actina</i> *	Forward	5' CCAAGCAGAACCGAGAGAAGATG 3'	156 pb
	Reverse	5' GGACAGTGTGGTGACACCGT 3'	

\* (17)

† (18)

Se hizo una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 45 ciclos de PCR, de la siguiente manera: 95 °C durante 50 segundos, 60 °C por 20 segundos, y 72 °C durante 30 segundos. El análisis de las curvas de disociación (*melting curve analysis*) de los productos de PCR, se basó en la aplicación de un gradiente de temperaturas creciente con posterioridad a la PCR, para determinar la temperatura de fusión ( $T_m$ ), que es la temperatura a la que el 50 % de las moléculas de ADN de doble cadena son desnaturalizadas.

Este paso se hizo después de la polimerización para descartar la posibilidad de amplificación no específica o de formación de dímeros de iniciadores. Los niveles de expresión del ARN mensajero (ARNm) se calcularon mediante un método de expresión relativa, usando la fórmula  $2^{-\Delta\Delta CT}$ , donde  $\Delta\Delta CT$  es la diferencia entre el gen diana y el gen de la actina (22). Cada experimento se llevó a cabo en dos réplicas biológicas y cada muestra fue evaluada por triplicado.

## Resultados

Las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos permitieron caracterizar los aislamientos según su fenotipo de sensibilidad al fluconazol. Como resultado de esta prueba, 8 aislamientos mostraron una sensibilidad disminuida con CIM mayores que los puntos de corte epidemiológicos (8 µg/ml); de estos 8 aislamientos, 5 obtuvieron valores de CIM mayores de 64 µg/ml y 3 presentaron valores de CIM entre 16 y 61 µg/ml. Además, 6 aislamientos mostraron valores de CIM menores que los puntos de corte epidemiológico (CIM entre 1 y 6 µg/ml) (cuadro 1).

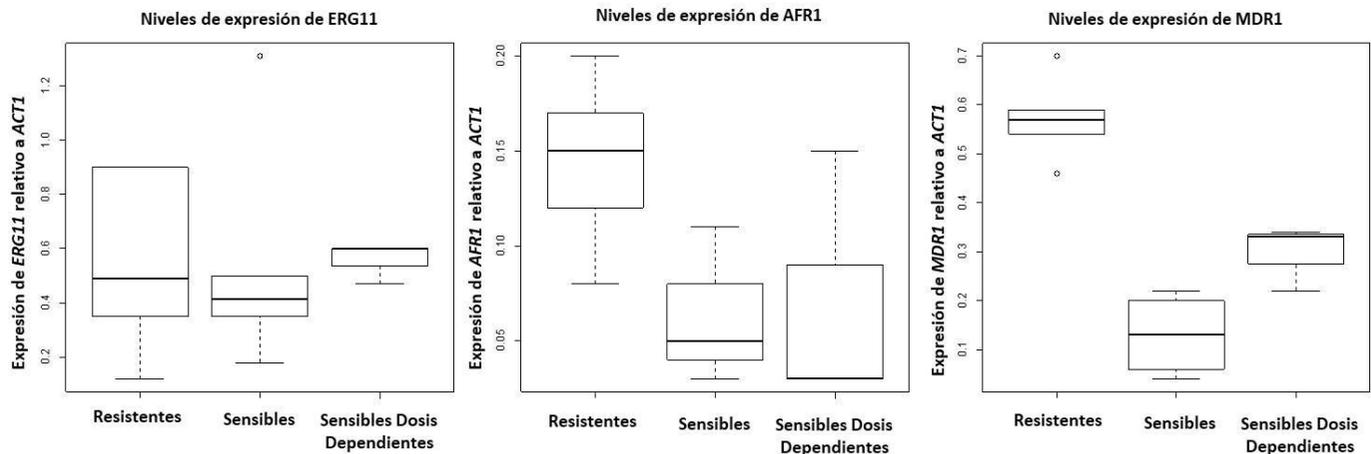
### **Perfiles de expresión de los genes *ERG11*, *AFR1* y *MDR1***

Los controles empleados para verificar la ausencia de ADN en las muestras de ARNm demostraron la ausencia de productos de amplificación, verificándose la pureza del ARN extraído.

Los niveles de ARNm de los genes *ERG11*, *AFR1* y *MDR1* relativos a la actina (gen constitutivo), se evaluaron en todos los aislamientos registrados en el cuadro 1. La proporción de los niveles de ARNm del gen *ERG11* comparados con los del gen constitutivo (*ERG11/ACT1*), no fueron significativamente diferentes entre los aislamientos de los dos fenotipos de resistencia evaluados: sensibles, y con sensibilidad disminuida no obstante, en los aislamientos resistentes, la expresión relativa a la actina del gen *AFR1* fue 2,4 veces mayor que en los aislamientos sensibles, y la del gen *MDR1* fue 7,7 veces mayor que en el grupo con valores CIM entre 16 y 61 µg/ml (figura 1). Asimismo, el análisis de las curvas de fusión (*melting curves*), permitió descartar la presencia de productos de amplificación inespecíficos o dímeros entre las parejas de cebadores evaluadas.

## Discusión

El objetivo principal de este estudio fue determinar los perfiles de expresión de los genes *ERG11*, *AFR1* y *MDR1*. La sobreexpresión del gen *ERG11*, que codifica para la enzima diana de los azoles (lanosterol 14 α-desmetilasa), constituye uno de los principales mecanismos por medio del cual las levaduras de importancia médica, incluidas las especies de *Cryptococcus*, adquieren resistencia a estos antifúngicos (23). Asimismo, la sobreexpresión de los genes *AFR1* y *MDR1*, que codifican para las bombas de eflujo son factores importantes que le confieren resistencia a *C. neoformans* contra el fluconazol (24).



**Figura 1.** Efecto del fluconazol en la expresión de los genes *ERG11*, *AFR1* y *MDR1*. Los resultados de la expresión relativa de estos genes se calcularon usando la fórmula  $2^{\Delta\Delta CT}$  relativa al gen de la actina (*ACT1*), como gen normalizador (19). Las cajas representan el rango intercuartil o la media del 50 % de las observaciones.

Los valores de la CIM muestran que existe una gran frecuencia de aislamientos colombianos con sensibilidad disminuida al fluconazol en población con sida (mayor de 50 %), similar a lo reportado por Agudelo, *et al.* (2015), quienes encontraron una tendencia similar utilizando un tamaño de muestra más grande ( $n=72$ ). Lo anterior demuestra que los aislamientos recuperados de pacientes con sida son menos sensibles al tratamiento con fluconazol (25,26), y que se debe profundizar en el estudio de las causas de esta alta frecuencia en la subpoblación colombiana.

A pesar de no existir un consenso acerca de los puntos de corte epidemiológicos, los aislamientos de *C. neoformans* var. *grubii* considerados menos sensibles al fluconazol en este estudio, se categorizarían igual utilizando los puntos de corte reportados en la mayoría de los estudios publicados (27). Por tanto, la expresión de los genes *AFR1* y *MDR1* podría compararse con la encontrada en otras poblaciones consideradas resistentes.

En algunos estudios se ha demostrado que ni el aumento en la magnitud de la expresión de los genes, ni las variaciones en la secuencia codificante del gen *ERG11*, pueden explicar los altos valores de CIM encontrados en aislamientos clínicos de *C. gattii* (23). Resulta de suma importancia explorar este comportamiento, específicamente en *C. neoformans* var. *grubii*, y correlacionarlo con los hallazgos del presente estudio, pues, en todos los aislamientos evaluados bajo nuestras condiciones experimentales, la magnitud de la expresión registrada para el gen *ERG11* no se correlaciona con los perfiles de resistencias encontrados. Esto indica que es posible que las mutaciones en el *ERG11*, la sobreexpresión de otros genes *ERG* o el aumento de la actividad de las bombas de eflujo, sean responsables de la resistencia en estos aislamientos.

Así, las sustituciones de aminoácidos en los genes *ERG* pueden contribuir a producir una baja afinidad entre la enzima lanosterol 14- $\alpha$ -desmetilasa (*Erg11p*) y el fluconazol, causando la resistencia (28).

Por su parte, Florio, *et al.* (29), reportaron un efecto compensatorio de aumento, entre 2,09 y 3,95 veces, de la expresión de ocho genes *ERG* (*ERG1*, *ERG2*, *ERG3*, *ERG5*, *ERG7*, *ERG11*, *ERG13* y *ERG25*), bajo inducción con fluconazol durante cortos periodos (29). Esto concuerda con lo hallado en el presente estudio, en el cual, los valores de la expresión de

*ERG11* fueron similares en los tres grupos de sensibilidad aquí probados. Por tanto, se requieren nuevos estudios en que se evalúen otros genes de tipo *ERG*, con el fin de confirmar este comportamiento en los aislamientos colombianos de *C. neoformans* var. *grubii* obtenidos de pacientes con HIV.

A la fecha, *AFR1* y *MDR1* son los únicos genes conocidos que codifican para dos bombas de eflujo asociadas con la resistencia de *C. neoformans* a medicamentos antifúngicos (29,30). Los estudios de bloqueo (*knock out*) de genes revelan que la disrupción del gen *AFR1* resulta en la delección total del gen, lo cual confiere al mutante receptor total sensibilidad a los azoles y, además, la reintroducción del gen restaura el fenotipo de resistencia.

Estos hallazgos indican claramente que la sobreexpresión de *AFR1* es un factor determinante importante en el aumento de la resistencia *in vitro* de *C. neoformans* a los azoles. Sin embargo, es posible que otros mecanismos estén involucrados en este fenómeno (18).

En este mismo sentido, Sionov, *et al.*, describen cierto mecanismo de adaptación del hongo como respuesta al antifúngico, denominado heterorresistencia, en el cual se observa que el número de cromosomas disómicos se correlaciona de manera positiva con la duración de la exposición al fluconazol; la duplicación del cromosoma 1 estuvo estrechamente relacionada con dos genes, *ERG11* y *AFR1*. Tal plasticidad genómica hace posible que las células sobrelleven el estrés causado por el efecto del medicamento, lo cual se ha observado en el serotipo A (*C. neoformans* var. *grubii*) y en el D (*C. neoformans*) (31).

En resumen, hemos demostrado que los genes *AFR1* y *MDR1* de *C. neoformans* var. *grubii* presentan una sobreexpresión en aislamientos resistentes al fluconazol, mientras que el gen *ERG11* mantiene homogénea su expresión en todos los aislamientos de *C. neoformans* var. *grubii*, de los tres fenotipos de resistencia evaluados. Lo anterior sugiere que estas bombas de eflujo contribuyen a la resistencia al fluconazol en este grupo de aislamientos estudiados.

No obstante, los patrones de resistencia que se registran en este hongo, sumados a los casos de recaídas en pacientes con HIV, no pueden atribuirse únicamente a casos de resistencia por exposición al fármaco, debido a que la heterorresistencia es un mecanismo alternativo con un gran potencial en este proceso. En el presente estudio, se incluyó únicamente una variante de cada gen evaluado y una muestra de 14 aislamientos. El análisis de los niveles de expresión de otros genes de tipo *ERG*, así como la variante *AFR2* y la inclusión de un mayor número de aislamientos con el fenotipo de heterorresistencia, permitirán elucidar de manera más clara la función de estos genes en el complejo mecanismo de resistencia a los azoles en *Cryptococcus* patógenos.

### Agradecimientos

Al grupo de Biociencias de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia (IUCMA), y al Grupo de Biología Celular y Molecular de la Corporación para Investigaciones Biológicas (CIB) por su apoyo científico para el desarrollo de este trabajo.

Agradecemos a Catalina de Bedout por su apoyo durante la clasificación de los aislamientos mediante las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, así como, en el análisis de los resultados, y la revisión del manuscrito.

Los autores declaramos que las personas mencionadas en agradecimientos están informadas y de acuerdo con la mención de sus nombres en el presente estudio.

Dedicamos este trabajo a la doctora Ángela Restrepo Moreno, a quien debemos nuestra formación como investigadores y toda nuestra inspiración.

