

Búsqueda de cinco agentes etiológicos de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó 2018

Estudiante de Maestría

Náyade Córdoba Rentería *Bact*,

Tutora

Miryan Margot Sánchez Jiménez *Bact, MsC, DrSci.*

Berta Restrepo Jaramillo. MD, MsC, PhD. Asesora

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de
Magister en Medicina Tropical

Facultad de Medicina

División de Salud Pública

Maestría en Medicina Tropical

Universidad CES- Instituto Colombiano de Medicina Tropical

Medellín

2019

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rosa Elena Mosquera y al personal médico del Hospital de Lloró por su atención y permitir la realización de este estudio en sus instalaciones.

A los participantes en el estudio y sus acudientes por su paciencia y colaboración para la ejecución de este trabajo.

A la Dra. Miryan Margot Sánchez Jiménez por ser mi tutora y mi guía en este proceso, es un ejemplo a seguir.

A la Dra. Bertha Nelly Restrepo por sus conocimientos impartidos y su disposición en las asesorías

Al personal del ICMT-CES por su ayuda en este proceso

A la dirección de investigaciones de la Universidad CES por la financiación de este proyecto en la convocatoria de mediana cuantía semestre 2/2017.

Al programa de Formación de alto nivel-Chocó de la Gobernación del Chocó, la Universidad Tecnológica del Chocó “Diego Luis Córdoba” y COLCIENCIAS por la oportunidad que me brindaron al concederme el crédito educativo condonable para realizar mis estudios de maestría.

A la Universidad CES por ser el vehículo para alcanzar mis metas.

DEDICATORIA

A mi madre Luzmila Rentería Ramírez por ser mi gran apoyo y mi aliciente cuando emprendí este desafío, a mi hijo Thiago por soportar mi ausencia en estos dos años dándome la fuerza para seguir adelante y a cada una de las personas que aportaron su granito de arena para poder alcanzar mis sueños y lograr esta meta.

In memoriam Dra. Alicia Ríos Hurtado quien desde COLCIENCIAS se preocupó porque sus paisanos pudiéramos tener las mismas oportunidades que ella tuvo.

Tabla de contenido

Lista de tablas.....	6
Resumen.....	7
1. Formulación del problema de investigación.....	9
1.1 Planteamiento del problema.....	9
1.2 Justificación.....	14
1.3 Pregunta de investigación.....	16
2. Marco teórico.....	17
2.1 Malaria.....	17
2.2 <i>Leptospira</i>	25
2.3 <i>Salmonella</i>	29
2.4 <i>Brucella</i>	33
2.5 <i>Rickettsia</i>	35
2.6 Dengue.....	38
2.7 Pruebas de diagnóstico molecular.....	42
2.8 INMUNOTROPIC®.....	43
3. Objetivos.....	45
3.1 Objetivo general.....	45
3.2 Objetivos específicos.....	45
4. Metodología.....	46
4.1 Tipo de enfoque.....	46
4.2 Tipo de estudio.....	46
4.3 Área de estudio.....	46
4.6 Conservación, transporte y envío de muestras.....	51
4.7 Técnicas y recolección de la información.....	51
4.8 Plan de análisis.....	52
4.9 Consideraciones éticas.....	52
5.0 Técnicas y procedimiento del laboratorio.....	54
5.1 Gota Gruesa:.....	54
5.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para <i>Leptospira Salmonella, Brucella, y Rickettsia</i> sp. 55	
5.3 Prueba rápida de <i>Leptospira</i>	57
5.4 Inmunoblot para <i>Leptospira sp. y Salmonella spp.</i>	58

5.5 Prueba de Rosa de Bengala	60
5.6 Prueba rápida de dengue.....	60
6. Resultados	62
6.1 Características sociodemográficas de los pacientes con síndrome febril	62
6.2 Frecuencia de malaria de acuerdo a características sociodemográficas, especie de parásitos y aspectos clínicos	64
6.3 Pruebas moleculares para <i>Leptospira</i> sp, <i>Salmonella</i> sp, <i>Brucella</i> sp y <i>Rickettsia</i> sp.....	66
6.4 Frecuencia de leptospirosis por prueba rápida e INMUNOTROPIC®	66
6.5 Frecuencia de salmonelosis por prueba INMUNOTROPIC®	67
6.6 Frecuencia de brucelosis por Rosa de Bengala	67
6.7 Frecuencia de dengue por prueba rápida.	67
6.8 Identificación de co-infecciones por estos agentes etiológicos	70
7. Discusión.....	71
8. Conclusiones y recomendaciones	77
9. Limitaciones del estudio.....	79
10. Anexos	80
Anexo 1. Encuesta.....	80
Anexo 2. Consentimiento informado	83
Anexo 3. Asentimiento informado	90

Lista de tablas

Tabla 1 Dengue en las Américas	40
Tabla 2 Cuadro de operacionalización de variables.	49
Tabla 3 Cebadores utilizados para las pruebas de PCR	56
Tabla 4 Componentes del estuche INMUNOTROPIC®	58
Tabla 5 Características sociodemográficas del total de los pacientes con síndrome febril y de los casos de malaria y de dengue. Lloró, Chocó, 2018.....	63
Tabla 6	65
Tabla 7. Características sociodemográficas de los pacientes con síndrome febril, según presencia de anti IgG contra Salmonella spp y dengue Lloró, Quibdó, 2018.....	69

Resumen

Plasmodium, Dengue, *Salmonella*, *Leptospira*, *Brucella* y *Rickettsia* son agentes asociados frecuentemente como causantes de síndrome febril. En Colombia para el año 2018 el INS notificó 61.339 casos de malaria, en este mismo año el INS reportó 16.455 casos de malaria no complicada (27,3 % de los casos registrados en el país) Para Lloró: el INS reportó IPA de 112,1 x 1000 hab. En Colombia INS en el año 2018 se reportó 44825 casos de dengue y para el Chocó 87 casos, para el municipio de Lloró no se registran ccasos. De otro lado, las zoonosis en el mundo representan un gran problema de importancia en salud pública, por su magnitud y su impacto a nivel mundial, en Colombia en el municipio de Lloró no se conocen la frecuencia de enfermedades zoonóticas causadas por estos agentes. La situación de agentes etiológicos de síndrome febril de los pacientes de Lloró- Chocó no se ha descrito para otros agentes diferentes a *Plasmodium* y *Salmonella*. Por lo anterior el objetivo del presente trabajo fue determinar la frecuencia de cinco agentes etiológicos de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó 2018 para lo cual se realizó un estudio descriptivo, de corte, prospectivo; el área de estudio fue el municipio de Lloró – Chocó, las muestras fueron tomadas a 120 pacientes, que cumplían los criterios de inclusión. Se realizó diagnóstico directo, serológico o molecular para los agentes de interés. Se realizaron las siguientes pruebas de laboratorio: gota gruesa para el diagnóstico de malaria, PCR para *Salmonella sp.*, *Brucella sp.* y *Leptospira sp* e inmunoblot para *Salmonella* y *Leptospira*. Se realizaron también pruebas rápidas comerciales para *Leptospira sp.* y Dengue y prueba de Rosa de Bengala para *Brucella sp.* Se diligenció un formulario con las variables sociodemográficas de los pacientes como edad, sexo, etnia, procedencia. Se encontraron un 10,0% de los pacientes positivos para Malaria (Presencia trofozoítos). La prueba rápida para *Leptospira sp.* fue negativa en el 100% de los pacientes, igual resultado se encontró para anticuerpos para *Brucella abortus* por Rosa de Bengala. En cuanto a las pruebas moleculares, el

100% de los pacientes fueron negativos por PCR para *Salmonella*, *Leptospira*, *Rickettsia* y *Brucella*. Para dengue, 19 pacientes (15,8%) fueron positivos para IgM, y 68 (56,7%) positivos para IgG. No se identificaron co infecciones para los agentes estudiados. Conclusión: se evidenció presencia de *Plasmodium*, se reportó circulación de Dengue y de anticuerpos IgG de *Salmonella sp.*

Palabras claves: síndrome febril, Malaria, Dengue, *Salmonella*, *Leptospira*, *Brucella* y *Rickettsia*

1. Formulación del problema de investigación

1.1 Planteamiento del problema

El síndrome febril agudo (SFA) se define como el estado mórbido con inicio repentino de fiebre, en los cuales no se hayan identificado signos ni síntomas relacionados con un foco infeccioso aparente. ¹

Son varias las infecciones que pueden producir síndrome febril en una región determinada y en ocasiones pueden existir coinfecciones de varios de estos agentes. En Colombia la principal infección reconocida como causante de síndrome febril es el paludismo, o malaria, esta es una enfermedad que puede ser mortal, causada por especies del género *Plasmodium spp*, el cual es transmitido por la picadura de mosquitos hembra del género *Anopheles*. Las especies de *Plasmodium* que afectan al humano son *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. Vivax*, *P. knowlesi*², siendo *P.falciparum* y *P.vivax* las dos especies que causan un mayor número de casos clínicos anuales a nivel mundial, de estos cerca del 80% son causados por *P. falciparum* y se presentan principalmente en los países africanos al sur del desierto del Sahara.³ En cuanto a los síntomas de la enfermedad, estos pueden incluir fiebre, cefalea, escalofríos, sudoración y puede presentar complicaciones renales y cerebrales. ⁴El paludismo es una enfermedad prevalente en 97 regiones tropicales y subtropicales del mundo, cerca de la mitad de la población mundial está expuesta al paludismo. En 2017 hubo unos 219 millones de casos de la enfermedad, en este mismo año se registraron 435.000 muertes, según Organización Mundial de la Salud (O.M.S). ²

A pesar que la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha intensificado los programas de promoción y prevención a nivel mundial, en 2016 se presentó un aumento de los casos y de las muertes con predominio en Colombia, en Ecuador y en la República Bolivariana de Venezuela con 125.158 casos de malaria (72,3%), en contraste con países como Argentina, República

Dominicana, El Salvador, México, Panamá, y Paraguay en dónde se registraron reducciones de más del 64%.⁴

En Colombia, según el Instituto Nacional de Salud (INS) hasta la semana 48 de 2018, se notificaron al SIVIGILA 61.339 casos de malaria de los cuales 55.873 fueron malaria no complicada y 881 casos de malaria complicada. El 87.1% de malaria no complicada se reportó en 8 departamentos (Chocó, Nariño, Córdoba, Antioquia, Guainía, Amazonas, Bolívar y Cauca), de estos el 27,3% de los casos se registraron en el Chocó. *falci-parum* 8,727 casos, *P. vivax* 5,785 casos y 639 casos de infección mixta.⁵ Según el informe de evento de malaria en el Chocó entre las semanas 1 a la 48 de 2018, se reportó en el municipio de Lloró un IPA de 112,1 x 1000 hab casos de malaria, con una población en riesgo de 11.461 personas.⁶