## Referencias

1. Perfect JR, Dismukes WE, Dromer F, Goldman DL, Graybill JR, Hamill RJ, *et al.* Clinical practice guidelines for the management of cryptococcal disease: 2010 update by the infectious diseases society of America. *Clin Infect Dis.* 2010;50:291-322. <https://doi.org/10.1086/649858>
2. Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, *et al.* Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: An updated analysis. *Lancet Infect Dis.* 2017;17:873-81. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30243-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30243-8)
3. Escandón P, Lizarazo J, Agudelo CI, Castañeda E. Cryptococcosis in Colombia: Compilation and analysis of data from laboratory-based surveillance. *J Fungi (Basel).* 2018;4(1). <https://doi.org/10.3390/jof4010032>
4. Kwon-Chung KJ, Bennett JE, Wickes BL, Meyer W, Cuomo CA, Wollenburg KR, *et al.* The case for adopting the "Species Complex" nomenclature for the etiologic agents of cryptococcosis. *mSphere.* 2017;2:e00357-16. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00357-16>
5. Hagen F, Khayhan K, Theelen B, Kolecka A, Polacheck I, Sionov E, *et al.* Recognition of seven species in the *Cryptococcus gattii*/*Cryptococcus neoformans* species complex. *Fungal Genet Biol.* 2015;78:16-48. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.02.009>
6. Idnurm A, Lin X. Rising to the challenge of multiple *Cryptococcus* species and the diseases they cause. *Fungal Genet Biol.* 2015;78:1-6. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.05.002>
7. Serna-Espinosa BN, Guzmán-Sanabria D, Forero-Castro M, Escandón P, Sánchez-Quitian ZA. Environmental Status of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Colombia. *J Fungi (Basel).* 2021;7. <https://doi.org/10.3390/jof7060410>
8. Gushiken AC, Saharia KK, Baddley JW. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2021;35:493-514. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.012>
9. World Health Organization. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of cryptococcal disease in HIV-infected adults, adolescents and children: Supplement to the 2016 Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Geneva: World Health Organization; 2018. p. 51.
10. Bicanic T, Harrison T, Niepieklo A, Dyakopu N, Meintjes G. Symptomatic relapse of HIV-associated cryptococcal meningitis after initial fluconazole monotherapy: The role of fluconazole resistance and immune reconstitution. *Clin Infect Dis.* 2006;43:1069-70. <https://doi.org/10.1086/507895>
11. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. *Infect Dis Clin North Am.* 2016;30:179-206. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.10.006>
12. Agudelo CA, Muñoz C, Ramírez A, Tobón AM, de Bedout Bact C, Cano LE, *et al.* Response to therapy in patients with cryptococcosis and AIDS: Association with in vitro susceptibility to fluconazole. *Rev Iberoam Micol.* 2015;32:214-20. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.07.006>
13. Cheong JWS, McCormack J. Fluconazole resistance in cryptococcal disease: Emerging or intrinsic? *Med Mycol.* 2013;51:261-9. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.715763>
14. Basso LR, Gast CE, Bruzual I, Wong B. Identification and properties of plasma membrane azole efflux pumps from the pathogenic fungi *Cryptococcus gattii* and *Cryptococcus neoformans*. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:1396-407. <https://doi.org/10.1093/jac/dku554>
15. Venkateswarlu K, Taylor M, Manning NJ, Rinaldi MG, Kelly SL. Fluconazole tolerance in clinical isolates of *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997;41:748-51. <https://doi.org/10.1128/AAC.41.4.748>
16. Thornewell SJ, Peery RB, Skatrud PL. Cloning and characterization of *CneMDR1*: A *Cryptococcus neoformans* gene encoding a protein related to multidrug resistance proteins. *Gene.* 1997;201:21-9. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(97\)00421-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(97)00421-6)

17. Posteraro B, Sanguinetti M, Sanglard D, La Sorda M, Boccia S, Romano L, *et al.* Identification and characterization of a *Cryptococcus neoformans* ATP binding cassette (ABC) transporter-encoding gene, *CnAFR1*, involved in the resistance to fluconazole. *Mol Microbiol.* 2003;47:357-71. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03281.x>
18. Sanguinetti M, Posteraro B, La Sorda M, Torelli R, Fiori B, Santangelo R, *et al.* Role of *AFR1*, an ABC transporter-encoding gene, in the in vivo response to fluconazole and virulence of *Cryptococcus neoformans*. *Infect Immun.* 2006;74:1352-9. <https://doi.org/10.1128/IAI.74.2.1352-1359.2006>
19. Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Córdoba S, *et al.* *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex: An international study of wild-type susceptibility endpoint distributions and epidemiological cutoff values for fluconazole, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:5898–906. <https://doi.org/10.1128/AAC.01115-12>
20. Clinical and Laboratory Standards Institute. Values TDIE. Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing. Fecha de consulta: 5 de octubre de 2022. Disponible en: [https://clsi.org/media/1934/m59ed2\\_sample-updated.pdf](https://clsi.org/media/1934/m59ed2_sample-updated.pdf)
21. Procop GW, Alexander BD, Dufresne PJ, Fuller J, Ghannoum MA, Hanson KE, *et al.* Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts. Fecha de consulta: 5 de octubre de 2022. Disponible en: [https://clsi.org/media/2634/m44ed3\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/2634/m44ed3_sample.pdf)
22. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(Delta Delta C(T)) method. *Methods.* 2001;25:402-8. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
23. Gast CE, Basso LR, Bruzual I, Wong B. Azole resistance in *Cryptococcus gattii* from the Pacific Northwest: Investigation of the role of *ERG11*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:5478-85. <https://doi.org/10.1128/AAC.02287-12>
24. Cannon RD, Lamping E, Holmes AR, Niimi K, Baret PV, Keniya MV, *et al.* Efflux-mediated antifungal drug resistance. *Clin Microbiol Rev.* 2009;22:291-321. <https://doi.org/10.1128/CMR.00051-08>
25. Li M, Liao Y, Chen M, Pan W, Weng L. Antifungal susceptibilities of *Cryptococcus* species complex isolates from AIDS and non-AIDS patients in Southeast China. *Braz J Infect Dis.* 2012;16:175-9. [https://doi.org/10.1016/s1413-8670\(12\)70301-x](https://doi.org/10.1016/s1413-8670(12)70301-x)
26. Wu SY, Kang M, Liu Y, Chen ZX, Xiao YL, He C, *et al.* Molecular epidemiology and antifungal susceptibilities of *Cryptococcus* species isolates from HIV and non-HIV patients in Southwest China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40:287-95. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04013-4>
27. Bongomin F, Oladele RO, Gago S, Moore CB, Richardson MD. A systematic review of fluconazole resistance in clinical isolates of *Cryptococcus* species. *Mycoses.* 2018;61:290-7. <https://doi.org/10.1111/myc.12747>
28. Liu JY, Shi C, Wang Y, Li WJ, Zhao Y, Xiang MJ. Mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from Shanghai, China. *Res Microbiol.* 2015;166:153-61. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2015.02.009>
29. Florio AR, Ferrari S, De Carolis E, Torelli R, Fadda G, Sanguinetti M, *et al.* Genome-wide expression profiling of the response to short-term exposure to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* serotype A. *BMC Microbiol.* 2011;11:97. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-97>
30. Chang M, Sionov E, Khanal LA, Kwon-Chung KJ, Chang YC. Roles of Three *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* efflux pump-coding genes in response to drug treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018;62:e01751-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01751-17>
31. Sionov E, Chang YC, Garraffo HM, Kwon-Chung KJ. Heteroresistance to fluconazole in *Cryptococcus neoformans* is intrinsic and associated with virulence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53:2804–15. <https://doi.org/10.1128/AAC.00295-09>

Artículo original

## Costo-efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda en Colombia

Álex García<sup>1,2</sup>, Nelson Darío Giraldo<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Anestesiología y Reanimación, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Crítica y Cuidados Intensivos, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Unidad de Cuidados Intensivos Cardiovascular, Clínica CardioVid, Medellín, Colombia

**Introducción.** La terapia con oxigenación con membrana extracorpórea es costosa y, aunque existe existen indicios en la literatura de que puede ser una intervención costo-efectiva en los países desarrollados, hay dudas sobre su costo-efectividad en un país con un producto interno bruto per cápita bajo, como Colombia.

**Objetivo.** Determinar el incremento de la relación costo-efectividad de la terapia con oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda en Colombia.

**Materiales y métodos.** Se eligieron pacientes adultos con diagnóstico de síndrome de dificultad respiratoria aguda para el análisis de costo-efectividad desde la perspectiva del sistema de salud. Se compararon aquellos pacientes con asistencia respiratoria mecánica con volúmenes bajos con aquellos tratados con oxigenación con membrana extracorpórea. Se determinaron los costos médicos directos de la atención y el incremento de la relación costo-efectividad a los 6 meses.

**Resultados.** El costo esperado por paciente en asistencia respiratoria mecánica protectora fue de COP\$ 17'609.909. El costo del soporte mediante terapia de oxigenación con membrana extracorpórea fue de COP\$ 98'784.116. La relación de costo-efectividad promedio fue de COP\$ 141'662.435 por cada vida salvada (USD\$ 41.276).

**Conclusiones.** El soporte con terapia de oxigenación con membrana extracorpórea tuvo un costo promedio de COP\$ 141'662.435 por cada vida salvada, equivalente a USD\$ 41.276 dólares y el incremento de la relación costo-efectividad fue de COP\$ 608'783.750 (USD\$ 177.384), casi diez veces superior a la regla de decisión de 3 PBI per cápita (COP\$ 59'710.479).

**Palabras clave:** oxigenación con membrana extracorpórea; síndrome de dificultad respiratoria; respiración artificial; análisis costo-beneficio; Colombia

### Cost-effectiveness of extracorporeal membrane oxygenation in patients with acute respiratory distress syndrome in Colombia

**Introduction:** Extracorporeal membrane oxygenation therapy is expensive. There is evidence in the literature that it can be a cost-effective intervention in developed countries; however, in countries with low gross domestic product per capita, such as Colombia, there are still some doubts

**Objective:** To determine the incremental cost-effectiveness ratio of extracorporeal membrane oxygenation in patients with acute respiratory distress syndrome in Colombia.

**Materials and methods:** Cost-effectiveness analysis in healthcare in relation to adult patients diagnosed with acute respiratory distress syndrome with mechanical ventilation with low volumes compared to extracorporeal membrane oxygenation. The direct medical costs and the incremental cost-effectiveness ratio were determined at 6 months.

**Results:** The expected cost per patient on protective mechanical ventilation was COP\$ 17,609,909. The cost of extracorporeal membrane oxygenation therapy support in surviving patients was COP\$ 98,784,116. The average cost-effectiveness ratio of extracorporeal membrane oxygenation was COP\$ 141,662,435 for each life saved (USD\$ 41,276).

**Conclusions:** Support with extracorporeal membrane oxygenation therapy had an average cost of COP\$ 141,662,435 for each life saved equivalent to USD\$ 41,276. The incremental cost-effectiveness ratio COP\$ was 608,783,750 (USD\$ 177,384); almost ten times higher than the decision rule of three gross domestic product per capita (COP\$ 59,710,479).

**Keywords:** Extracorporeal membrane oxygenation; respiratory distress syndrome; respiration, artificial; cost-benefit analysis; mechanical ventilation; Colombia

**Recibido:** 23/11/2021

**Aceptado:** 03/11/2022

**Publicado:** 18/11/2022

#### Citación:

García A, Giraldo ND. Costo-efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda en Colombia. *Biomédica*. 2022;42:707-16. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6386>

#### Correspondencia:

Luis Alexander García, Carrera 84 N° 32C-99, Medellín, Colombia  
Teléfono: (57) (320) 676 0193  
deorumalex@yahoo.com.ar

#### Contribución de los autores:

Luis Alexander García: concepción, escritura del protocolo, adquisición de los datos, análisis de los resultados y escritura del manuscrito  
Nelson Darío Giraldo: diseño metodológico, elaboración del caso base, discusión y escritura del manuscrito

#### Financiación:

No se recibió ninguna financiación o aporte para llevar a cabo este estudio.  
Se hizo con recursos propios del autor.

#### Conflicto de intereses:

Declaramos que no tenemos ningún conflicto de intereses para la realización de este trabajo.

El síndrome de dificultad respiratoria aguda es un tipo de lesión pulmonar inflamatoria caracterizada por el daño del epitelio alveolar y endotelial, que incrementa la permeabilidad de la membrana alveolocapilar y produce edema pulmonar, lo que ocasiona hipoxemia grave e insuficiencia respiratoria aguda (1,2).

El síndrome de dificultad respiratoria aguda tiene una incidencia entre 7,2 y 86,2 casos por cada 100.000 pacientes-año, lo que corresponde al 10,4 % de los ingresos a la unidad de cuidados intensivos. Esto representa casi un cuarto (23,4 %) de los pacientes con asistencia respiratoria mecánica, con una mortalidad entre el 32 y el 61 % (3). En Colombia, Varón, *et al.*, publicaron un estudio de cohorte con 70 pacientes en el que la edad media de presentación del síndrome de dificultad respiratoria aguda fue de 49 años y el 66 % eran hombres. La principal causa de este síndrome fue neumonía adquirida en la comunidad. La mortalidad a los 28 días fue del 34 % y los sobrevivientes tuvieron una mediana de 11 de días de asistencia respiratoria mecánica y una de 14 días de hospitalización en la unidad de cuidados intensivos (4).

El tratamiento de los pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda consiste en corregir la causa subyacente y ofrecer soporte respiratorio con la estrategia de volúmenes bajos, acompañado de asistencia respiratoria en prono y relajación neuromuscular en los casos más graves (5,6). Para pacientes con hipoxemia persistente, la oxigenación con membrana extracorpórea es una técnica que permite oxigenar la sangre y eliminar el dióxido de carbono y, en casos adecuadamente seleccionados, ha demostrado aumentar la supervivencia de los pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda grave (7-10).

En Colombia, hay al menos seis centros cardiovasculares con experiencia en la aplicación de este tratamiento (11). A pesar de esto, la oxigenación con membrana extracorpórea es una terapia costosa que ha demostrado ser una estrategia costo-efectiva en países con altos ingresos; sin embargo, hay dudas de su costo-efectividad en un país con un producto interno bruto (PIB) per cápita menor y con menos disponibilidad de recursos (8,12).

El objetivo de este estudio fue determinar, desde una perspectiva del sistema nacional de salud (tercer pagador), la relación costo-efectividad de la terapia de oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda.

## **Materiales y métodos**

### ***Análisis de costo-efectividad desde la perspectiva del sistema nacional de salud***

La población objetivo incluyó pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de síndrome de dificultad respiratoria aguda, según los criterios de Berlín. Se excluyeron pacientes con edema pulmonar de origen cardiogénico, hipoxemia atribuida a hemorragia alveolar y enfermedad pulmonar crónica grave.

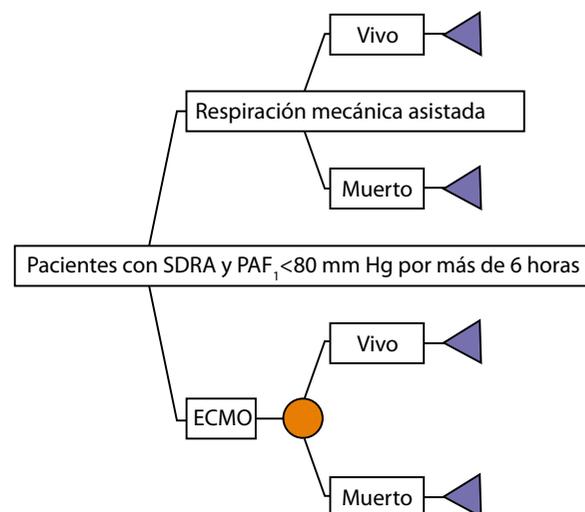
El horizonte temporal adoptado fue la duración del episodio agudo del síndrome de dificultad respiratoria aguda tratado en la unidad de cuidados intensivos y el total de la estancia hospitalaria. Este es un horizonte de tiempo adecuado para comparar las intervenciones, ya que el soporte respiratorio y la oxigenación con membrana extracorpórea solo se realizan en la unidad de

cuidados intensivos. Como el horizonte de tiempo fue inferior a un año, no fue necesario utilizar tasa de descuento.

Las alternativas consideradas fueron el soporte de oxigenación con membrana extracorpórea en modalidad veno-venosa, en comparación con la asistencia respiratoria mecánica con volúmenes bajos asociada a la respiración en decúbito prono, con relajación neuromuscular o sin ella. Para elaborar el caso base, se siguieron los reportes de la literatura y las recomendaciones de las guías de práctica clínica y de un comité de expertos. Se asumieron 14 días de estancia en la unidad de cuidados intensivos para los pacientes con asistencia respiratoria mecánica sin diferencias entre los sobrevivientes y los fallecidos. Para los pacientes en oxigenación con membrana extracorpórea, se asumieron 14 días en perfusión, y una estancia en la unidad de cuidados intensivos de 24 días para los que sobrevivían y de 11 días para los que fallecían. Se asumió que los pacientes en oxigenación con membrana extracorpórea no presentaron complicaciones relacionadas con el tratamiento (4,7,12-14).

Para estimar los costos y beneficios esperados de ambas alternativas, se planteó un árbol de decisiones que refleja los diferentes resultados que puede experimentar un paciente (figura 1). En el árbol se asume que, una vez que el paciente tenga una  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  menor de 80 mm Hg (con una presión arterial de  $\text{CO}_2$  mayor de 60 mm Hg por más de 6 horas o sin ella y después de recibir asistencia respiratoria mecánica con volúmenes bajos, PEEP adecuado y respiración en prono), puede continuar con asistencia respiratoria mecánica con volúmenes bajos o puede recibir soporte con oxigenación con membrana extracorpórea. Además, se asume que el paciente no tiene disfunción de otros órganos que requieran soporte, que lleva menos de 8 días con asistencia respiratoria mecánica invasiva y que el soporte con oxigenación con membrana extracorpórea se lleva a cabo en la misma institución por un grupo con experiencia en la terapia.

Como resultado de la efectividad, se consideraron los años de vida ganados a los 6 meses del evento. Las tasas de supervivencia se extrajeron de la revisión de Combes, *et al.*, considerada de gran calidad metodológica, en la cual se reporta una supervivencia del 64 % con oxigenación con membrana extracorpórea comparada con el 52 % con asistencia respiratoria mecánica con volúmenes bajos (9).



**Figura 1.** Árbol de decisiones

**Cuadro 1.** Probabilidades de transición

Alternativa	Variable	Valor en el caso base	Parámetros de la distribución beta	Fuente, referencia
Asistencia respiratoria mecánica	Supervivencia	0,52	n=112; N=215	(9)
ECMO	Supervivencia	0,64	n=138; N=214	(9)

ECMO: *Extra Corporeal Membrane Oxygenation*

Para establecer el listado de recursos costeados, se usó la metodología de caso tipo, elaborada con un especialista experto en el manejo de esta entidad clínica y en el soporte con oxigenación con membrana extracorpórea. Se hizo énfasis en los recursos utilizados en la atención directa de los pacientes, como estancia en la unidad de cuidado intensivo, estancia hospitalaria, estudios de laboratorio, estudios imagenológicos e insumos. Para la valoración monetaria, se utilizó el manual del SOAT (Seguro Obligatorio de Accidentes de Tránsito) del 2020 y el manual del ISS (Instituto de Seguros Sociales) del 2001 ajustado por el 30 %, de acuerdo con las recomendaciones del Instituto de Evaluación de Tecnologías en Salud (IETS) (15); posteriormente, se ajustó con el promedio del índice de precios al consumidor (IPC) después del 2012 hasta el 2020, con una media de 3,85. Para la valorización de los honorarios médicos y de la perfusión, se tomaron las tarifas de uno de los centros de una entidad aseguradora y se hizo un ajuste de costo a cuenta de 0,65, como lo recomienda Drummond (16). Las valoraciones monetarias de los insumos del soporte con oxigenación con membrana extracorpórea, se tomaron de los proveedores. Una vez hecho esto, se procedió a calcular los costos totales de la atención, como la suma de todos los costos implicados. No se analizaron los costos directos no médicos, como tampoco los costos indirectos y los costos futuros.

Como regla de decisión, se calculó el incremento de la relación costo-efectividad entre el soporte con oxigenación con membrana extracorpórea y la asistencia respiratoria mecánica, y se comparó esta relación con el valor correspondiente a tres PIB per cápita como umbral de aceptabilidad y disponibilidad de pagar, de acuerdo con las recomendaciones del IETS (15).

Para tener en cuenta la incertidumbre, se realizaron análisis de sensibilidad determinísticos y probabilísticos. En esto últimos, se modificó el costo de la oxigenación con membrana extracorpórea en un análisis de tipo umbral, en el cual el incremento de la relación costo-efectividad se comparó con un valor de tres PIB per cápita. Para la construcción del análisis de sensibilidad probabilístico, se asumieron distribuciones beta para las probabilidades con parámetro n y N, presentados en el cuadro 1. Para los costos directos, se utilizó una distribución triangular y se tomaron como mínimo los costos del manual del ISS del 2001 con los ajustes descritos y un máximo sobre la valoración de los procedimientos del manual SOAT del 2020.

La construcción del árbol de decisión y los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el programa Microsoft Excel 2016. El cambio de pesos colombianos (COP) a dólares (USD) se hizo mediante la equivalencia de COP\$ 3.432 = USD\$ 1, según la tasa representativa del mercado para el 31 de diciembre de 2020.

## Resultados

Los pacientes que recibieron soporte en la unidad de cuidados intensivos con oxigenación con membrana extracorpórea tuvieron costos mayores que aquellos tratados únicamente con asistencia respiratoria mecánica protectora. El costo esperado por paciente con esta asistencia respiratoria

fue de COP\$ 17'609.909, mientras que el costo del soporte con oxigenación con membrana extracorpórea en los pacientes que sobrevivieron fue de COP\$ 98'784.116 y, para los que fallecieron, de COP\$ 76'228.123. El costo total esperado del soporte con oxigenación extracorpórea fue de COP\$ 90'663.959, lo cual resultó en un costo adicional de COP\$ 73'054.050 (USD\$ 21.286). De estos costos, el 34 % se debieron a los insumos utilizados en el soporte, el 23 % a la estancia en la unidad de cuidados intensivos y el 22 % a los honorarios por el soporte hemodinámico (cuadro 2).

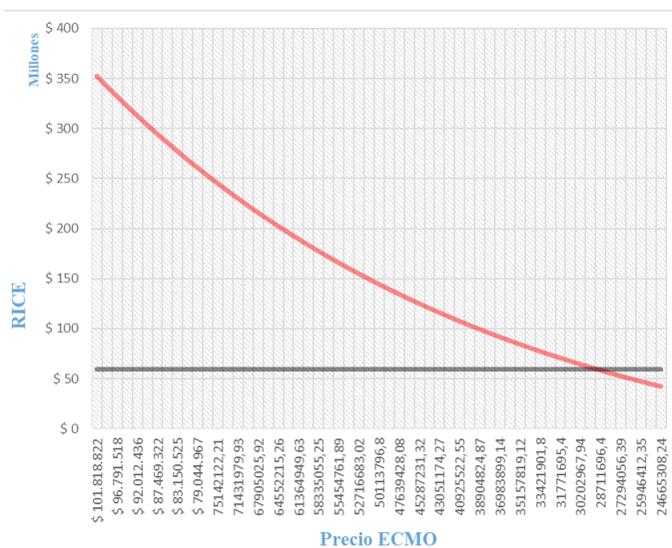
La relación promedio de costo-efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea fue de COP\$ 141'662.435 por cada vida salvada (USD\$ 41.276) y el incremento de la relación costo-efectividad fue de COP\$ 608'783.750 (USD\$ 177.384), casi diez veces más alta que la regla de decisión de tres PIB per cápita (COP\$ 59'710.479).

Al hacer el análisis determinístico, los costos del soporte con oxigenación con membrana extracorpórea tendrían que ser de COP\$ 30'824.741 para que los costos esperados fueran de COP\$ 19'758.659 y el incremento de la relación costo-efectividad fuera de COP\$ 58'897.262 por debajo de la regla de decisión (figuras 2 y 3).

Al hacer el análisis de sensibilidad probabilístico, el soporte con oxigenación con membrana extracorpórea fue costo-efectivo en menos del 20 % de las simulaciones (figura 4).