Otras infecciones que se pueden manifestar con síndrome febril agudo son las producidas por agentes de origen zoonótico. Las zoonosis se han convertido en infecciones re emergentes en los últimos años debido a factores como la globalización, al constante intercambio de productos de origen animal y al transporte de personas y animales lo cual implica que los sectores de salud pública emprendan acciones para prevenirlas, tratarlas y controlarlas.⁷

Algunas zoonosis reportadas en Colombia son la leptospirosis, la brucelosis y la Rickettsiosis. En el caso específico de la leptospirosis, esta es una infección de alta incidencia en regiones tropicales debido a factores ambientales, climáticos y sociales que favorecen la transmisión. El agente etiológico es *Leptospira spp*, una bacteria que puede infectar a la mayoría de especies de mamíferos a través del contacto directo o indirecto con agua o suelo contaminado con orina de animales infectados.⁸

En los seres humanos la infección ocurre en forma esporádica o en brotes epidémicos. Cuando causa enfermedad, se presenta como un síndrome febril agudo con manifestaciones clínicas

variadas. Para llegar a su diagnóstico definitivo se requiere tener en cuenta los antecedentes epidemiológicos, la presencia de anticuerpos y en algunos casos, el aislamiento del microorganismo.⁹

La leptospirosis es una enfermedad endémica que tiene presencia en países donde se presentan climas tropicales y subtropicales y que se presenta frecuentemente después de fuertes lluvias e inundaciones, reportándose mundialmente hasta 500,000 casos anuales. Se han reportado casos en países de América como Nicaragua, Guayana y Brasil.¹⁰

La falta de una buena red de saneamiento básico y el no tener una buena disposición final de basura y aguas residuales, son condiciones favorables para la transmisión de esta enfermedad asociadas a su diseminación por roedores. En estudios realizados en varios países de América se evidencia el predominio de *Rattus norvegicus* como reservorio que permite la transmisión de la leptospirosis urbana, la cual presenta registros de seroprevalencia de 45,8 % para la ciudad de Buenos Aires, 77,4 % para la ciudad de Detroit, 36,1 % para Rio de Janeiro y 27 % para Barbados.¹¹

En Colombia, la enfermedad es considerada como un evento de notificación obligatoria e individual al sistema nacional de vigilancia (SIVIGILA) desde el año 2007 y ha cobrado mayor interés para las autoridades sanitarias especialmente por el incremento de casos relacionados con las temporadas de lluvia e inundaciones ocurridas en el país durante los últimos años.¹²

Según datos de SIVIGILA en la semana 51 del año 2017 se reportaron en el departamento del Chocó 49 casos de leptospirosis¹³ y en el año 2018 en la semana 52 este departamento reportó 75 casos¹⁴.

Otra de las zoonosis que puede causar síndrome febril en algunas regiones dependiendo de la interacción con ciertos animales y alimentos es la brucelosis que es producida por distintas especies del género *Brucella spp*, esta bacteria puede infectar ganado vacuno y animales domésticos (perros,

cerdos). Esta bacteria puede infectar a los humanos si consumen leche o queso que no tengan un adecuado control de calidad o si se tiene contacto con la placenta o carne de animales infectados.

15.

Debido a que la brucelosis no es una enfermedad de notificación obligatoria en humanos y que en muchos lugares no se realiza un buen diagnóstico, su prevalencia a nivel global se desconoce. Se estima que en países como México, América Central, Arabia e India afecta a alrededor de 500.000 personas al año. La brucelosis se asocia a personas que realizan trabajos rurales que por lo general son desarrollados por hombre entre 30 y 40 años, por esto se cree que son diagnosticados con más frecuencia que las mujeres, se asocia también a personas que tengan contacto con frigoríficos, profesionales en veterinaria y laboratoristas.¹⁶

En la investigación realizada por Lucero et al, cuyo objetivo fue identificar cual era la especie de *Brucella* que se aislaba con mayor frecuencia en humanos y animales en Latinoamérica, se concluyó que el 50% se aisló en humanos en países como Argentina, México, Perú y la especie que se encontró fue *B. suis*.¹⁷, Calderón et al., estiman que en el caribe colombiano la prevalencia de brucelosis es de 2-4%¹⁸. No hay registros de casos confirmados de brucelosis en el municipio de Lloró - Chocó.¹³

Otra zoonosis de reciente interés en nuestro país es la rickettsiosis, que es una de las zoonosis más importantes debido a la multiplicidad de especies que la pueden producir y por lo tanto la gran variedad de patologías relacionadas a las mismas. Las bacterias de este género pueden ser patógenas para hospederos vertebrados e invertebrados, varias de estas especies han sido la causa de numerosas epidemias en todo el mundo. Es desconocida la situación epidemiológica en el departamento del Chocó donde no se ha reportado casos positivos de rickettsiosis hasta el momento.¹³

En cuanto a las enfermedades transmitidas por alimentos el principal agente etiológico es *Salmonella*, uno de los factores importantes que influyen en estas intoxicaciones o en la prevalencia de la enfermedad es el factor socioeconómico y factores nutricionales que en países de Asia, África y Latinoamérica juegan un papel importante influyendo directamente en aumentar la probabilidad de muerte (50%) por enfermedad diarreica en niños menores de 7 años y en Colombia son consideradas estas infecciones agudas del tracto intestinal, como una de las más frecuentes.¹⁹

La infección en humanos causada por serotipos de *Salmonella* se puede dividir en términos generales en tres cuadros clínicos principales: infecciones intestinales, fiebres entéricas e infecciones sistémicas. Las infecciones intestinales o también llamadas salmonelosis comprenden un conjunto de cuadros clínicos cuya principal manifestación es la gastroenteritis aguda acompañada en ocasiones por fiebre. Se estima que el 75% de los casos que se presentan por salmonelosis son adquiridos a partir de carne de pollo y huevos y, puede ser producida por más de 2000 serotipos siendo los más frecuentemente implicados *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*²⁰ y son considerados un problema de salud pública a nivel mundial.²¹. Se estima que la salmonelosis provoca más de cien mil defunciones, no obstante, solo el 1% de los informes reciben atención por parte de las autoridades de salud pública²⁰.

En el caso de las fiebres entéricas, estas pueden ser producidas por *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *B* o *C*, siendo la más común la fiebre tifoidea producida por *S. Typhi* que produce fiebre y malestar general. La dificultad con la fiebre tifoidea es que se presenta en zonas endémicas como el Urabá antioqueño y el departamento del Chocó debido a la presencia de reservorios humanos que una vez han sufrido la enfermedad pueden excretar la bacteria en materia fecal sin que presenten síntomas, convirtiéndose en portadores asintomáticos y manteniendo así la circulación del agente en el área geográfica donde habitan pues sus heces pueden contaminar fuentes de agua que pueden ser usadas

para el consumo por otras personas. Por último, la sistémica que se caracteriza asociada a lesiones focales debida frecuentemente a *S. Choleraesuis* y que afecta principalmente a personas inmunosuprimidas.¹⁹

En el Chocó no se han reportado casos por *Salmonella Typhi* en el año 2019.²² El dengue es una enfermedad viral, cuyo principal vector es el mosquito *Aedes aegypti*, a nivel mundial se considera como una de las arbovirosis con mayor morbimortalidad. Esta enfermedad presenta sintomatología parecida con leptospirosis, en algunos estudios se han reportado confecciones entre ellas.²³ Es una enfermedad que se reporta en países o regiones tropicales o subtropicales, la población con mayor factor de riesgos son las que han urbanizado algunas zonas sin planificación y este es un mosquito de zonas urbanas y semiurbanas; según estudios de la OMS, se reporta 390 millones de enfermos por dengue cada año.²⁴

En Colombia el instituto nacional de salud, notifico en el sexto periodo epidemiológico en el año 2018 44825 casos de dengue²⁵, en la semana 52 de este mismo año se reportaron 87 casos de dengue en el Departamento del Chocó²⁶. En el municipio de Lloró no se reportaron casos de dengue

Al conocer todos los datos que se registran en el departamento del Chocó sobre síndromes febriles, se observa que a pesar de que Lloró presenta factores de riesgo (clima, inundaciones, selva), no se registra una alta prevalencia de algunas enfermedades que podrían estar circulando en el municipio, por lo tanto se evidencia que una de las causas pueden ser no contar con métodos diagnósticos adecuados; por esto la importancia de realizar la investigación en este municipio la cual le aportaría resultados de calidad sobre la presencia o no de estos agentes etiológicos, lo cual generaría el conocimiento necesario para que este municipio se vea en la necesidad de disponer de pruebas diagnósticas de sensibilidad y especificidad validadas y orientadas al manejo clínico y así mejorar su vigilancia epidemiológica.

1.2 Justificación

Colombia por su ubicación y sus características climáticas tiene variedad de pisos térmicos cuyas temperaturas oscilan entre 30°C en las costas y llanuras hasta temperaturas bajo 0°C en los picos de las montañas de la Cordillera de los Andes. Gracias a este mosaico climático Colombia es endémico para diferentes enfermedades febriles e infecciosas, por ejemplo malaria para la cual si se dispone de los elementos necesarios y un personal capacitado para que su diagnóstico pueda ser oportuno y rápido, pero no ocurre igual con otros agentes etiológicos que provocan síndrome febril no palúdico como leptospirosis, salmonelosis, brucelosis, rickettsiosis, dengue entre otros, que en algunos casos se diagnostican mal o simplemente no se sospecha de ellos. ²⁷ Además, en el caso de las co infecciones es difícil su diagnóstico, pues una vez un paciente resulta positivo para malaria no se sospecha si el síndrome febril que continua pueda deberse a la presencia de otro agente porque no se cuenta con los métodos diagnósticos para detectar esto agentes con las graves consecuencias que esto puede acarrear para el paciente.