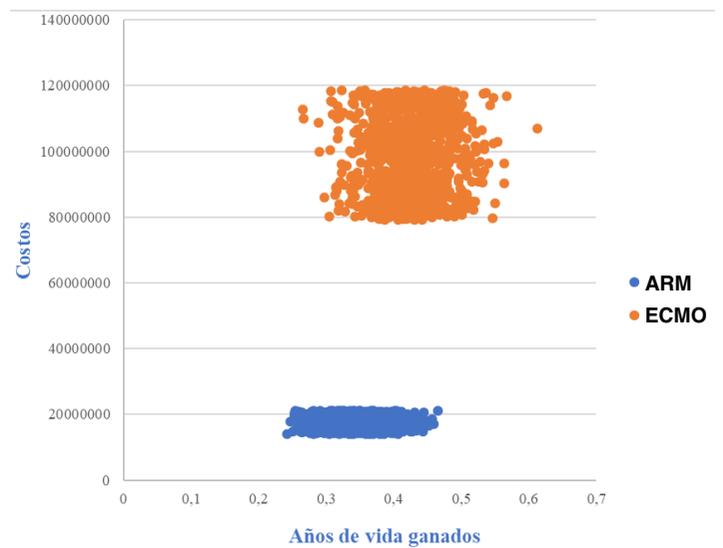
**Cuadro 2.** Costos de las alternativas en pesos colombianos

ISS 2001	Asistencia respiratoria mecánica	Extra corporeal membrane oxigenation	SOAT 2020	Asistencia respiratoria mecánica	Extra corporeal membrane oxigenation
Estancia	\$ 16'146.946	\$ 25'696.056	Estancia	\$ 26'171.600	\$ 40'716.600
Imagenológicos	\$ 109.005	\$ 1'621.204	Imagenológicos	\$ 210.600	\$ 3'436.500
Laboratorios	\$ 1'168.773	\$ 6'122.338	Laboratorios	\$ 1'931.400	\$ 10'519.600
Microbiológicos	\$ 185.185	\$ 185.185	Microbiológicos	\$ 265.200	\$ 265.200
Hemoderivados		\$ 2'473.013	Hemoderivados		\$ 4'986.200
Honorarios		\$ 25'046.320	Honorarios		\$ 25'046.320
Insumos		\$ 37'640.000	Insumos		\$ 37'640.000
<b>Total</b>	<b>\$ 17'609.909</b>	<b>\$ 98'784.116</b>	<b>Total</b>	<b>\$ 28'578.800</b>	<b>\$ 122'610.420</b>



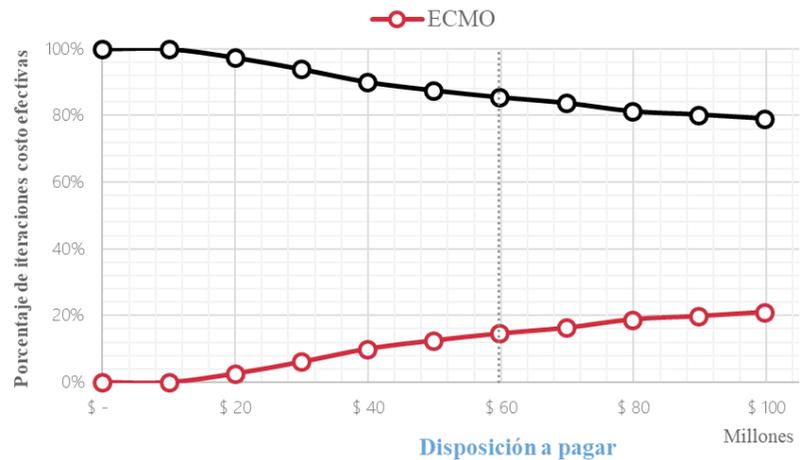
RICE: Incremental Cost-Effectiveness Ratio; ECMO: Extra-Corporeal Membrane Oxigenation

**Figura 2.** Análisis determinístico de umbral



ARM: Asistencia respiratoria mecánica; ECMO: Extra Corporeal Membrane Oxigenation

**Figura 3.** Gráfico de dispersión



ECMO: *Extra Corporeal Membrane Oxigenation*

**Figura 4.** Curva de aceptabilidad

## Discusión

Los resultados de este análisis económico sugieren que el soporte con oxigenación con membrana extracorpórea no es una estrategia dominante respecto al soporte con asistencia respiratoria mecánica protectora, en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda grave a los seis meses. Esta conclusión se mantiene en las diferentes circunstancias y análisis de sensibilidad, por lo que es muy probable que la incertidumbre en los parámetros y el modelo planteado no modifiquen el resultado.

Para el modelo se asumió un paciente base con síndrome de dificultad respiratoria aguda grave que no experimentaba complicaciones durante la estancia en la unidad de cuidados intensivos; sin embargo, estos pacientes pueden presentar complicaciones, como infecciones hospitalarias y disfunción de otros órganos que impactan el resultado clínico y los costos. Similarmente, los pacientes en oxigenación con membrana extracorpórea pueden tener complicaciones inherentes a esta terapia, como isquemia y sangrado en el sistema nervioso central, hemorragia gastrointestinal e infecciones hospitalarias, así como también, problemas técnicos como la falla de la membrana, y disfunción del circuito y de las cánulas, lo que se asocia con aumento de los costos del tratamiento.

Estos resultados coinciden con dos análisis de costo-efectividad previos, realizados en el Reino Unido y Canadá. El estudio CESAR, fue un estudio clínico llevado a cabo en Inglaterra y el Reino Unido en el 2009, en el cual se evaluaron la seguridad, la eficacia clínica y el costo-efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea comparado con el de la asistencia respiratoria mecánica protectora con volúmenes bajos. La evaluación económica adoptó la perspectiva del sistema nacional de salud y de la sociedad, con un horizonte de tiempo de seis meses. Se estimaron los costos directos, médicos y no médicos, de la atención mediante microcosteo. Se calcularon los años de vida ajustados a calidad (AVAC) para los sobrevivientes a los seis meses mediante el instrumento EuroQol-5D. En este estudio, se calcularon los AVAC ganados para toda la esperanza de vida de los sobrevivientes. La esperanza de vida se determinó con las tablas de vida específicas para la población del Reino Unido y Gales, y se asumió que los pacientes tenían una mejoría de su calidad de vida hasta los dos primeros años. Los costos promedio en salud fueron más altos en los pacientes

asignados a oxigenación con membrana extracorpórea, con un incremento en el costo de GBP£ 40.544 (GBP£ 73.979 *versus* GBP£ 33.435) y el incremento de la relación costo-efectividad a los seis meses fue de GBP£ 250.162. A los seis meses, la diferencia de AVAC entre las dos alternativas fue de 0,03, pero, al hacer la proyección para la esperanza de vida, la diferencia en AVAC fue de 3,34 a favor del soporte con oxigenación extracorpórea con una relación de costo-utilidad de GBP£ 19.000 por AVAC, con más del 50 % de probabilidad de ser costo-efectivo con una disponibilidad a pagar de GBP£ 33.000 por AVAC (12).

Barret, *et al.*, publicaron, en el 2018, un análisis de costo-beneficio de la oxigenación con membrana extracorpórea desde la perspectiva del sistema de salud canadiense. Se utilizó un modelo de transición de estados de una cohorte hipotética de pacientes. La edad al comienzo del modelo fue de 45 años, cada ciclo tenía una duración de un año y el modelo corrió hasta la muerte de los sujetos, con un horizonte de tiempo de toda la esperanza de vida. Los datos de costos para los pacientes con oxigenación con membrana extracorpórea y asistencia respiratoria mecánica durante el primer año, fueron tomados del CESAR (12), además del metaanálisis de Zampieri, *et al.* (17), y los costos después del año para los pacientes se tomaron del estudio publicado por Herridge, *et al.* (18).

Para el cálculo de los AVAC para los sobrevivientes de síndrome de dificultad respiratoria aguda, se tomó como utilidad aquella publicada por Skinner, *et al.* (19); en ese estudio, se asumió un aumento de la calidad de vida hasta el quinto año después del egreso, luego del cual, la calidad de vida se igualaba a la de la población general. La oxigenación con membrana extracorpórea se asoció con una ganancia de 5,2 años de vida adicionales y 4,05 AVAC, en comparación con la asistencia respiratoria protectora; el incremento del costo fue de CAD\$ 145.967 y un el incremento de la relación costo-efectividad de CAD\$ 36.000 CAD/AVAC, lo cual fue costo-efectivo con una disponibilidad a pagar de 50.000 CAD/AVAC (8).

Durante la pandemia del COVID-19, hubo gran demanda de centros de oxigenación con membrana extracorpórea en el mundo. La tasa de supervivencia global en los metaanálisis sobre dicha condición, fue del 63 %, similar a la de las otras causas del síndrome de dificultad respiratoria aguda grave en oxigenación extracorpórea, lo que sugiere que estos resultados también podrían aplicarse a este grupo de pacientes (20).

En el presente análisis económico, solo se tomaron en cuenta los costos directos médicos de la atención en la unidad de cuidados intensivos y hospitalaria. Esto se debe a que el objetivo del análisis era conocer el incremento en el costo de la terapia por vida salvada y el incremento de la relación costo-efectividad, con el propósito de generar un dato concreto para la toma de decisiones para el tercer pagador. Es claro que, aunque los pacientes y familiares incurren en costos que pueden ser diferentes para las intervenciones, estos, al hacer parte de los gastos de bolsillo, no influyen la decisión del tercer pagador.

De forma similar, los sobrevivientes del síndrome de dificultad respiratoria aguda incurren en costos médicos futuros, como rehabilitación y consultas de revisión que no fueron tomados en cuenta en el análisis, ya que no son diferentes para las intervenciones y, de esta forma, no influyen la toma de decisiones.

Un punto controvertido del análisis es el tiempo de valoración de los resultados de efectividad. En el presente análisis, se tomó un horizonte de tiempo de seis meses. Los pacientes que recibieron soporte con oxigenación con membrana extracorpórea tuvieron una mayor supervivencia en este punto, en comparación con los pacientes que continuaron con asistencia respiratoria mecánica; esta diferencia, aunque con significancia estadística, fue pequeña en total de años de vida ganados.

Por esta razón, la estimación del incremento de la relación costo-efectividad fue elevada y por encima de la regla de decisión de tres veces el PIB per cápita. Este hallazgo fue idéntico al del estudio CESAR, en el cual el incremento de la relación costo-efectividad a los seis meses estuvo muy por encima de la disponibilidad para pagar; sin embargo, los estudios publicados hasta la actualidad muestran que los pacientes que sobreviven al síndrome de dificultad respiratoria aguda mantienen este beneficio en supervivencia en el tiempo y presentan una mejoría de su calidad de vida en los primeros cinco años después del egreso del hospital, cuando se equipara la calidad de vida con la de la población general. En el estudio CESAR y en el de Barrett, *et al.*, modelaron esta diferencia de efectividad para toda la esperanza de vida de los pacientes y encontraron una diferencia importante en los años de vida ganados y en los AVAC, entre las intervenciones. Al utilizar estos beneficios en el cálculo del incremento de la relación costo-efectividad, la oxigenación con membrana extracorpórea estuvo dentro de la disponibilidad de pagar y fue recomendada como una estrategia costo-efectiva.

Con esta consideración y a modo de ejercicio, se hizo un modelado de Markov simulando las diferencias entre la supervivencia de la oxigenación con membrana extracorpórea y la asistencia respiratoria mecánica en un periodo de cinco años, para un paciente de 40 años. Se utilizaron las curvas de supervivencia y las tablas de vida para la población colombiana publicadas por el DANE para el año 2020. Los resultados de este modelo exploratorio mostraron que los pacientes con asistencia respiratoria mecánica tuvieron una ganancia de 6,5 años y, aquellos con oxigenación extracorpórea, de 7,9 años, con una diferencia de 1,4 años entre las dos intervenciones. Aplicando esta diferencia de efectividad al incremento del costo, el incremento de la relación costo-efectividad sería de COP\$ 52'181.464, que se ubica por debajo de la regla de decisión. Sin embargo, este hallazgo debe interpretarse con precaución, ya que no se tuvieron en cuenta los costos de un soporte prolongado con oxigenación extracorpórea, ni el costo de las complicaciones posibles, así como tampoco, los costos futuros de los sobrevivientes.

La principal limitación del estudio es no contar con datos locales sobre la efectividad del soporte con oxigenación con membrana extracorpórea para el cálculo del incremento de la relación costo-efectividad. En el análisis, se utilizaron los datos publicados en el metaanálisis publicado por Combes, *et al.*, que es la mejor información disponible hasta el momento (9). En la Clínica Cardio Vid, el principal centro de soporte de oxigenación con membrana extracorpórea en Medellín, desde el año 2013 hasta el año 2021, más de 250 pacientes han recibido este tratamiento, con una supervivencia de alrededor del 60 %, dato que debe evaluarse con precaución dado que se incluyen pacientes con choque cardiogénico y soporte con oxigenación extracorpórea venoarterial que tienen una supervivencia diferente. Estas tasas de supervivencia están por debajo de las reportadas por Combes, lo que modificaría los resultados del incremento de la relación costo-efectividad (datos proporcionados por la Clínica Cardio VID, Medellín).

Los análisis de sensibilidad del incremento de la relación costo-efectividad fueron muy influenciados por la efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea. Los tomadores de decisiones deben tener esta información en cuenta ya que en centros donde la supervivencia con oxigenación extracorpórea sea inferior al 64 %, el posible costo-efectividad de esta terapia puede estar comprometido.

En conclusión, el soporte con oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda grave, es más costoso que la asistencia respiratoria mecánica protectora, con un costo de COP\$ 141'662.435 (USD\$ 41.276) por cada vida salvada y a los seis meses; su relación de costo-efectividad está muy por encima de la regla de decisión de tres PIB per cápita.

## Referencias

1. Rubenfeld GD, Caldwell E, Peabody E, Weaver J, Martin DP, Neff M, *et al.* Incidence and outcomes of acute lung injury. *N Engl J Med.* 2005;353:1685-93. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa050333>
2. Asbaugh D, Bigelow B, Petty T, Levine B. Acute respiratory distress in adults. *Lancet.* 1967;290:319-23. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(67\)90168-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(67)90168-7)
3. Bellani G, Laffey JG, Pham T, Fan E, Brochard L, Esteban A, *et al.* Epidemiology, patterns of care, and mortality for patients with acute respiratory distress syndrome in intensive care units in 50 countries. *JAMA.* 2016;315:788-800. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.0291>
4. Varón-Vega FA, Uribe Hernández AM, Palacios Rojas JO. Epidemiología, diferencias clínicas y desenlaces de pacientes con SDRA en unidades de cuidado intensivo de Colombia. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo.* 2019;19:74-80. <https://doi.org/10.1016/j.acti.2019.01.005>
5. Moss M, Huang DT, Brower RG, Ferguson ND, Ginde AA, Gong MN, *et al.* Early neuromuscular blockade in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2019;380:1997-2008. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1901686>
6. Lee JM, Bae W, Lee YJ, Cho YJ. The efficacy and safety of prone positional ventilation in acute respiratory distress syndrome: Updated study-level meta-analysis of 11 randomized controlled trials. *Crit Care Med.* 2014;42:1252-62. <https://doi.org/10.1097/CCM.000000000000122>
7. Combes A, Hajage D, Capellier G, Demoule A, Lavoué S, Guervilly C, *et al.* Extracorporeal membrane oxygenation for severe acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2018;378:1965-75. <https://doi.org/10.1177/1054773816677808>
8. Barrett KA, Hawkins N, Fan E. Economic evaluation of venovenous extracorporeal membrane oxygenation for severe acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 2019;47:186-93. <https://doi.org/10.1097/CCM.00000000000003465>
9. Combes A, Peek GJ, Hajage D, Hardy P, Abrams D, Schmidt M, *et al.* ECMO for severe ARDS: Systematic review and individual patient data meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2020;46:2048-57. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06248-3>
10. Fan E, Brodie D, Slutsky AS. Acute respiratory distress syndrome advances in diagnosis and treatment. *JAMA.* 2018;319:698-710. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.21907>
11. Salazar LA, Uribe JD, Poveda Henao CM, Santacruz CM, Giraldo Bejarano E, Bautista DF, *et al.* Consenso ECMO colombiano para paciente con falla respiratoria grave asociada a COVID-19. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo.* 2021;21:272-82. <https://doi.org/10.1016/j.acti.2020.09.001>
12. Peek GJ, Mugford M, Tiruvoipati R, Wilson A, Allen E, Thalanany MM, *et al.* Efficacy and economic assessment of conventional ventilatory support versus extracorporeal membrane oxygenation for severe adult respiratory failure (CESAR): A multicentre randomised controlled trial. *Lancet.* 2009;374:1351-63. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61069-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61069-2)
13. Hamel MB, Phillips RS, Davis RB, Teno J, Connors AF, Desbiens N, *et al.* Outcomes and cost-effectiveness of ventilator support and aggressive care for patients with acute respiratory failure due to pneumonia or acute respiratory distress syndrome. *Am J Med.* 2000;109:614-20. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(00\)00591-x](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(00)00591-x)

14. Bice T, Carson SS. Acute respiratory distress syndrome: Cost (early and long-term). *Semin Respir Crit Care Med*. 2019;40:137-44. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1685463>
15. Moreno M, Mejía A, Castro H. Manual para la elaboración de evaluaciones económicas en salud. Bogotá, D.C.: Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud; 2014. p. 10-32.
16. Drummond MF, Sculpher MJ, Claxton K, Stoddart GL, Torrance GW, O'Brien BJ. *Methods for the economic evaluation of health care programmes*. Fourth edition. Oxford: Oxford University Press; 2015. p. 1-445.
17. Zampieri FG, Mendes PV, Ranzani OT, Taniguchi LU, Pontes Azevedo LC, Vieira Costa EL, *et al*. Extracorporeal membrane oxygenation for severe respiratory failure in adult patients: A systematic review and meta-analysis of current evidence. *J Crit Care*. 2013;28:998-1005. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2013.07.04>
18. Herridge M, Tansay C, Matté A, Tomlinson G, Díaz-Granados N, Cooper A, *et al*. Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2011;364:1293-304. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1011802>
19. Skinner EH, Denehy L, Warrillow S, Hawthorne G. Comparison of the measurement properties of the AQoL and SF-6D in critical illness. *Crit care Resusc*. 2013;15:205-12. PMID: 23944207
20. Ramanathan K, Shekar K, Ling RR, Barbaro RP, Wong SN, Tan CS, *et al*. Extracorporeal membrane oxygenation for COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2021;25:1-11. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03634-1>

**Lista de evaluadores 2022**

El Comité Editorial de *Biomédica* agradece a los evaluadores nacionales y extranjeros por su contribución al continuo avance de la revista.

---

Acevedo Liliana	Cardona Doris	Galindo-Méndez Mario
Acurero Ellen	Cardona Gloria del Pilar	Gamboa Paúl
Amaya Héctor Julio	Carlos Silvera	García Angélica María
Andrade David	Carrasquilla Gabriel	García Luis Fernando
Arango Gabriel J.	Carrillo Ana Julia	García-Cruz Diana
Arboleda Humberto	Carrillo Sandra	García-Robles Reggie
Arévalo Rebeca Liliana	Castellanos Jenniffer	Garduño Juan
Argomedeo-Ramos	Castiblanco Ruth Alexandra	Gerónimo Néstor
Gianfranco	Castro Carla	Gil Chavarría Ivet
Aristizábal Chantal	Castro-Alarcón Natividad	Giraldo Horacio
Arroyave Claudia	Celis Adriana	Gómez Claudia Yadira
Atik Nur	Cerezo María del Pilar	Gómez Jorge Enrique
Azanza José Ramón	Chaparro Pablo Enrique	Gómez José Fernando
	Chepo Macarena	Gómez Luis Alejandro
Báez Alejandra	Contreras Agustín	Gómez María Eugenia
Barría Mauricio	Coral Miguel	Gómez Mariana
Barrientos Juan Guillermo	Cortés Liliana Jazmín	González Juliana
Bayona Hernán	Cote Juan Esteban	González Sandra
Becerra Luis	Cubillos Paola	Granados Carlos Alejandro
Bejarano Jhon Jairo	Cuellar Isabel	Guerrero Yuly Katherine
Bejarano Mónica	Cuellar Martha	
Beltrán Eduardo	Curcio Carmen Lucía	Herrera Juan Manuel
Benítez Jesús A.		
Benjumea Dione	Díaz Francisco Javier	Isaza Juan Pablo
Bermúdez Antonio	Dotta María Eugenia	
Bernal Jaime	Durán Marlene	Jaramillo Andrés
Bernal Luz Mery	Durlach Ricardo	
Betancourt-Peña Jhonatan		Kunakov Natasha
Borda Miguel Germán	Enríquez-Canto Yordanis	
Brazzale Danny J.	Erturk Sukru Mehmet	Leguizamo Rosa Paola
Briceño Ignacio	Escandón Patricia	Lemus Rodrigo
Brieva Jorge Eduardo	Escobar Isabel	Linares Javier
Buriticá Efraín	Etewa Samia	Lizarazo Jairo Francisco
		López Jorge Hernán
Cabrales Iván Eduardo	Fernández Gabriela	López José Julián
Cáceres Lorenzo	Fernández Maritza	López María José
Calderón Ana María	Figueroa Daniel	López-Hortelano Milagros García
Calderón Martha Nancy	Flores María del Pilar	
Camacho Jhon Hadersson	Franco Carlos	Machado-Alba Jorge E.
Camargo Sandra Milena	Fuentes Ramón	Malagón Jeadran
Campo Alfonso		Matallana Audrey Mary
Cañas Carlos A.	Gabster Amanda	Mira José Joaquín

Monsalve María Lorci  
Morales Andrea  
Muñoz Marlene  
Murillo Olga

Negrete José Vicente  
Noreña Iván

Ocampo José Mauricio  
Olivera César Enciso  
Osorio Elkin

Pachajoa Harry  
Palencia Francisco  
Pando Marcelo  
Pardo Rosa Andrea  
Pérez Diego  
Pérez Mauricio  
Perotto Renatta  
Polo Bertha

Quintero Mario Andrés

Ramírez Johanna  
Realpe Teresa  
Rengifo Herney  
Restrepo Héctor Fabio  
Rey Diana  
Ricaurte Ana Inés

Rivera Víctor Manuel  
Rivero-Rodríguez Zulbey  
Roca-Garavito Sara  
Rocha Rita  
Rodríguez Gerzaín  
Rodríguez Ivonne  
Rodríguez Máximo  
Rodríguez-Valiente Mónica  
Romero Rosa Eliana  
Rosselli Diego  
Rubio Gabriel  
Rueda Andrea del Pilar  
Ruiz Saenz Julián

Sáenz José  
Salcedo Fernando  
Sampedro Paola Milena  
Sánchez Maira  
Sánchez Oscar Eduardo  
Sánchez Ricardo  
Sánchez Sharon Carolina  
Sandoval Jairo  
Santiago Vanessa  
Segura Nidya Alexandra  
Seija Verónica  
Sepúlveda Juan Carlos  
Sepúlveda Victoria  
Severino Patricia  
Soto Jaime

Soto Ramón Jeremías  
Suárez Amaranto  
Suárez Martha Cecilia

Téllez Germán Alberto  
Tobón Alberto  
Tolosa Miguel Antonio  
Torres Castro Marco  
Torres Felipe  
Torres Verónica  
Trespacios Erik

Uribe Jesús Alfredo  
Usme José

Valenzuela Fernando  
Valenzuela-Calvillo Linda Selen  
Vallejo Darío Antonio  
Valoyes Elizabeth  
Vargas Shirley Rocío  
Vásquez Luis Reinel  
Vera-Arias Claudia A.