El departamento del Chocó se encuentra ubicado en la selva húmeda tropical colombiana, es una región que por sus condiciones de ubicación y características ambientales, permite la presencia de diferentes agentes infecciosos relacionados con síndrome febril como se describió anteriormente. Las enfermedades producidas por estos microorganismos producen una alta carga de morbilidad y mortalidad tanto de niños como de adultos quienes no son diagnosticados adecuadamente y no pueden recibir tratamiento oportuno. Para la semana 52 de 2018 en el departamento del Chocó se reportaron 61.339 casos de malaria, 75 casos por *Leptospira*, por brucelosis y fiebre tifoidea no se reportaron casos ^{28, 29}.

Precisamente debido a las dificultades de diagnóstico, el ICMT-CES en casi 30 años de trabajo se ha enfocado en el desarrollo de pruebas diagnósticas usando técnicas serológicas y moleculares que permitan detectar en forma sensible y específica las infecciones causadas por los agentes

anteriormente mencionados. Es así como en este estudio se utilizaron los diferentes métodos diagnósticos disponibles en el ICMT-CES para la detección de la infección por los agentes de interés como pruebas serológicas y pruebas moleculares.

Debido a lo anteriormente expuesto como las cifras de enfermedades a causa de síndromes febriles, a las manifestaciones clínicas, a la muerte a causa de la malaria complicada en algunos municipios del Chocó, a las condiciones sanitarias, ambientales, al consumo de queso crudo o sin pasteurizar, a que el departamento del Chocó y en este caso puntual el municipio de Lloró no posee acueducto ni alcantarillado, sumado a que permanecen en inundaciones constante, a su altos niveles de precipitación y a la amplia red hidrográfica, a que puede existir un alto grado de sub-registros en cuanto al reporte de enfermedades, además no se han realizado trabajos de investigación para la identificación de estos agentes etiológicos, en este municipio los casos no identificados en el centro de salud se quedan así, los pacientes se auto medican y/o los que tienen una mayor gravedad o compromiso de su salud son remitidos a Quibdó capital del departamento del Chocó , por lo tanto no se conocen registros reales del comportamientos de estas enfermedades en Lloró, fue importante realizar esta investigación lo cual permitió identificar algunos de los agentes causales del síndrome febril que se presentan en el municipio de Lloró y quedaban sin diagnóstico por no contar con pruebas para cada caso y de igual forma sin tratamiento, esta investigación contribuyo a la identificación de agentes distinto a malaria, a mejorar la vigilancia epidemiológica y a disminuir la morbimortalidad por estas enfermedades.

1.3 Pregunta de investigación

¿Cuál es la frecuencia de *Plasmodium sp.*, *Leptospira sp.*, *Brucella sp.* *Salmonella sp.*, *Rickettsia sp* y virus Dengue como agentes etiológicos de síndrome febril en pacientes de Lloró –Chocó?

2. Marco teórico

2.1 Malaria

2.1.1 Definición

La malaria, es una enfermedad potencialmente mortal causada por parásitos que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*.³⁰

2.1.2 Agente etiológico

El paludismo es causado por parásitos del género *Plasmodium* que se transmiten al ser humano por la picadura de mosquitos hembra infectados del género *Anopheles*, hay cinco especies de parásitos causantes del paludismo en el ser humano (*P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. vivax*, *P. knowlesi*), dos de ellas son las más peligrosas. *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax*.³¹

En el ciclo del *Plasmodium* existe un agente vector (la hembra de un mosquito de *Anopheles*), donde el *Plasmodium* se reproduce sexualmente y un hospedador vertebrado intermediario (el ser humano u otro animal) en el que se produce la reproducción asexual.

A continuación, se explica detalladamente el ciclo de *Plasmodium*: Etapas exo-eritrocíticas o hepáticas (A en la figura). Tras la picadura del mosquito, éste inyecta el parásito existente en su saliva, en la sangre o en el sistema linfático (paso 1) del huésped (paso 2). En ese momento, *Plasmodium* se encuentra en la fase de su ciclo conocido como esporozoíto. Los esporozoítos pasan al torrente sanguíneo hasta que llegan a los hepatocitos del hígado (2). Allí se multiplican por esquizogénesis (disgregación) formando el esquizonte hepático (3), tras lo cual se rompe el hepatocito, apareciendo un nuevo estadio del *Plasmodium*, el merozoíto (4). Aquí hay un primer

ciclo asexual, en el que los merozoítos pueden o bien re infectar hepatocitos o bien volver al torrente sanguíneo, donde penetran en los eritrocitos.

Etapas eritrocíticas o sanguíneas (B). En los eritrocitos, los merozoítos comienzan a alimentarse de la parte proteica de la hemoglobina contenida en éstos, apareciendo entonces el trofozoíto (5). Nuevamente por esquizogénesis se multiplica en el interior de dichas células, formándose el esquizonte hemático. También se rompe la célula, en este caso el eritrocito, liberando nuevos merozoítos (6). La mayoría de los merozoítos continúan con este ciclo replicativo infectando nuevos eritrocitos, pero algunos se convierten en gametocitos, masculinos (microgametocitos) y femeninos (macrogametocitos) (7).

Etapas en el mosquito: Si el individuo infectado es nuevamente picado por un mosquito, los gametocitos masculinos y femeninos pasan al mosquito (8). En el interior de éste se diferencian en gametos (4-8 microgametos por cada gametocito masculino y una macrogameta por cada gametocito femenino) y al fusionarse ambos gametos, se producen los cigotos (9). Los cigotos, a su vez, se convierten en oocinetos móviles y alargados (10), que invaden la pared intestinal del mosquito, donde se desarrollan en ooquistes (11). Los ooquistes crecen, se rompen y liberan una nueva generación de esporozoítos (12), que hacen su camino a las glándulas salivares del mosquito.

Es en esta fase en la que el *Plasmodium* puede volver a ser inyectado en el huésped. Fig 1. ³²

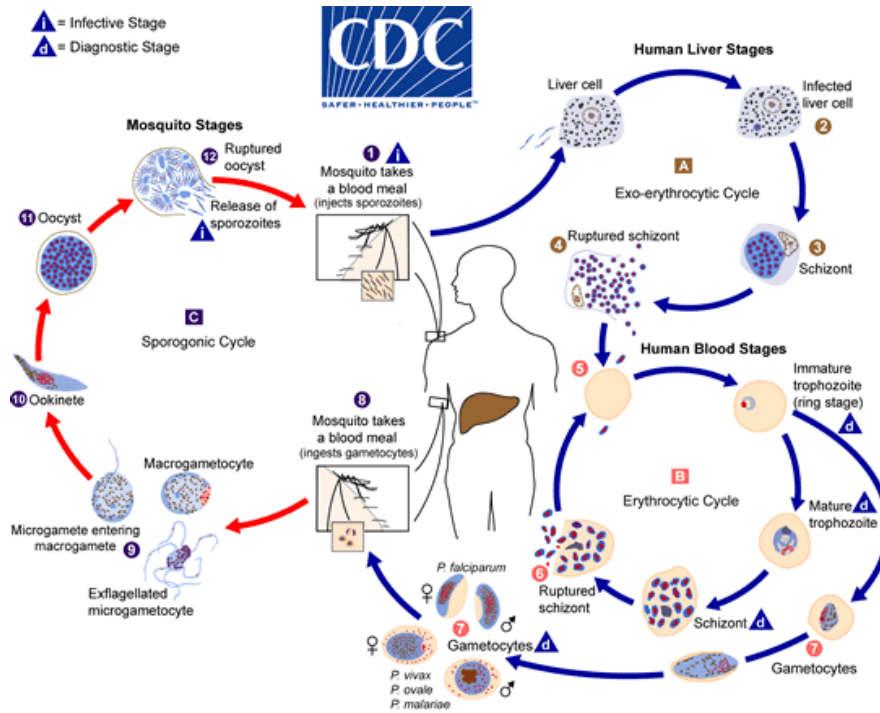


Figura 1. Tomada de Center of Disease Control and Prevention CDC. Ciclo de Vida de *Plasmodium*³¹

2.1.3 Modos de transmisión

En todo el mundo se registran cada año más de 1000 millones de casos y más de 1 millón de defunciones como consecuencia de enfermedades como el paludismo, que son transmitidas por vectores.²⁸

Las condiciones medioambientales, la intervención humana en la naturaleza y los hábitos vitales del mosquito permiten que se den las condiciones de transmisión efectivas del parásito por el vector, un claro ejemplo de esto es que prefieren picar a personas (antropofilia, habita y se alimenta casi siempre en el interior de construcciones, endófila y/o endófagas)³³

Uno de los hábitos de picadura de los mosquitos más característicos es que suelen picar al anochecer y durante las primeras horas de la noche entre las 20:00- 03:00 horas; en cuanto a las condiciones medio ambientales los elementos más influyentes son la temperatura y la humedad .³⁰

La temperatura es determinante de la densidad y la supervivencia del mosquito que influye a su vez sobre el tiempo durante el cual el vector puede transmitir el parásito³⁰

La humedad es el segundo factor en la influencia de la ecología y biología del mosquito. Tanto las sequías extremas (como consecuencia de la concentración de mosquitos en lugares que permanecen aún con agua) como el aumento de las precipitaciones favorecen la aparición de criaderos. Por otro lado, las inundaciones disminuyen o destruyen los criaderos; generalmente, a partir de 3000 metros de altura el mosquito no sobrevive y no se produce transmisión.²⁹

Transmisión por transfusión sanguínea

Otra forma de transmisión del paludismo es por transfusión sanguínea que contengan parásitos, durante al menos 18 días y con una temperatura de almacenamiento de 4⁰ C, las especies de *Plamodium* son estables en plasma y sangre, la forma asexual del parásito pueden ser transmitidas en cualquier componente eritrocitario³⁴

Transmisión congénita de malaria

Esta transmisión se presenta con mayor frecuencia durante el segundo trimestre del embarazo y particularmente en primigestantes, los agentes que se han reportado con mayor susceptibilidad son *P.falciparum* y *P.vivax* , esta infección representa un riesgo de morbimortalidad tanto en la madre como el feto, el riesgo de transmisión disminuye conforme avance el embarazo debido al incremento de anticuerpos adquiridos.³⁵

En zonas endémicas solo se considera malaria congénita la diagnosticada en la primera semana de vida.

2.1.4 Distribución geográfica y epidemiología

Malaria en el mundo.