Yantorno María Laura  
Yépez María Clara

Zakzuk Josefina  
Zapata Silvana

Biomédica  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
Volumen 42, números 1, 2, 3, 4, suplementos 1 y 2

**Índice de autores**

- 
- Abou-El-Naga Iman F., 67  
Acosta Antonio, s2-59  
Acosta David, 218  
Afanador Carlos Humberto, s1-154  
Aguirre Hernán Darío, 278  
Ahumada Enoc, s1-154  
Alarcón Milena, 290  
Alger Jackeline, 315  
Alonso Luz Marina, s1-41  
Altintas Kadirhan Ozge, s1-55  
Alvarado Luis Antonio, 85  
Álvarez Alessa, 602  
Álvarez Gilberto, 264  
Álvarez Juan, 218  
Álvarez-Castaño Luz Stella, 41  
Álvarez-Díaz Diego A., 541  
Amaya-Castellanos Claudia, 679  
Amer Eglal I., 67  
Amézquita Miguel, 290  
Andreu Mauro, 562  
Angulo Nancy Y., 445  
Aquino Teixeira Márcia Cristina, 31  
Aquino-Canchari Christian Renzo, 355  
Araujo Diniz Clara, 253  
Araujo-Banchon William J., 147  
Araújo-Quintana Óscar, 679  
Araya Omar, 234  
Archila Pilar, 574  
Arcila Eliana, 611  
Arcila John, 170  
Arias Luis F., 460  
Arias Marcela Rocío, 85  
Aristizábal Alejandra, 623  
Arrieta Óscar, 574  
Arróspide Nancy, 147  
Arroyo-Hernández Hugo, 355  
Arroyo-Munive Yasmit, 633  
Arrunátegui Ana María, 391  
Arteaga Miguel, 127  
Arteta Ariel A., 460  
Avila Jahir Andrés, 508  
Ávila Jenny, 574
- Barradas Susana, s1-79  
Barrón-Pastor Helí Jaime, 470  
Bastidas Daniel, 522  
Bastidas Gilberto, 522  
Bautista Lola, 170  
Becerra Antonio, 574  
Bejarano Eduar Elías, 633  
Bello Felio J., 54
- Bello Jesús David, 342  
Bello Yesit, s2-59  
Beltrán Briana, 315  
Beltrán Estefanía, 531  
Benavides-Arias Diana, s2-73  
Benites-Ibarra Christeam A., 355  
Benjumea-Bedoya Dione, 315  
Bermúdez Sonia, 574  
Bernal Catalina, 184  
Bernal-Villegas Jaime, s1-5  
Betancourth Patricia, 591  
Blas Magaly M., 422  
Boulos Laila M., 67  
Bracho Ángela, 127  
Brito Farias Marina Morena, 31  
Buitrago Juan Guillermo, 440  
Burgos Remberto, 574  
Bustacara Maximiliano, 290  
Bustos Julie Pauline, s1-26
- Cabrera Azucena, s2-48  
Cadavid Claudia E., 460  
Caicedo-Velásquez Beatriz, 41  
Calle Estefanía, s1-8  
Camacho Paúl, 170  
Camargo-Lemos Diana Marina, 378  
Cano Luz E., 18  
Cañas Alejandro, 574  
Cardona Andrés F., 574  
Cardona Carolina, 278  
Cardona Natalia, s1-89  
Carranza Hernán, 574  
Carranza Julio César, 136  
Carrillo Natalia María, 85  
Castañeda Lina-Alexandra, 112  
Castaño Paula A., 445  
Castillo-Martínez Alejandro, 531  
Castro Gustavo A., 329  
Castro Paula Andrea, s1-26  
Castro-Reyes María C., 679  
Cerón Jeimmy, 196  
Céspedes Camila, s1-144  
Chacón Kelly Rocío, s2-19  
Chantre-Mostacilla Amparo, 531  
Chaparro Pablo, 264  
Chávez Georgina, 234  
Chávez-Bustamante Sarai Gloria, 355  
Cifuentes Hernando, 574  
Cochoero Suljei, 633  
Constain-Mosquera Camilo Alexander, 302  
Contreras Adolfo, s2-14
- Corchuelo Sheryll, s2-9  
Corrales María Fernanda, s1-8  
Cubillos Astrid Lorena, 364  
Cuéllar-Giraldo David, s2-78  
Cuéllar-Segura Claudia Milena, s2-5  
Cuervo Sonia Isabel, 224  
Cuervo-Amore Luis Gabriel, 422
- de Almeida Vitor Ricardo Wagner, 136  
de La Hoz Ilich Herbert, s2-19  
de Lima Oliveira Cíntia, 31  
de Oliveira Ramos Melo Nayanna, 253  
de Sousa Peres Júnior Helio, 253  
de Sousa Silva Matheus, 253  
Días Tatiana, 562  
Díaz Diana, s2-59  
Díaz Dieric Anderson, 290  
Díaz Francisco J, s2-48  
Díaz Jerly Maybelline, 554  
Díaz Yirys, s2-59  
Dominguez Luis Carlos, 102  
Dornelas Conceição Aparecida, 253  
Duque-Samper Aristides, s2-78
- Echeverry David Ricardo, 440  
Escobar Fabio Alberto, 159  
Escobar José Pablo, 264  
Escorcía Katherine s2-59,  
Espinosa Eugenia, 429  
Estacio Mayra, 531  
Estévez-García Jesús A., 679  
Estrada Jorge Mario, s1-89
- Fechine Jamacaru Francisco Vagnaldo, 253  
Feo Óscar, 574  
Fernández-Niño Julián Alfredo, 5  
Fernández-Silva Jorge A., 591  
Ferrer Daisy, s1-17  
Flórez Fredy, 184  
Flórez Laura, s2-59  
Forero Adriana Carolina, 342  
Forero Catalina, s1-144  
Forero Diego, s2-48  
Franco Alexis A., 531  
Franco-Muñoz Carlos, 541  
Freitas Jordan, 602
- Galán Nataly, s2-59  
Gallego Salomón, 329  
Gallo Juan E., 697  
Gallo-Villegas Jaime, 611

Galvão-Castro Bernardo, 31  
 Gantiva-Navarro María M., 435  
 García Álex, 707  
 García Ana María, 697  
 García Carmen Cristina, s1-116  
 García Deidamia, s2-73  
 García Ildemaro, s1-116  
 García Judith Sofía, 342  
 García Lina María, s2-14  
 García Mayra, s1-17  
 García-Casallas Julio, 218  
 García-Diéguez Marcelo, 102  
 García-Galán Paloma, 244  
 García-Perdomo Herney Andrés, 450  
 García-Robledo Juan Esteban, 574  
 Gaviña-Carrillo Mariana, s2-78  
 Gaviña-Mendoza Andrés, 302  
 Gaviña-Rivera Adelaida, 18  
 Gelvez Nancy, s1-130  
 Gil Verónica, 278  
 Giraldo Nelson Darío, 707  
 Gomes de Lemos Telma Leda, 253  
 Gómez Christian C., 445  
 Gómez Diego, 574  
 Gómez Jairo, 591  
 Gómez Jorge Enrique, 136  
 Gómez Julio César, 224  
 Gómez Óscar Mauricio, 697  
 Gómez-García Diego Mauricio, 450  
 Gómez-Mazuera Ángela, s2-78  
 González Juliana, 591  
 González-Álvarez Dubán, s2-48  
 Guerra-Castillo Jesús, 633  
 Guerrero María Leonela, 127  
 Guerrero-Fajardo Gloria Piedad, 531  
 Gulen Bedia, s1-55  
 Gutiérrez Luz A., s2-48  
 Gutiérrez María Paula, s2-19  
 Guzmán-Tordecilla Deivis Nicolás, s1-79

Hakim Fernando, 574  
 Heredia Ricardo, 522  
 Hernández Juan C., 329  
 Herrera Adela, s1-100  
 Hoyos-Guapacha Karol Liceth, 302  
 Hoyos-Guapacha María Alejandra, 302  
 Hurtado Leidy, s2-59

Ibata Linda Margarita, 290  
 Idrovo Álvaro J., 679  
 Isaza Luis Fernando, s1-154

Jaimes Fabián, 329  
 Jaramillo Andrés, 391  
 Jaramillo Jimena, 623  
 Jaramillo-Velásquez Daniel, 574  
 Jiménez Enrique, 574  
 Joya Milagros, 522  
 Jurado-Fajardo Daniel, 479

Kahraman Ahmet Nedim, s1-33  
 Kreinter-Rosembaun Hellen, s2-78  
 Kucukdagli Okkes Taha, s1-55

Laiton-Donato Katherine, 541  
 León Kevin, 329  
 Londoño Ángela María, 278  
 López Greizy, s1-130  
 López Lucelly, 184  
 López Martha Patricia, 85, 159  
 Lucumí Diego, s1-79

Machado-Alba Jorge Enrique, 302  
 Machado-Duque Manuel Enrique, 302  
 Maestre Ronald, s2-59  
 Mancera-Charry Julián, s2-78  
 Mantilla Daniel, 170  
 Manzi Eliana, 531  
 Manzi Jorge, s1-41  
 Marino Felipe, 611  
 Marín-Palma Damariz, 329  
 Martínez Bibiana, 224  
 Martínez Fabio, 170  
 Martínez Juliana, 623  
 Martínez Julio César, 508  
 Martínez Silvia, s1-116  
 Martínez-Abad Lily, 633  
 Martínez-Moreno Lillyana, 650  
 Martínez-Silva Pablo A., 679  
 Martínez-Villota Viviana Alexandra, 9  
 Matos Soares Neci, 31  
 Matta-Chuquisapon José, 470  
 McEwen Juan Guillermo, 207, 697  
 Medina Juan David, 136  
 Medina-Valencia Diego, 531  
 Meek Eugenio Aladino, s2-9  
 Mejía Ana María, 278  
 Mejía Juan Armando, 574  
 Melendrez Jesús, 633  
 Mendoza Noelia, 234  
 Mendoza Óscar, 170  
 Mera Carlos, s2-32  
 Mera-Martínez Paulo Francisco, 9  
 Mercado-Reyes Marcela, 541, s2-9  
 Mira-Perceval-Juan Gema, 244  
 Mojica María Isabel, s1-89  
 Molina Gema, 127  
 Montenegro-Coral Franco Andrés, 479  
 Montoya Jorge Hernán, 554  
 Morales Christian David, 440  
 Morales Daniela, s1-8  
 Morales Olga Lucía, 554  
 Moreno Alejandra, 170  
 Moreno-Correa Sandra-Milena, 112  
 Moreno-Gómez Freddy, 112  
 Moreno-Montoya José, 679, s2-73  
 Morillo Andrea, 85  
 Morón-Duarte Lina Sofía, s2-19  
 Moutran-Barroso Habib Georges, s2-78

Muñetón Carlos Mario, s1-154  
 Muñoz Álvaro, 574  
 Muñoz Claudia Marcela, 85

Nascimento de Souza Joelma, 31  
 Navarro Elkin, s2-59  
 Navarro-Rodríguez Angélica I., 679  
 Niño Rafael, 290  
 Niño-Serna Laura Fernanda, 342  
 Noreña-Herrera Camilo, 492  
 Novoa-Palomares Francy, 54

Ocampo Carlos Mauricio, s1-154  
 Ocampo Sandra Jhoana, s1-89  
 Ochoa Bárbara, s1-116  
 Ochoa Rodrigo, 602  
 Olano Víctor Alberto, 414  
 Olaya Natalia, s1-64  
 Olivera Mario Javier, 264  
 Olsen Linda G., 391  
 Ordóñez-Reyes Camila, 574  
 Ordóñez-Zarama Yalila Andrea, 479  
 Orozco-Duque Andrés, 650  
 Ortiz Laura Victoria, 85  
 Osejo Iván, s2-73  
 Osorio Jorge Alberto, 611  
 Osorio Laura Alejandra, 136  
 Ospina Martha Lucía, 541  
 Otero Jorge, 574

Pacheco Leonardo C., s2-59  
 Pacheco Lisandro A., s2-59  
 Padilla-Rodríguez Julio César, 264  
 Palacio Katherine Andrea, s1-154  
 Palacio-Rúa Katherine, 18  
 Pardo Yolanda, 562  
 Paredes Ángela Camila, s1-130  
 Paredes-Panesso María Camila, 479  
 Parra Edgar, s2-9  
 Parra-Henao Gabriel, 213, 550  
 Pascua-Santamaría Ana Elena, 244  
 Paternina Luis Enrique, 633  
 Payares-Mercado Ana, 633  
 Pedraza Gabriel, 170  
 Pedrero Víctor, s1-41  
 Peñaranda Augusto, 435  
 Peñaranda Daniel, 435  
 Pereira Mario, 224  
 Pereira Vieira Barreto Nilo Manoel, 31  
 Pérez Luz Amparo, s2-73  
 Pérez María Rafaela, s1-116  
 Pérez-Giraldo Estefanía, 650  
 Pérez-Herrera Lucía C., 435  
 Pérez-Téllez Cindy, 54  
 Piamo Alberto, s1-17  
 Pineda Diego, 574  
 Pinillos-Medina Ingrid, 54  
 Pino Camilo, s2-73  
 Pinzón Diana, s1-79

Pío de La Hoz Fernando, s2-73  
 Plazas Miguel, 170  
 Policastro Pablo, 562  
 Polo Gina, s2-32  
 Porras Alexandra, 364  
 Porras Gloria Liliana, s1-89  
 Portillo-Miño José Darío, 9  
 Prada Andrés, 541  
 Purkayastha Saptarshi, 602

Quijano-Escate Renatta, 355  
 Quintero Luz Adriana, 290  
 Quintero María-Paula, 112  
 Quintero Mario Andrés, 611  
 Quintero Santiago, 445  
 Quiñónez Martha Lucía, 264