Cerca de la mitad de la población mundial está expuesta al paludismo. Según la OMS, en el año 2016 se reportaron 216 millones de casos de paludismo en 91 países, esta cifra demuestra el aumento de aproximadamente 5 millones de casos con respecto a 2015, las muertes por paludismo en el 2016 fueron 445 tuvieron cifras parecidas a el 2015 que se reportaron en 446000³⁶ El África subsahariana sigue soportando una parte desproporcionadamente elevada de la carga mundial de paludismo. En la región africana en el año 2016 se reportó un aumento de paludismo, reportando el 90% de los casos y el 91% de fallecimientos con respecto a lo reportados en 2015 ^{32 37}, en el año 2016, el paludismo se consideró endémico en 91 países y territorios, frente a 108 países en el 2000. Se estima que la mayor parte de este cambio se debió a la distribución a gran escala de intervenciones para el control del paludismo. (Fig. 2).

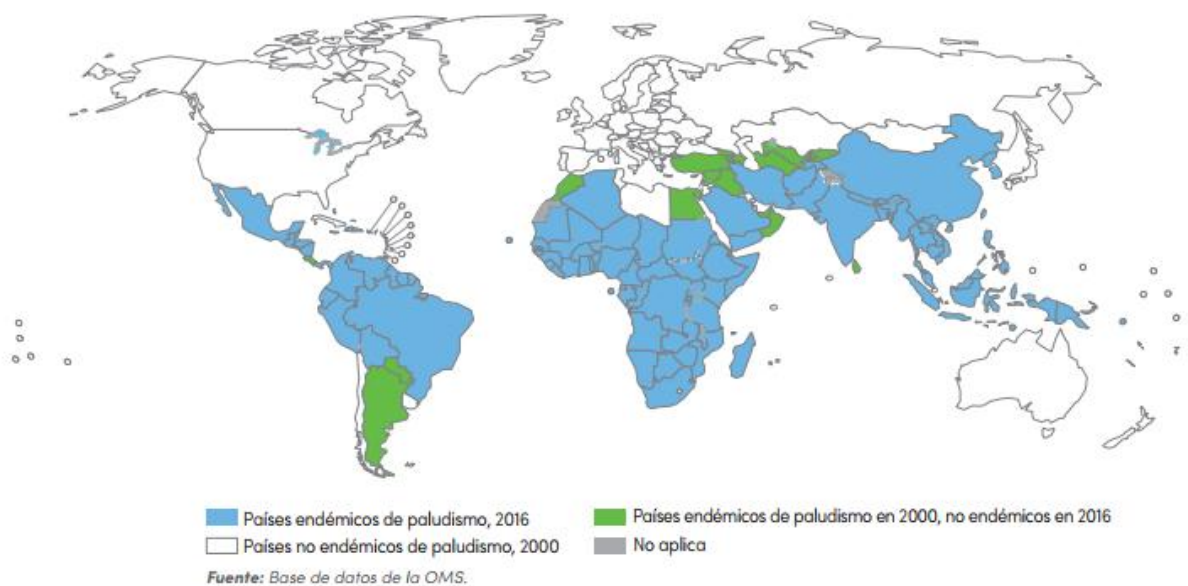


Figura 2. Países endémicos de paludismo 2000 y 2016. Tomado de³²

Malaria en Colombia

Colombia gracias a su ubicación geográfica presenta una diversidad en cuanto a clima y a su geología se refiere, lo cual permite que se presenten áreas o lugares donde la transmisión de malaria se manifieste de manera endémica y epidémica clasificando a estos lugares de alto (Antioquía), mediano (Chocó) y bajo riesgo (región amazónica y atlántica); por esto es considerado un evento de interés en salud pública teniendo en cuenta factores que favorecen la aparición de la enfermedad como son los ambientales, económicos, sociales y geográficos dependiendo de la ubicación del departamento.³⁸

En Colombia el SIVIGILA en la semana epidemiológica 52 de 2018, notificó 61.339 casos de malaria, 60.385 casos de malaria no complicada y 948 casos de malaria complicada, hubo predominio en el país de infección por *P. vivax* con 30.659 casos (50%), seguido por *P. falciparum* con 29.442 casos (48%) y 1.238 casos (12%) corresponden a infección mixta (*P. falciparum* y *P. vivax*). Por procedencia Chocó, Nariño, Córdoba, Antioquia, Guainía, Amazonas, Bolívar y Cauca registraron el 87,2% de los casos de malaria no complicada; Chocó registró el 27,3% de todos los casos³⁹.

Malaria en Chocó

El municipio de Lloró está situado en la zona Occidental del departamento del Chocó parte alta del río Atrato a 12 Km. del Municipio del Atrato, posee una extensión total de 905 Km², los asentamientos de sus pobladores se distribuyen a lo largo de cuatro ríos: Atrato, Andágueda, Capa y Tumutumbudó.⁴⁰

Lloró limita al occidente con el Municipio del Atrato al oriente con el municipio del Carmen del Atrato, al norte con el municipio de Bagadó y al sur con el municipio de Cértegui, posee una extensión total de 905 km², la cabecera municipal está ubicada a una altitud de 65 metros sobre el nivel del mar y presenta una temperatura media de 28°C³⁵.

Este municipio se encuentra catalogado como una de las zonas con mayor precipitación pluviométrica en el territorio colombiano y como una de las regiones más húmedas y lluviosas de la América Tropical y del mundo⁴¹, lo cual permite que se presente una mayor incidencia de enfermedades transmitidas por vectores.

Según datos de la Secretaria de Salud Departamental del Chocó, en el municipio de Lloró en el año 2010 se presentaron 52 casos por la especie *P. falciparum*, 172 *P.vivax* ,18 por malaria mixta, en el año 2011 *P.falciparum* 57, *P.vivax* 106, 1 malaria mixta, en el año 2013 *P.falciparum* 52 , *P.vivax* 4, en el 2014 *P. falciparum*, 20, *P.vivax*, 55. En el 2015 *P.falciparum* 1621, *P.vivax*, 924, 390 malaria mixta, en el 2016 *P.falciparum*1845, *P.vivax* .Fig. 3.1105⁴²

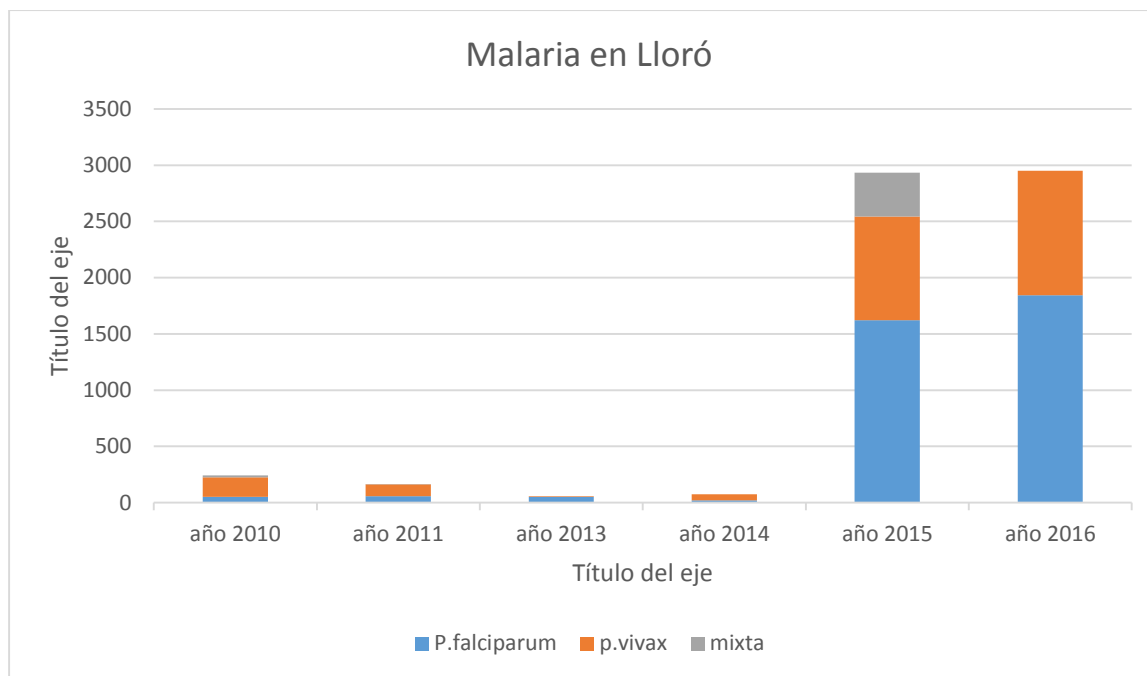


Figura 3. Reporte de malaria en el municipio de Lloró de los años 2010-2016. Datos tomados de SIVIGILA. (Figura elaborada por Náyade Córdoba).

2.1.5 Diagnóstico de malaria

El método recomendado por la OMS para el diagnóstico de malaria es la gota gruesa que es un estudio parasitológico útil para el diagnóstico de parásitos en la sangre, es una prueba sensible por lo cual continua siendo el examen de referencia para el diagnóstico parasitario de malaria, cumple con características técnicas importantes como utilizar poca cantidad de muestra de sangre, es fácil y rápida su ejecución y su bajo costo permite contar con este método diagnóstico en cualquier nivel de atención⁴³.

Extendido de sangre periférica

Se realiza a partir de la punción de un dedo o una gota de un tubo con EDTA, el extendido se realiza en una lámina portaobjetos y a diferencia de la gota gruesa se debe fijar con metanol, la gota utilizada es más pequeña que la que se utiliza en gota gruesa, esta se debe poner en un extremo

de la lámina y con la ayuda de otra lamina se extiende la muestra. La lamina extensora debe ponerse en la parte anterior de la gota y realizar la extensión con una inclinación de 45⁰, antes de que la sangre llegue al borde de la lámina de se debe levantar la mano hacia arriba.⁴⁴

En el extendido de sangre se debe observar formas parasitarias con las características propias de cada especie. asexuados (trofozoítos y esquizontes) y los sexuales (gametocitos).