Ramadan Heba S., 67  
 Ramírez Carlos, 574  
 Ramon Daniel S., 391  
 Ramón Juan Fernando, 574  
 Ramos-Rincón José Manuel, 244  
 Rangel Yully Andrea, 429  
 Restrepo Andrés Alirio, 440  
 Restrepo Carlos, 611  
 Restrepo Diego Antonio, 290  
 Restrepo Jorge Alberto, 102  
 Restrepo Rodrigo, s1-8  
 Reyes-Niño Saúl, s2-78  
 Ricaurte Luisa, 574  
 Rico Alejandro, 364  
 Rios Grassi Maria Fernanda, 31  
 Risueño-Blanco José Alirio, 479  
 Rivera Jorge, s2-9  
 Rivero Zulbey, 127  
 Rivero-Rubio Carolina, 679  
 Rodas Juan David, s2-48  
 Rodríguez Jefferson, 170  
 Rodríguez July, 574  
 Rodríguez Sergio Andrés, 492  
 Rodríguez-Orozco Jaime Eduardo, s2-78  
 Rojas Juan David, 224  
 Rojas Leonardo, 574  
 Rojas-Estévez Paola, 541

Roldán-Vasco Sebastián, 650  
 Romero Dayset, s1-17  
 Romo-Bucheli David, 170  
 Rosales Alicia, 541  
 Rosero-Bello David Alejandro, 479  
 Rúa-Giraldo Álvaro, 697  
 Ruano Josué, 170  
 Rueda-Concha Karol Liseth, 633  
 Rueda-Guevara Paola, s1-26  
 Rugeles María Teresa, 329  
 Ruiz Jennifer, s2-73  
 Ruiz-Buitrago Isabel Cristina, 41  
 Ruiz-Moreno Héctor A., 541  
 Ruiz-Patiño Alejandro, 574  
 Ruiz-Rodríguez Myriam, 378

Sáenz Víctor Alexander, 290  
 Salas-Díaz Laura, 54  
 Saldarriaga Franco Juan Fernando, 611  
 Salej-Durán Vanessa, s2-78  
 Sanabria Hernán, 147  
 Sánchez Efraín Guillermo, 218  
 Sánchez Gabriela, 218  
 Sánchez-Martínez Yuri, 378  
 Sanín Ana María, 278  
 Santoyo Nicolás, 574  
 Sarmiento Consuelo, s1-100  
 Sarmiento María Paula, 342  
 Sarmiento Olga L., 378  
 Sevilla-Andrade Carlos, 470  
 Silva Geny Carolina, 290  
 Soares Jacobina Beatriz, 31  
 Solano Juan M., 623  
 Soler-Tovar Diego, s2-32  
 Sotelo Carolina, 574  
 Suárez-Escudero Juan Camilo, 650  
 Suárez-Patiño Laura V., 650

Taborda Natalia, 329  
 Tamayo Marta Lucía, s1-130  
 Toro-Gómez Jaime, s2-78  
 Torres Isaura, 697  
 Torres-Fernández Orlando, s2-9  
 Torres-García Orlando, 54

Torres-Sandoval Juan Sebastián, s2-78  
 Torrico Fátima, s1-116  
 Torrús-Tendero Diego, 244  
 Triana Camilo A., 378  
 Troncoso Julieta, 196

Ulloa Adriana Paola, 159  
 Unigarro María Fernanda, s1-144  
 Uribe-Quintero Roxanna, 41  
 Useche Nicolás, 574  
 Ussa Edwin A., s2-73

Valbuena Luis, 611  
 Valencia Catalina, 278  
 Valencia-Bazalar Esther, 470  
 Valenzuela Diana, 170  
 Valenzuela-Santos Carolina, 170  
 Valladales-Restrepo Luis Fernando, 302  
 Vallejo Gustavo Adolfo, 136  
 Vargas Carlos, 170, 574  
 Vásquez Elsa María, 278  
 Vásquez Lina, 170  
 Vázquez-Escobar Ruby-Amparo, 112  
 Velásquez-Zapata Valeria, 18  
 Vélez Iván D., 602  
 Vélez Jhonatan, 329  
 Vera Mauricio Javier, 213  
 Villamil-Jiménez Luis Carlos, s2-32  
 Villamizar Jorge, 170  
 Villamizar-Rivera Nicolás, s1-64  
 Villegas Ana Claudia, s2-78  
 Viola Luz Marina, 391  
 Vural Ahmet, s1-33

Weslei Almeida Costa Araujo, 31

Yepes Cristina, 329  
 Yomayusa Nancy, s2-19  
 Young Jeremy, s1-79  
 Younis Salwa S., 67

Zabala Daniel, 136  
 Zatarain-Barrón Lucía, 574  
 Zuluaga Nora Alejandra, 342

Biomédica  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD  
Volumen 42, números 1, 2, 3, 4, suplementos 1 y 2

**Índice de artículos**

---

**Editorial**

La salud pública: más allá de la pandemia por COVID-19.....	5
Enfermedad de Chagas, logros y perspectivas en Colombia.....	213
Innovaciones sociales para mejorar la salud.....	422
Reflexiones sobre innovación en salud pública: avances y retos en Colombia.....	550
Herencia de las enfermedades comunes.....	s1-5
Lecciones aprendidas en salud pública frente a la COVID-19: una mirada hacia futuras epidemias y pandemias.....	s2-5

**Imágenes en biomedicina**

Detección inmunohistoquímica de antígenos de SARS-CoV-2 en tejido pulmonary.....	s2-9
--	------

**Reporte de caso**

Accidente cerebrovascular isquémico agudo masivo por veneno de <i>Bothrops</i> spp. en el suroccidente de Colombia: reporte de caso y revisión de la literatura.....	9
Criptococosis diseminada por terapia biológica, se debe gestionar el riesgo.....	218
Reactivación de la enfermedad de Chagas después de trasplante autólogo de progenitores hematopoyéticos. Reporte de caso y revisión de la literature.....	224
Nueva mutación en el gen <i>KMT2B</i> como causa de distonía generalizada de inicio temprano: reporte de caso.....	429
Parálisis facial aislada posterior a infección por virus de chikunguña: un nuevo diagnóstico diferencial.....	435
Vena cava superior izquierda persistente como hallazgo incidental en la introducción de un marcapasos transitorio: informe de un caso.....	440
Síndrome neuroléptico maligno asociado con intoxicación aguda por un organofosforado: reporte de caso.....	445
Síndrome de Adams-Oliver y complicaciones asociadas: reporte de una familia en Colombia y revisión de la literature.....	554
Reacción granulomatosa de tipo sarcoideo secundaria a biopolímeros: reporte de caso y revisión de la literature.....	s1-8
Curación de úlcera venosa crónica de la pierna con aloinjerto de membrana amniocoriónica humana fresca.....	s1-17

**Ensayo**

Teoría de la complejidad en la atención del paciente con dolor musculoesquelético.....	562
Estrategias de fortalecimiento de la seguridad y la soberanía alimentaria en medio de la pandemia de COVID-19 en Colombia.....	s1-26

**Comentario**

Cannabis medicinal: puntos críticos para su uso clínico.....	450
Llamado a la implementación de la Ley 2120 de 2021 contra la comida chatarra en los tiempos del COVID-19 en Colombia.....	s2-14

**Artículo original**

Evaluación de marcadores de genotipificación en la caracterización molecular de una población de aislamientos clínicos de <i>Fusarium</i> en Colombia.....	18
Evaluación de la infestación por <i>Strongyloides stercoralis</i> en pacientes con HTLV-1.....	31
Tendencias en la mortalidad por desnutrición en menores de 5 años y mayores de 60 años.....	41
Análisis comparativo de la actividad antimicrobiana de secreciones y excreciones larvarias de <i>Calliphora vicina</i> y <i>Sarconesiopsis magellanica</i> (Diptera: Calliphoridae).....	54

Niosomas encapsulados en prazicuantel contra <i>Schistosoma mansoni</i> con sensibilidad reducida al prazicuantel.....	67
COVID-19 y salas de análisis del riesgo en salud pública en cuatro departamentos fronterizos de Colombia.....	85
Clima de aprendizaje y enganche al trabajo del residente clínico: relación con la autodeterminación humana.....	102
Caracterización de las lesiones personales en el sistema estomatognático valoradas en el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Regional Suroccidente, entre 2015 y 2020.....	112
Prevalencia de malaria gestacional en Ecuador.....	127
Detección molecular de <i>Toxoplasma gondii</i> en carnes para consumo humano en Ibagué, Colombia.....	136
Evaluación de la efectividad de la prueba rápida OptiMAL-IT™ para el seguimiento de pacientes con diagnóstico de malaria en la Amazonía peruana.....	147
Tuberculosis y hacinamiento carcelario desde la perspectiva de las inequidades sociales en salud en Colombia, 2018.....	159
Representaciones basadas en aprendizaje profundo como apoyo del diagnóstico de la COVID-19 en cortes de tomografía computarizada..	170
Prevalencia de eventos adversos y sus manifestaciones en profesionales de la salud como segundas víctimas.....	184
Membrana de cáscara de huevo para la curación de heridas superficiales en ratones.....	234
Malaria importada en población pediátrica de Alicante, España (1994-2019).....	244
El propóleo rojo reduce la inflamación en la cistitis hemorrágica inducida por ciclofosfamida en ratas.....	253
La campaña de erradicación de la malaria en Colombia, 1959-1979.....	264
Manifestaciones mucocutáneas y su relación con el recuento de linfocitos T CD4 en pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana hospitalizados en Medellín, Colombia.....	278
Análisis del impacto presupuestal en Colombia de la prueba de HPV con genotipificación comparada con la citología.....	290
Indicación y prescripción de macrólidos en una población colombiana.....	302
Factores que afectan la cobertura del programa de tuberculosis en el primer nivel de atención en Honduras.....	315
Expresión de los componentes del inflammasoma y su relación con los marcadores de riesgo cardiovascular en personas con infección por HIV-1	329
Hipertiroidismo en niños y adolescentes: experiencia en un hospital universitario en Colombia.....	342
Participación femenina en los comités editoriales de revistas médicas en Latinoamérica.....	355
Eficacia de la tafenoquina en la profilaxis y tratamiento de la malaria por <i>Plasmodium vivax</i> , revisión sistemática y metaanálisis.....	364
Prevalencia y factores asociados con la práctica de actividad física en mujeres gestantes adultas en Colombia.....	378
Coloración de Ziehl-Neelsen en el laboratorio de patología: rendimiento y contribución al diagnóstico de micobacterias en el lavado broncoalveolar.....	460
Filogenia y resistencia de cepas de <i>Escherichia coli</i> productoras de betalactamasas de espectro extendido a los antibióticos en pacientes con cáncer hospitalizados en Perú.....	470
Características sociodemográficas y clínicas relacionadas con la condición final de pacientes intoxicados por paraquat en un hospital del suroccidente de Colombia.....	479
Violencia sexual en un municipio de Colombia: características de las víctimas y de sus victimarios, 2011-2020.....	492
Caracterización y factores asociados a la mortalidad debida a enfermedades huérfanas en Chile, 2002-2017.....	508
Importancia pronóstica de las mutaciones del gen promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa en los meningiomas de alto grado	574
Parásitos anisákidos en filetes de pescado congelado destinados a consumo humano.....	591
NTD Health: un sistema de historias clínicas electrónicas para enfermedades tropicales desatendidas.....	602
Validez y reproducibilidad de un método para estimar la capacidad cardiorrespiratoria en adultos universitarios.....	611
Análisis de mutaciones en los genes SOD1 y C9orf72 en pacientes con esclerosis lateral amiotrófica, Antioquia, Colombia.....	623
Circulación de <i>Leishmania infantum</i> y <i>Trypanosoma cruzi</i> en perros domésticos de áreas urbanas de Sincelejo, región Caribe de Colombia	633
Sincronización entre la videodeglución y la electromiografía de superficie en pacientes con afectación neurológica y síntomas de disfagia..	650
Análisis de las interacciones entre los actores de la Red de Gestión del Conocimiento, Investigación e Innovación en Malaria de Colombia	665