2.2 *Leptospira*

2.2.1 Definición

La leptospirosis es una enfermedad bacteriana que afecta a humanos y animales, es endémica en regiones tropicales debido a factores climáticos, sociales y ambientales que favorecen la transmisión. Es considerada como una enfermedad re-emergente en zonas templadas.⁴⁵

En los seres humanos la infección se presenta en forma esporádica o en brotes epidémicos. Cuando causa enfermedad se presenta como un síndrome febril agudo con manifestaciones clínicas variadas, para el diagnóstico definitivo de leptospirosis se requiere tener en cuenta los antecedentes epidemiológicos, la presencia de anticuerpos y en algunos casos el aislamiento del microorganismo.³⁶

2.2.2 Agente etiológico

El género *Leptospira* está conformado por un grupo de bacterias espiroquetas, que pertenecen a la familia *Leptospiraceae*. Comprende dos especies: *L. interrogans*, patógenas para el hombre y los animales y *L. biflexa*, que es de vida libre. *L. interrogans* se divide en más de 210 serovares y 23 serogrupos.³⁷

Los principales reservorios de *Leptospira* sp. son animales silvestres y domésticos entre los que se encuentran las ratas, los cerdos, el ganado bovino, los perros, los mapaches y murciélagos, de estos los de mayor importancia son los roedores y los bovinos debido a que el pH de su orina es alcalino y favorece la supervivencia del microorganismo.⁴⁶ *Leptospira* puede sobrevivir en condiciones ambientales extremas en aguas estancadas, lagunas, estanques y pantanos, por lo cual en las épocas de lluvia o en épocas de inundaciones hay más riesgo de infección por este agente.³⁷

2.2.3 Modo de transmisión

La leptospirosis es adquirida tanto por seres humanos como por animales por consumir agua o alimentos contaminados con la orina de roedores, además pueden ingresar por lesiones que se tengan en la piel o mucosas de ojos, nariz y boca.⁴⁷ El periodo de incubación son generalmente 10 días, con límites de 2 a 26 días.³⁸ La transmisibilidad de *Leptospira spp.* se mantiene debido a que los animales reservorios y hospederos accidentales eliminan el agente durante meses, años o inclusive toda la vida en el ambiente, esto depende de la especie, el serogrupo o serovar correspondiente.³⁸

2.2.4 Distribución geográfica y epidemiología

***Leptospira* en el mundo**

La leptospirosis es la zoonosis más distribuida en el mundo, está presente en todos los continentes excepto en la Antártida. Su incidencia es alta en regiones tropicales y subtropicales y se reportan picos en las temporadas de junio a noviembre. El diagnóstico se realiza con frecuencia en países endémicos o en viajeros procedente de ellos, rara vez se reportan casos en lugares áridos. Estudios reportan que representan el 20-40% de las enfermedades febriles y un 10% de hospitalizaciones⁴⁸.

La organización mundial de la salud (OMS) reportó en climas templados 1 caso por cada 100.000 personas y en climas tropicales húmedos 10 casos por cada 100.000.²⁵ En estudios realizados en áreas urbanas se ha podido identificar la importancia del reservorio *Rattus Norvegicus* en la transmisión de leptospirosis, los cuales reportan seroprevalencia de 77,4% en la ciudad de Detroit 27% para la ciudad de Barbados, 36,1% para Rio de Janeiro y para la ciudad de Buenos Aires 45,8%.^{25 38}

***Leptospira* en Colombia**

La leptospirosis desde el año 2007 es considerada por el Sistema Nacional de Vigilancia (SIVIGILA) como de notificación obligatoria, ha cobrado interés especialmente por las temporadas de lluvia e inundaciones en diferentes regiones del país. Es importante conocer las manifestaciones clínicas y características de la enfermedad, para fortalecer las acciones de vigilancia y control de cada evento.³⁸

En 2007 se publicó un estudio descriptivo, de marzo a octubre del 2000, de las zonas urbanas de nueve municipios del Urabá antioqueño, en el que se demostró una prevalencia de 12,5 % de anticuerpos IgG medidos por inmunofluorescencia indirecta (IFI) contra *Leptospira spp.*³⁶

De acuerdo con la información del Sistema Nacional de Vigilancia en salud Pública, se notificaron 2020 casos entre los años 2010 y 2017.³⁸

En estudios realizados en el Municipio de Villavicencio, Meta, Colombia, se encontró como resultado que la seroprevalencia en el grupo de bajo riesgo (estudiantes de primer semestre de diversos programas de la Universidad de los Llanos) fue 5,2 %. La seroprevalencia para los grupos de riesgo (Trabajadores de matadero 70, Médicos veterinarios, estudiantes de último año de

Medicina Veterinaria) fue 19 %, Se encontraron tres factores asociados: estrato rural, tenencia de mascota canina y contacto con roedores en el trabajo. ⁴⁹

Leptospira en el Chocó

El departamento del chocó está caracterizado por el IDEAM en los mapas de inundación, como el departamento con más zonas con cuerpos de aguas y zonas inundables dentro de los cuales se encuentra el municipio de Lloró ³⁶, lo cual le confiere a este agente etológico facilidad para su propagación.

Las cinco entidades territoriales por procedencia con mayor proporción de casos confirmados son: Valle del Cauca, Antioquia, Chocó y Bolívar con un 50,8%, en municipio de Lloró no reporta casos. ³⁸

2.2.5 Diagnóstico de *Leptospira*

El diagnóstico de leptospirosis se hace por medio de la demostración del microorganismo en una muestra clínica o por la demostración de los anticuerpos específicos anti-*Leptospira*.

MAT: La prueba de aglutinación microscópica (MAT, por sus siglas en inglés) es la técnica de referencia para el diagnóstico de esta enfermedad. Esta técnica consiste en mezclar el suero del paciente con *Leptospira* (mezcla de diferentes serotipos) posteriormente se examina en el microscopio de campo oscuro, la agrupación de los antígenos de la superficie de *Leptospira* con los anticuerpos del paciente, estos anticuerpos (IgM e IgG) se evidencian a partir 5 y 8 días de contraer la enfermedad y se pueden detectar por años. Una de las ventajas de este método es la especificidad del 100% la cual determina el título del anticuerpo y permite conocer el serovar contra el cual se produjo el anticuerpo. ⁵⁰⁵¹

ELISA: Es una prueba ligada a enzimas que se utiliza para detectar antígenos o anticuerpos, es utilizada como prueba de tamizaje, una vez esta resulte positiva se debe confirmar con la prueba de referencia MAT, se detectan anticuerpos IgM a partir de la primera semana de la aparición de la enfermedad y puede mantenerse viables de 2 a 6 meses, los anticuerpos IgG aparecen después y pueden ser detectables por años, es importante conocer si ya la persona recibió tratamiento con antibióticos , debido a que un tratamiento precoz podría dar falsos negativos.⁵²⁵³

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Es un método utilizado para amplificar segmentos de ADN específicos de ADN de *Leptospira spp*, se utiliza el gen patógeno *LipL 32* a partir de muestras de tejido de orina y sangre, esta prueba tiene una especificidad del 96-100%⁵⁴

Existen otros genes blancos para *Leptospira*, como *rpo* y *rrs*, para los cuales se pueden tomar muestras de tejido de riñón, orina y sangre total o suero⁵⁵

Inmunoblots: Se está utilizando una prueba de inmunoblot desarrollada en el ICMT-CES, utilizando como antígeno una proteína de membrana subcelular de *Leptospira sp*. Esta prueba tiene la ventaja de detectar antes de 5 días anticuerpos IgG o IgM en pacientes con síntomas clínicos, tiene una sensibilidad y especificidad mayores del 95% y estos resultados son iguales al compararse con la prueba Inmunofluorescencia Indirecta que se usa como diagnóstico convencional.

2.3 Salmonella

2.3.1 Definición

El género *Salmonella* comprende bacilos, Gram negativos, aerobios facultativos, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. Su tamaño oscila de 0,3 a 1 um x 1,0 a 6,0 um. Son móviles debido a la presencia de flagelos peritricos, a excepción de *S. Gallinarum* y *S. Pullorum*.⁵⁶

2.3.2 Agente etiológico

Salmonella sp es un género bacteriano perteneciente a la familia Enterobacteriaceae constituido por bacilos gram negativos intracelulares aerobios facultativos con flagelos periticos. Constituye un grupo importante de patógenos para animales y humanos. Está compuesto por dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. Dentro de la especie *S. enterica* se han identificado 6 subespecies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *indica*, and *S. enterica* subsp. *houtenae*, o subespecies I, II, IIIa, IIIb, IV y VI, respectivamente. Se han identificado también dentro de las subespecies más de 2500 serotipos, la mayoría de los cuales pertenecen a la especie *S. entérica*.⁵⁷

La infección en humanos causada por serotipos de *Salmonella* se puede dividir en términos generales en tres cuadros clínicos principales: infecciones intestinales, fiebres entéricas e infecciones sistémicas. Las infecciones intestinales o también llamadas salmonelosis comprenden un conjunto de cuadros clínicos cuya principal manifestación es la gastroenteritis aguda acompañada en ocasiones por fiebre. Los reservorios son humanos que hayan tenido contacto directo o indirectos con una persona infectada por *Salmonella Typhi*; en cuanto a productos animales transmiten la bacteria si están contaminados por humanos infectados durante la manipulación de los alimentos, el agua es uno de los medios más frecuentes para contraer la enfermedad si esta entra en contacto con heces de humanos infectados.⁵⁸

2.3.3 Modo de transmisión

Salmonella es un patógeno transmitido a humanos por consumir alimentos mal cocidos o preparados con alimentos de animales infectados (carne, huevos, aves de corral y productos derivados), su principal vehículo de transmisión es el agua contaminada con heces de personas

enfermas, otra forma de contagio es por contaminación cruzada, la cual se presenta cuando la bacteria contamina alimentos listos para ser consumidos (una persona infectada manipula la comida) su diseminación se puede presentar también a partir de animales a humanos.⁴²

2.3.4 Distribución geográfica y epidemiología

***Salmonella* en el mundo**

En el mundo la prevalencia de salmonelosis está asociada al agua potable, al clima, alimentos y eliminación de desechos. Según estimaciones de la OMS cada año podrán enfermar entre 11 y 20 millones de personas, de las cuales morirían entre 128.000 y 161.000. En países en vía de desarrollo (África, las Américas, Asia sudoriental, Pacífico Occidental) a pesar que ha disminuido la prevalencia de salmonelosis, gracias a las acciones de la OMS, se siguen presentando problemas de salud pública.^{59 60}

En las Américas la OMS reporta una tasa de enfermedad por *Salmonella* Typhi de 10 por 100 habitantes y la mortalidad de 0,07 por 100.000 habitantes. La OMS reportó en el año 2018 dos casos de *S. Typhi* multirresistente, en dos pacientes que provenían de Pakistán, país que registró un brote por *S. Typhi* H58, en este mismo año Canadá reportó también un caso de resistencia de *S. Typhi* en un paciente pediátrico.

En Latinoamérica en el año 2016 no se notificó el aumento en los casos producidos por esta bacteria; se notificaron menos de 10 aislamientos por país en Brasil, Cuba y Perú. Colombia reportó 204 casos y El Salvador 298 casos.⁶¹

***Salmonella* en Colombia**

Colombia es un país sub-desarrollado donde las condiciones higiénicas y sanitarias son deficientes y en algunos departamentos no existe un proceso adecuado para diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.⁶²

En un trabajo realizado por INS sobre caracterización de fiebre tifoidea en el país en los años 2000 – 2013 se obtuvo que en los departamentos con mayores aislamiento para el año 2013 fueron: Antioquia (551), Bogotá (602), Valle (153), Nariño (120), Santander (277) y en los que menos aislamiento se evidencio fue en Chocó (11), Vichada (2), Guaviare (1) y Vaupés (1)⁶³

Según el boletín de la semana 52 del 2018 solo se notificó un solo caso a nivel nacional

***Salmonella* en Chocó**

No se conocen datos exactos y solo se hacen reporte de brotes

2.3.5 Diagnóstico de *Salmonella*

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, llevada a cabo con oligonucleótidos específicos y que se puede realizar en muestras de sangre, orina y tejidos.

Agglutinación de widal: Se buscan anticuerpos en el suero del paciente a los antígenos H (flagelar), O (LPS) y Vi (antígenos capsular), esta prueba puede presentar limitaciones en la realización, debido a que puede presentar falsos positivos, porque si se toma en zonas endémicas las personas pueden resultar con títulos de anticuerpos altos sin tener la enfermedad en el momento⁶⁴. Esta prueba esta descontinuada y no es recomendada por la OMS por su alta inespecificidad.

TUBEX (IDL Biotech): Es una prueba colorimétrica que detecta anticuerpos anti- *Salmonella* 09, presenta una sensibilidad aproximada de 70-90% y una especificidad de 80-90%⁶⁵

Inmunoblots: Se está utilizando una prueba de inmunoblot desarrollada en el ICMT-CES, utilizando como antígeno una proteína de virulencia de *Salmonella* Typhi. Esta prueba tiene la ventaja de detectar anticuerpos IgG o IgM en pacientes con síntomas clínicos, tiene una sensibilidad y especificidad mayores del 90% al compararse con hemocultivos.

Hemocultivos: Se realiza esta prueba durante la primera semana, se toman tres hemocultivos en el lapso de una hora en sitios anatómicos diferentes y antes de iniciar tratamiento antimicrobiano, se obtienen aislamientos positivos en un 50-75 %⁶⁶

2.4 *Brucella*

2.4.1 Definición

La brucelosis es una zoonosis, que afecta a bovinos, ovinos, cabras, cerdos y al hombre. Se han identificado 12 especies de *Brucella*, estas son consideradas especies zoonóticas. Las más frecuentemente detectadas son *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. ovis*, *B. suis*, *B. canis* y *B. microti* que por lo general están relacionadas con ganado bovino, cabras, ovejas, cerdos, perros y animales silvestres respectivamente¹⁷, las otras especies corresponden a *B. neotomae*, *B. pinnipedialis*, *B. ceti*, *B. inopinata*, *B. papionis* y *B. vulpis*.⁶⁷

2.4.2 Agente etiológico

El género *Brucella* está compuesto por cocobacilos Gram negativos aeróbicos, inmóviles, de vida intracelular facultativa. Según la presencia del antígeno O en su pared celular *Brucella melitensis*, *B. suis* y *B. abortus*, son cepas lisas y el antígeno ó cadena “O” es considerado un factor de virulencia. *B. canis* y *B. ovis* son cepas rugosas, que carece de este antígeno. La especie más patógena e invasora para el hombre es *B. melitensis*, sin embargo, aún no se han reportado casos en el país.⁶⁸. El reservorio está constituido por especies de mamíferos que tienen relevancia a nivel económico como ganado porcino, vacuno, caprino y ovino, también afecta algunas especies silvestres (zorro, comadreja, liebre)¹⁵

2.4.3 Modo de transmisión

Esta enfermedad es transmitida de diferentes formas: Ingesta de producto derivados de algún animal enfermo (leche, queso sin pasteurizar), contacto con la placenta o aborto de animales enfermos, inhalación de heces secas, inoculación accidental en personal que trabaje directamente

con animales enfermos (laboratoristas, veterinarios), transmisión interhumana es poco frecuente , aunque se ha informado posterior a una transfusión de sangre, trasplante de médula ósea y se han descrito casos ocasionales en los que se sospecha transmisión sexual. ^{15,69}

El periodo de incubación es difícil de determinar en el humano, sin embargo, se estima una duración de dos semanas con una variación entre cinco días y tres meses. ⁴⁴

2.4.4 Distribución geográfica y epidemiología

Brucelosis en el mundo

En países industrializados la brucelosis ha disminuido gracias a la mejora en general de las condiciones sanitarias, pero este genera un factor de riesgo por la exposición a animales infectados, recreación y por las profesiones que desempeñan; esta enfermedad es de distribución mundial y se reporta con mayor frecuencia en el golfo pérsico, subcontinente indico, América del sur, América central y México, en estados unidos se reporta en un 50% brucelosis en California, Florida y Texas esto a causa de la caza de cerdos salvajes.⁷⁰

En América Latina los países que demuestran tener mayor incidencia de la enfermedad son Argentina, México y Perú, seguidos de Colombia, Chile y Ecuador. ³⁶

Brucelosis en Colombia

En Colombia los estudios realizados para brucelosis humana se han limitado a la determinación de prevalencias en personal de alto riesgo como trabajadores de mataderos.³⁸

Guarnizo et al., encontraron seropositividad del 8%, en el 2007, 7%, en 2008, 4% en el 2009, 3% pero en el 2010 por la temporada de lluvia se aumentan en los municipios de Boyacá, Tolima, Caldas, Nariño, Bogotá y Antioquia.⁷¹

Brucelosis en Chocó

No se conocen datos exactos

2.4.5 Diagnóstico de *Brucella*

El diagnóstico puede realizarse de forma directa por medio de cultivos de sangre, medula ósea o tejidos en el medio bifásico Ruiz Castañeda o por métodos indirectos por la prueba de aglutinación Rosa de bengala la cual es la prueba más utilizada como tamiz debido a su rapidez, sensibilidad y especificidad (100%). También se utiliza ELISA indirecta para detección de anticuerpos y como confirmatoria la ELISA competitiva que detecta antígenos circulantes de *Brucella* y por último la prueba de PCR, que es una prueba molecular que detecta ADn circulante de la bacteria en sangre total y otros líquidos estériles.⁷²

2.5 *Rickettsia*

2.5.1 Definición

Bacterias intracelulares obligadas, pertenece a la familia Rickettsiaceae junto con los géneros *Orientia* y *Wolbachia*, son bacterias Gram negativas, no forman esporas, cocobacilos, se conocen tradicionalmente dos grupos principales de *Rickettsia* el grupo de fiebre manchada y el grupo de tifus.⁷³

2.5.2 Agente etiológico

El agente etiológico depende de la enfermedad o el grupo de *Rickettsia*. La fiebre manchada es causada por *R. rickettsii*, *R. helvetica*, *R. asiatica*, *R. tamurae*, *R. masiiae*, *R. montanensis*, *R. rhipicephalii*, *R. aeachimannii*, *R. sibirica*, *R. slovacae*, *R. africae*, *R. cononi*, *R. heilongjiangensis*, *R. japonica*, *R. parkeri*, *R. peacockii*, *R. honei*, *R. raoutii*, *R. amblyommii*, *R. monacensi* y *R.*

mamionii. El tifus es causado por *R. typhi*, *R. prowazeki*, *R. acari*, *R. australis*, los grupos ancestrales *R. bellii*, *R. canadensis* y el género *Orientia*: *O. tsutsugamushi*.

R. felis causa en humanos tifus y en gatos fiebre manchada.^{74 75}

2.5.3 Modo de transmisión

La infección es transmitida por garrapatas, ácaros, piojos, pulgas (artrópodos hematófagos), que actúan como reservorios y vectores a la vez, las garrapatas se transmiten por vía transovárica⁶⁸.

El periodo de incubación varía dependiendo la especie de *Rickettsia*, en humanos puede ser de 7 a 14 días⁷⁶

2.5.4 Distribución geográfica y epidemiología

Rickettsiosis en el mundo

Rickettsia se han reportado en todo el mundo excepto en la Antártida, *Rickettsia felis* y *Rickettsia typhi* son de distribución mundial debido a su vector (pulgas) que a diferencia de otras especies cuyo vector es la garrapata tienen a limitarse geográficamente⁶⁷

En Latinoamérica las especies más representativas de *Rickettsia* son: *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. massiliae* y *R. africae*⁷⁷

En las Américas *R. parkeri* se encuentra en garrapatas *Amblyomma maculatum* (infesta a bovinos). *R. parkeri* resulto ser patógena en cobayos, varias décadas después fue confirmada como patógena en humanos y actualmente es considerada como una rickettsiosis emergente.⁷¹

En Argentina y Uruguay se han detectado casos de rickettsiosis donde los vectores son *A. triste* y *A. tigrinum* en Bolivia.⁷¹ En Brasil la rickettsiosis por fiebre manchada de las montañas rocosas, fiebre maculosa brasilera o fiebre de Tobia es causada por *R. rickettsii* la cual es considerada como una de las rickettsiosis más letales en el mundo, en Brasil la mortalidad es del 30 al 40 % en su

población. El vector principal de *R. rickettsii* es *A. cajennense* una garrapata agresiva que parasita al humano.⁷¹

En Centro América se ha reportado *R. rickettsii* en México (Baja California, Sonora, Sinaloa, Durango, Coahuila y Yucatán), Panamá, Costa Rica y Guatemala.^{67 71}

Rickettsiosis en Colombia

En Colombia en el año 2006 se reportaron casos de *Rickettsia* en el Departamento de Antioquia en soldados del ejército nacional, los cuales fueron confirmados por el CDC de Atlanta como *Rickettsia rickettsii*, en el año 2007 en el Departamento de cordoba se reportaron 11 casos de *Rickettsia spp*, de los cuales cuatro pacientes murieron., en el municipio de Turbo –Antioquia en el año 2008 se reportaron 15 casos de *Rickettsia sp*, en el departamento de Caldas se reportaron 14 pacientes con *Rickettsia typhi* , en los Departamentos de Bolivar, Guajira y Valle del cauca en los años comprendidos entre 2011 y 2013 se reportaron 9 muertes por *Rickettsia sp*⁷⁰⁷⁸.