Condiciones de salud de los indígenas hitnù potencialmente expuestos a petróleo crudo (Arauca, Colombia).....	679
Perfiles de expresión de los genes <i>ERG11</i> , <i>MDR1</i> y <i>AFR1</i> en <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubii</i> aislados de pacientes con HIV.....	697
Costo-efectividad de la oxigenación con membrana extracorpórea en pacientes con síndrome de dificultad respiratoria aguda en Colombia	707
Valor de la secuencia coronal-T1W agregada al protocolo de imágenes de resonancia magnética en casos de dolor lumbal.....	s1-33
Propiedades psicométricas de la versión en español del <i>Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale</i> (DSAS 2) en población colombiana.....	s1-41
Eficacia de los niveles séricos de S100B, TRAIL y adropina para predecir el resultado clínico, el núcleo del infarto final y los subtipos de ataque cerebrovascular de los pacientes con accidente cerebrovascular isquémico agudo.....	s1-55
Experiencia en el uso de los protocolos Biomed-2 para el estudio de reordenamientos de TCR e inmunoglobulinas en proliferaciones linfoides en el Instituto Nacional de Cancerología, Colombia.....	s1-64
Intervenciones en el ambiente construido y niveles de actividad física: una revisión sistemática.....	s1-79
Caracterización clínica y funcional de pacientes con atrofia muscular espinal en el centro-occidente colombiano.....	s1-89
Sobrepeso y obesidad: factores familiares, dietéticos y de actividad física en escolares de una institución educativa de estrato medio-alto en Cali, Colombia.....	s1-100
Polimorfismos del gen de la apolipoproteína E en adultos mayores de 60 años con disminución de la memoria cognitiva y enfermedad de Alzheimer en diferentes poblaciones venezolanas.....	s1-116
Caracterización fenotípica de la retinitis pigmentaria asociada a sordera.....	s1-130
Desarrollo físico y neuropsicológico de pacientes diagnosticados con hipotiroidismo congénito en el Hospital Universitario San Ignacio entre los años 2001 y 2017.....	s1-144
Caracterización molecular de pacientes con cáncer colorectal.....	s1-154
Eficacia y seguridad de cuatro vacunas COVID-19 para prevenir la infección por SARS-CoV-2: una revisión rápida.....	s2-19
Medidas preventivas centradas en la interfaz urbano-rural protegen a las comunidades rurales productoras de alimentos del SARS-CoV-2	s2-32
Infección natural por SARS-CoV-2 en gatos y perros domésticos de personas con diagnóstico de COVID-19 en el Valle de Aburrá, Antioquia	s2-48
Validación clínica de la prueba RT-LAMP para el diagnóstico rápido del SARS-CoV-2.....	s2-59
<b>Comunicación breve</b>	
Activación de la microglía en el hipocampo asociada con lesión del nervio facial.....	196
Aspectos técnicos y clínicos de la prueba cruzada de histocompatibilidad en el trasplante de órganos sólidos.....	391
Detección de infección por <i>Chlamydia trachomatis</i> en mujeres sexualmente activas en Venezuela.....	522
Impacto de la calidad de vida relacionada a la salud en pacientes pediátricos con trasplante de progenitores hematopoyéticos en una institución colombiana.....	531
Secuencia genómica del virus de la viruela símica de un caso importado en Colombia.....	541
Incidencia de síntomas respiratorios agudos y COVID-19 en niños de escuelas públicas de Bogotá, Colombia, entre julio y noviembre de 2020	s2-73
<b>Revisión de tema</b>	
Controversias en neuroinmunología: esclerosis múltiple, vacunación, SARS-CoV-2 y otros dilemas.....	s2-78
<b>In memoriam</b>	
Ángela Restrepo.....	207
Alberto Morales Alarcón.....	414

**Articles' index**

---

**Editorial**

Public Health: beyond the COVID-19 pandemic.....	5
Chagas' disease: achievements and perspectives in Colombia.....	213
Social innovations for health.....	422
Reflections on public health innovations: Progress and challenges for Colombia.....	550
Inheritance of common diseases.....	s1-5
Lessons learned in public health from COVID-19: A look towards future epidemics and pandemics.....	s2-5

**Images in biomedicine**

Immunohistochemical detection of pandemic SARSCoV-2 antigens in lung tissue.....	s2-9
--	------

**Case report**

Massive acute ischemic stroke after <i>Bothrops</i> spp. envenomation in southwestern Colombia: Case report and literature review.....	9
Disseminated cryptococcosis by biological therapy: We must manage the risk.....	218
Chagas disease reactivation after autologous stem cell transplant. Case report and literature review.....	224
Early-onset generalized dystonia caused by a new mutation in the <i>KMT2B</i> gene: Case report.....	429
Isolated facial palsy after Chikungunya infection: A novel differential diagnosis.....	435
Persistent left superior vena cava as an incidental finding in the introduction of a transient pacemaker: A case report.....	440
Neuroleptic malignant syndrome associated with acute organophosphate poisoning: Case report.....	445
Adams-Oliver syndrome and associated complications: Report of a family in Colombia and review of the literature.....	554
Biopolymer sarcoid-like foreign-body granulomas: Case report and literature review.....	s1-8
Healing of a chronic ulcer of the lower limb of venous origin with fresh human amniochorionic membrane allograft.....	s1-17

**Essay**

Complexity theory in the management of patients with musculoskeletal pain.....	562
Strengthening strategies of food security and food sovereignty in the context of the COVID-19 emergency in Colombia.....	s1-26

**Comentario**

Medical cannabis: Critical points for clinical application.....	450
A call for implementation of the Law 2120 against junk food during pandemic times in Colombia.....	s2-14

**Original article**

Assessment of genotyping markers in the molecular characterization of a population of clinical isolates of <i>Fusarium</i> in Colombia.....	18
Evaluation of <i>Strongyloides stercoralis</i> infection in patients with HTLV-1.....	31
Trends in undernutrition mortality among children under five years of age and adults over 60.....	41
A comparative analysis of <i>Calliphora vicina</i> and <i>Sarconesiopsis magellanica</i> (Diptera: Calliphoridae) larval secretions and excretions antimicrobial activity.....	54
Praziquantel-encapsulated niosomes against <i>Schistosoma mansoni</i> with reduced sensitivity to praziquantel.....	67

COVID-19 and risk assessment room for public health in four Colombian crossborder territories.....	85
Learning climate and work engagement in clinical residents: The relationship with human self-determination.....	102
Characterization of personal injuries in the stomatognathic system assessed at the <i>Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses-Regional Suroccidente</i> , between 2015 and 2020.....	112
Prevalence of gestational malaria in Ecuador.....	127
Molecular detection of <i>Toxoplasma gondii</i> in meat for human consumption in Ibagu�e, Colombia.....	136
Evaluation of the effectiveness of the OptiMAL-IT™ rapid test in the follow up of patients diagnosed with malaria in the Peruvian Amazon....	147
Tuberculosis and prison overcrowding from the perspective of social inequities in health in Colombia, 2018.....	159
Deep learning representations to support COVID-19 diagnosis on CT slices.....	170
Prevalence of adverse events and their manifestations in health professionals as second victims.....	184
Eggshell membrane treatment for the healing of superficial open wounds in mice.....	234
Imported malaria in children in Alicante, Spain (1994-2019).....	244
Red propolis reduces inflammation in cyclophosphamide-induced hemorrhagic cystitis in rats.....	253
The malaria eradication campaign in Colombia, 1959-1979.....	264
Mucocutaneous manifestations and their relationship with CD4 T-lymphocyte count in hospitalized patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV) in Medellín, Colombia.....	278
Budget impact analysis of primary screening with the HPV test and genotyping against conventional cytology in Colombia.....	290
Study of the indications for macrolide prescriptions in a Colombian population.....	302
Factors affecting the tuberculosis program coverage at the first level of care in Honduras.....	315
Expression of the inflammasome components and its relationship with cardiovascular risk markers in people living with HIV-1.....	329
Hyperthyroidism in children and adolescents: Experience in a university hospital in Colombia.....	342
Female participation in the editorial committees of medical journals in Latin America.....	355
Efficacy of tafenoquine in the prophylaxis and treatment of malaria by <i>Plasmodium vivax</i> , systematic review and meta-analysis.....	364
Prevalence of the practice of physical activity and its associated factors in adult Colombian pregnant women.....	378
Ziehl-Neelsen stain in the pathology laboratory: Performance and diagnostic aid for mycobacteria in bronchoalveolar lavage.....	460
Phylogeny and antimicrobial resistance of extended-spectrum beta-lactamaseproducing <i>Escherichia coli</i> from hospitalized oncology patients in Perú.....	470
Sociodemographic and clinical characteristics related to the final condition of patients intoxicated by paraquat in a hospital in southwestern Colombia.....	479
Sexual violence in a Colombian municipality: Victims' and offenders' characteristics, 2011-2020.....	492
Characteristics and factors associated with mortality due to rare diseases in Chile, 2002-2017.....	508
Prognostic significance of telomerase reverse transcriptase promoter mutations in high grade meningiomas.....	574
Anisakidae parasites in frozen fish fillets intended for human consumption.....	591
NTD Health: An electronic medical record system for neglected tropical diseases.....	602
Validity and reproducibility of a method to estimate cardiorespiratory fitness in college adults.....	611
Analysis of <i>SOD1</i> and <i>C9orf72</i> mutations in patients with amyotrophic lateral sclerosis in Antioquia, Colombia.....	623
Silent circulation of <i>Leishmania infantum</i> and <i>Trypanosoma cruzi</i> among urban dogs from Sincelejo city, Caribbean region of Colombia.....	633
Synchronization between videofluoroscopic swallowing study and surface electromyography in patients with neurological involvement presenting symptoms of dysphagia.....	650
Analysis of interactions between actors of the <i>Red de gestión del Conocimiento e Innovación en Malaria de Colombia</i> .....	665
Health conditions of Hitn� indigenous people potentially exposed to crude oil in Arauca, Colombia.....	679
Gene expression profiles of <i>ERG11</i> , <i>MDR1</i> y <i>AFR1</i> in <i>Cryptococcus neoformans</i> var. <i>grubbi</i> isolated from HIV patients.....	697

Cost-effectiveness of extracorporeal membrane oxygenation in patients with acute respiratory distress syndrome in Colombia.....	707
Added value of coronal-T1W sequence to the lumbar MR imaging protocol for low back pain.....	s1-33
Psychometric properties of the Spanish version of the Type 2 Diabetes Stigma Assessment Scale (DSAS 2) in a Colombian population.....	s1-41
The effectiveness of serum S100B, TRAIL, and adropin levels in predicting clinical outcome, final infarct core, and stroke subtypes of acute ischemic stroke patients.....	s1-55
Experience with the BIOMED-2 standardized polymerase chain reaction protocol for immunoglobulin and T- cell receptor clonality analysis in the <i>Instituto Nacional de Cancerología, Colombia</i> .....	s1-64
Built environment interventions and physical activity levels: A systematic review.....	s1-79
Clinical-functional characterization of patients with spinal muscular atrophy in Central-Western Colombia.....	s1-89
Overweight and obesity: Family factors, diet, and physical activity in school children from middle to high socioeconomic level in Cali, Colombia	s1-100
Apolipoprotein E polymorphisms in adults over 60 years of age with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease in different Venezuelan populations.....	s1-116
Phenotypic characterization of retinitis pigmentosa associated with deafness.....	s1-130
Neuropsychological and physical development of patients diagnosed with congenital hypothyroidism at the San Ignacio University Hospital between 2001 and 2017.....	s1-144
Molecular characterization of colorectal cancer patients.....	s1-154
Efficacy and safety of four COVID-19 vaccines in preventing SARS-CoV-2 infection: A rapid review.....	s2-19
Preventive measures focused on the urban-rural interface protect rural food-producing communities from SARS-CoV-2.....	s2-32
Natural SARS-CoV- 2 infection in domestic cats and dogs of humans diagnosed with COVID-19 in Valle de Aburrá, Antioquia.....	s2-48
Clinical validation of the isothermal RT-LAMP test for rapid diagnosis of SARS-CoV-2.....	s2-59
<b>Comunicación breve</b>	
Facial nerve injury-associated hippocampal microglial activation.....	196
Technical and clinical aspects of the histocompatibility crossmatch assay in solid organ transplantation.....	391
Detection of <i>Chlamydia trachomatis</i> infection in sexually active women in Venezuela.....	522
Impact of health-related quality of life on pediatric patients who underwent hematopoietic stem cell transplantation in a Colombian institution	531
Monkeypox virus genome sequence from an imported human case in Colombia.....	541
Incidence of acute respiratory symptoms and COVID-19 infection in children in public schools in Bogotá, Colombia, from July to November, 2020	s2-73
<b>Topic review</b>	
Controversies in neuroimmunology: multiple sclerosis, vaccination, SARS-CoV-2 and other dilemas.....	s2-78
<b>In memoriam</b>	
Ángela Restrepo.....	207
Alberto Morales Alarcón.....	414