En la región del Urabá en la vereda de altos de los mulatos se registraron 10 casos y Chingas 9 casos de *Rickettsia* en un estudio realizado entre los años 2015 - 2016⁷⁹

Rickettsiosis en el Chocó: No hay registros de esta infección en el Chocó.

2.5.5 Diagnóstico *Rickettsia*

El diagnóstico de *Rickettsia* no es fácil debido a que necesita laboratorios y pruebas especializadas para hacerlo.

Serología: la prueba considerada como estándar de oro es la inmunofluorescencia por su exactitud, por su tiempo de respuesta y la cantidad mínima de muestra, tienen diferentes presentaciones (IFA ELISA, varillas de inmersión)⁶⁷

Pruebas moleculares: los genomas de *Rickettsia* ya están descritos lo cual permite realizar PCR para identificación de diferentes genes, se puede realizar PCR en tiempo real o convencional⁶⁷

Tinción de Giménez y naranja de Acridina: Esta tinción es importante porque permite hacer un diagnóstico diferencial entre *Rickettsia* y la fiebre por el virus del Zika, aunque para hacer el diagnóstico definitivo de Zika se debe realizar una prueba de RT-PCR.⁸⁰

2.6 Dengue

2.6.1 Definición

Es una enfermedad vírica transmitida por mosquitos del género *Aedes aegypti* o en menores casos *Aedes albopictus*, este virus es común en áreas cálidas y húmedas del mundo, sobre todo en zonas urbanas y semiurbanas.

Se presenta fiebre elevada de 40⁰ C, con dolor de cabeza intenso, dolor en las articulaciones (coyunturas), dolor retroocular, náuseas, vómitos, salpullidos e inflamación de ganglios linfáticos. Estos síntomas suelen presentarse después que el mosquito pique en un lapso de tiempo entre 4-10 días y una vez se presentan duran de 2 a 7 días.⁷⁶

Los síntomas para el dengue grave son alarmantes debido a que si el paciente no se atiende entre las 24-48 hrs de iniciar esta sintomatología puede morir, entre estos síntomas está la extravasación de plasma, hemorragias graves, falla respiratoria, acumulación de líquidos.⁷⁶

2.6.2 Agente etiológico

Se conocen cuatro serotipos de este virus: DEN 1, DEN 2, DEN 3 y DEN 4⁸¹, cualquiera de estos serotipos pueden causar dengue grave aunque las muertes en un gran porcentaje son reportadas por los serotipos 2 y 3, pertenecen al género flavivirus de la familia flaviviridae, constan de proteínas

estructurales de la envoltura (E), membrana (M) y cápside (C), un genoma de ácido ribonucleico y proteínas no estructurales NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5.⁷⁵

2.6.3 Modo de transmisión

El mosquito *Aedes aegypti* (hembra) pica a una persona infectada con el virus del Dengue, luego este mosquito pica a personas sanas y les transmite la enfermedad ⁸²

Los vectores que transmiten el virus Dengue son *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* ^{82, 83}. *A. aegypti* de origen africano, deposita sus huevos en aguas limpias recogidas en tanques o floreros de las casas, mientras que *A. albopictus* asiático prefiere aguas sucias, huecos de árboles, vegetación en descomposición, prefiere exteriores y produce más huevecillos que el *A. aegypti*⁷⁸. Un huevo del mosquito *Aedes aegypti*, demora entre 7 y 10 días en convertirse en un adulto. Figura 4

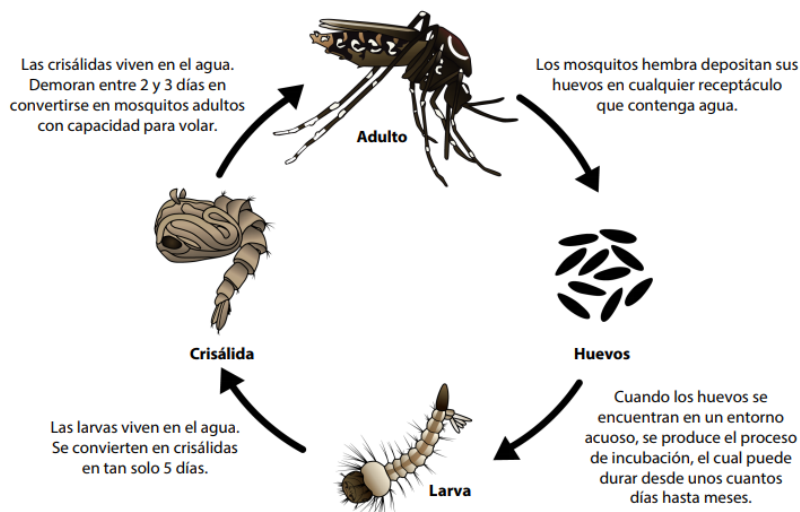


Figura 4. Ciclo de vida del vector *Aedes aegypti*. Tomado de: Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Emergentes y Zoonóticas. División de Enfermedades Transmitidas por Vectores⁸⁴

2.6.4 Distribución geográfica y epidemiología

Dengue en el Mundo

En el mundo las enfermedades transmitidas por vectores representan el 17% de todas las enfermedades infecciosas, provocando defunciones de aproximadamente 700.000 por año, dentro de estas enfermedades transmitidas por vectores se encuentra el Dengue la cual presenta 96 millones de casos al año⁷⁵. Estas cifras pueden que no sean el número real de casos de Dengue, debido a que no se notifican todos los casos de este o muchos de estos están mal clasificados, esta enfermedad es endémica en países como: África, las Américas, Mediterráneo Oriental, Asia Sudoriental, y el Pacífico Occidental. En el año 2012 se presentó un brote de Dengue en el archipiélago de Madeira – Portugal que ocasionó más de 2000 casos, en el año 2013 se reportaron casos en Florida – Estados Unidos de América, en 2015 en Delhi – India se reportaron más de 15000 casos, en el año 2016 Filipina reportó 176.411 casos y Malasia 100.028 casos, en el año 2017 se reportó 50.172 casos⁸⁵

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha notificado una alerta epidemiológica por Dengue en las Américas en el año 2018, con cifras de 446,150 casos y 240 defunciones. En la tabla 1 se observa el comportamiento de Dengue en los países de América

Tabla 1 Dengue en las Américas

PAÍSES	CASOS DE DENGUE -2018
Argentina	1.808
Brasil	218.337
Chile	18
El salvador	307

Guatemala	Se observa un aumento de casos (5.449) con respecto al año 2017(3.754)
Honduras	405
Jamaica	4
México	62.404
Panamá	62.404
Paraguay	31.163
Perú	6.404
Venezuela	1.871
Colombia	33.134

Tomado de: Organización Panamericana de la Salud. (OPS).⁸⁶

Dengue en Colombia

En Colombia en la semana epidemiológica 52 de 2018 se reportaron 14563 casos de dengue de los cuales 7623 casos son sin signos de alarma, 6745 casos con signos y 195 casos de Dengue grave. Los departamentos que presentaron mayor número de casos fueron Norte de Santander 4874, seguido de Meta 4451 y Antioquia 3956 casos de Dengue, a nivel municipal la mayor proporción de Dengue se presenta en Cúcuta con el 5,9% de los casos, Villavicencio con 4,9% de los casos, Cali con 4,2%.⁸⁷

Dengue en Chocó

En cuanto al Departamento del Chocó presento 87 casos de Dengue y no se tiene reporte en el SIVIGILA de casos en el municipio de Lloró

2.6.5 Diagnóstico

El Diagnóstico de Dengue no es fácil debido a que los síntomas iniciales son inespecíficos y se pueden confundir con otras enfermedades febriles como: leptospirosis, malaria, fiebre tifoidea, Chikungunya entre otras.⁸⁸

Pruebas rápidas

Estas pruebas son útiles en lugares donde no se cuenta con laboratorios y pruebas de tercer nivel., son convenientes en infecciones primarias (nuevas) porque tienen una respuesta más específica de IgM, aunque en reacciones secundarias esta no muestra una reacción fuerte de IgM pero si de IgG. Dentro de las pruebas rápidas se ha incluido el antígeno NS1, la cual tiene una especificidad del 90- 100% pero una baja sensibilidad del 52-62% lo cual indica que un resultado negativo no descarta una enfermedad por Dengue por lo que se debe hacer pruebas confirmatorias de estos resultados.⁸³

Diagnóstico serológico

Se pueden realizar pruebas de Inmunoglobulina Indirecta ELISA, Inhibición de la Hemaglutinación, fijación de complemento, Neutralización.⁸³

RT-PCR: Es un método sensible usado para detectar RNA viral en muestras humanas, mosquitos, y en tejidos de autopsia.⁸³

Aislamiento viral: Se realizan cultivos de células de mamíferos (LLC-MK2), cultivo de célula de mosquitos⁸³

2.7 Pruebas de diagnóstico molecular

Las pruebas de PCR se utilizan para la búsqueda de ADN directamente en las muestras clínicas. Para el caso específico de los agentes *Leptospira*, *Salmonella*, *Brucella* y *Rickettsia*, en el ICMT se desarrollaron previamente técnicas de detección en sangre total y fueron usadas en este estudio. Los cebadores que se utilizaron para realizar las diferentes pruebas de PCR fueron diseñados basados en las secuencias génicas depositadas en el GenBank para un gen de cada agente estudiado

y ya han sido probados en estudios similares ^{84, 85, 86, 87}. A continuación se describen las características de los cebadores para cada prueba.

- **Cebadores para detección de *Brucella abortus*:** Amplifican una región específica de 783 pares de bases (pb) del gen BruAb2_0168, que codifica para una proteína transportadora de membrana externa.⁸⁹
- **Cebadores para la detección de *Salmonella sp*:** Amplifican una porción de 450 pb del gen de invasión bacteriano *invA* que está presente en la gran mayoría de los serotipos de *Salmonella sp*, incluyendo los más prevalentes en Colombia, que causan infección en el humano, por lo cual ha sido usado como un marcador útil para la identificación del género.⁹⁰
- **Cebadores para *Leptospira sp*:** Amplifican una porción de 423 pb del gen *lipL32* que codifica para una lipoproteína en la porción citoplasmática de la membrana cuya estructura es muy conservada y que está presente solo en las especies patógenas de *Leptospira*.
- **Cebadores para *Rickettsia sp*:** Amplifican una porción de 401 pb del gen *gltA* que está presente en la mayoría de las especies de *Rickettsia sp* y es objetivo molecular importante para la taxonomía⁹¹.

2.8 INMUNOTROPIC®

Esta prueba fue desarrollada en el ICMT-CES. El principio de esta prueba es que se usan como soporte para la detección de anticuerpos tipo IgG e IgM tiras de nitrocelulosa que contienen antígenos de *Salmonella sp* y *Leptospira sp* (proteínas recombinantes obtenidas de cepas colombianas de propiedad del ICMT-CES), estas tiras fueron obtenidas con el siguiente protocolo: dos proteínas recombinantes de los dos microorganismos fueron separadas por peso molecular por medio de electroforesis en geles de poliacrilamida SDS- PAGE al 12%, seguido por transferencia

electroforética a una membrana de nitrocelulosa. Las tiras fueron recortadas a un tamaño de 5 mm de ancho por 7 cm de largo. Cada tira fue incubada con el suero de un participante en el estudio permitiendo la interacción antígeno y anticuerpo. Para cada paciente se usaron dos tirillas: 1 para IgG y otra para IgM. Después se agregaron anticuerpos anti IgG o IgM humana marcada con peroxidasa de rábano picante según fuera el caso y por último la solución cromogénica diaminobencidina (DAB). En presencia de la peroxidasa de rábano picante el DAB se precipitaba y por lo tanto la banda podía ser visualizada.

La positividad del ensayo se verifica visualmente por la presencia de una banda que equivale a la presencia de anticuerpos contra *Salmonella* spp ó *Leptospira* sp.

3. Objetivos

3.1 Objetivo general

Determinar la frecuencia de cinco agentes etiológicos de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó 2018

3.2 Objetivos específicos

1. Describir las características sociodemográficas de los pacientes con síndrome febril del municipio de Lloró, Chocó
2. Determinar la frecuencia de malaria por gota gruesa en los pacientes con síndrome febril, según variables sociodemográficas, especie de parásito, antecedente de infección y síntomas clínicos
3. Determinar la frecuencia de rickettsiosis, brucelosis, leptospirosis, salmonelosis y dengue, según pruebas serológicas y/o moleculares en pacientes con síndrome febril, según variables sociodemográficas, y síntomas clínicos.
4. Identificar la presencia de co-infecciones causadas por estos agentes etiológicos en los pacientes con síndrome febril según variables sociodemográficas y síntomas clínicos en Lloró- Chocó

4. Metodología

4.1 Tipo de enfoque

El presente estudio tuvo un enfoque cuantitativo se establecieron a priori los objetivos, las variables, la población y el área de estudio, la recolección de información, los datos se analizaron con herramientas estadísticas cuantitativas.

4.2 Tipo de estudio

Se realizó un estudio de tipo descriptivo porque se describió la frecuencia de estos agentes causales de síndrome febril, sin establecer asociaciones entre variables, de corte porque solo se tomó una muestra y no se le realizó seguimiento al paciente y prospectivo porque se realizó la recolección de la información una vez se empezó la investigación en el centro de salud Lloró.⁹²

4.3 Área de estudio

La investigación se realizó en el municipio de Lloró el cual se encuentra ubicado en la zona Occidental del departamento del Chocó parte alta, está localizado a los 5° 30' de latitud Norte, y 75° 32' de longitud oeste de Greenwich, tiene una altura de 69 sobre el nivel del mar y una temperatura promedio de 28°. Dista de Quibdó 28 Km siendo su área municipal de 905 km².⁹³ Su población se dedica a la minería, agricultura y comercio general.

4.4 Población de estudio

Estuvo constituida por 120 pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión y que consultaron en el centro de salud de Lloró en el mes de marzo de 2018. El ingreso de los participantes se hizo de forma consecutiva

4.4.1 Criterios de inclusión

Pacientes con síndrome febril de 15 días o menos de evolución, mayores de 3 años de edad, cualquier lugar de procedencia y aceptación voluntaria para participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

4.4.2 Criterios de exclusión

Antecedentes de transfusión de productos sanguíneos, enfermedad hematológica.

4.4.3 Captación de la población de estudio

La captación de los pacientes se realizó en el centro de salud de Lloró. Una investigadora visitó los diferentes servicios del centro de salud en donde mediante interrogatorio a personas que se encontraban en urgencias y/o consulta externa del Centro de salud, se indagó sobre la presencia de pacientes que cumplían con los criterios de inclusión. Además, por medio de difusión radial.

Diagrama de variables

En el siguiente diagrama se representan las variables incluidas en el estudio BNR se la reorganicé

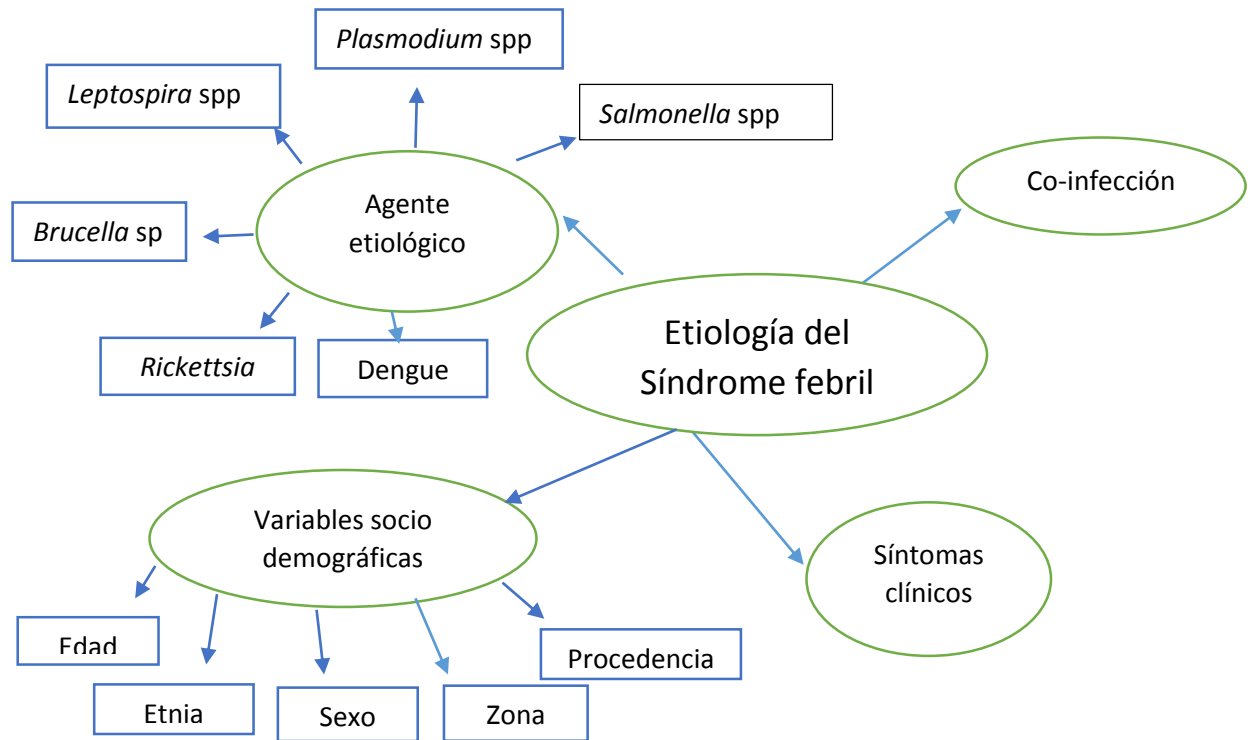


Figura 5. Diagrama de Operacionalización de Variables

En la siguiente tabla 2 se definen cada una de las variables incluidas en el estudio: Sexo1: Hombre.

Mujer. Ubicacion: 1. Procedencia.2. Zona.

Tabla 2 Cuadro de operacionalización de variables.

NOMBRE	DEFINICIÓN	DIMENSIÓN	NATURALEZA	NIVEL DE MEDICIÓN
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual	Años	Cuantitativa	Razón
Sexo	Características biológicas que diferencian a los individuos en hombres y mujeres	1 2	Cualitativa	Nominal
Procedencia	Municipio donde se enfermó el paciente	1	Cualitativa	Nominal
Zona	Territorio que se delimitan a partir de determinadas características de la naturaleza.	2	Cualitativa	Nominal
Etnia	Grupos étnicos en el que se divide la especie humana, teniendo en cuenta características físicas distintivas	1.negra 2.Blanca 3.Mestiza 4.Indígena	Cualitativa	Nominal
Días de fiebre	Tiempo transcurrido desde la fecha del inicio de la fiebre y la toma de la muestra	Días	Cuantitativa	Razón
Síntomas clínicos	Son elementos subjetivos percibidos únicamente por el paciente	Nombres	Cualitativas	Nominal
Antecedentes de enfermedad	Presencia anterior de enfermedades por los agentes etiológicos de este estudio	1.Malaria 2.Leptospirosis 3.Salmonelosis 4.Brucelosis 5. Rickettsiosis 6. Dengue	Cualitativa	Nominal

Caso confirmado de malaria	Gota gruesa: [INS,2015]	1. Negativa 2. Positiva	Cualitativa	Nominal
Caso confirmado de leptospira	Se confirma si los resultados de Inmunoblot o PCR fueron positivos en suero Inmunoblot: [manual inmunoblot,2012] PCR: [INS,2016]	Inmunoblot 1.IgG positivo 2.IgG negativo 3.IgM positivo 4.IgM negativo 3.Negativo 1.Positiva 2.Negativa	I	
Caso confirmado de salmonella	Inmunoblot: [INS,2016] PCR: [INS,2016]	Inmunoblot 1.IgM positivo 2.IgM negativo 3.IgG positivo 4.IgG negativo PCR 1.Positiva 2.Negativa	Cualitativa	Nominal
Caso confirmado de brucella	Rosa de Bengala: [Sprinreact] PCR: [INS,2016]	Rosa de Bengala 1.Positiva 2.Negativa PCR 1.Positiva 2.Negativa	Cualitativa	Nominal
Caso confirmado de rickettsia	PCR: [INS,2016]	1.Positiva 2.Negativa	Cualitativa	Nominal
Caso confirmado de dengue	Prueba rápida positiva para antígeno NS1 y/o IgM	1.Positiva 2.Negativa	Cualitativa	Nominal

Co-infección	Situación en que dos o más agentes infecciosos estudiados coinfectan a un mismo hospedero [Arrevillegas B, 2006]	1. <i>Malaria</i> , dengue 2. <i>Leptospira</i> , <i>Brucella</i> 3. <i>Rickettsia</i> , <i>Salmonella</i> 4. <i>Leptospira</i> Dengue 5. otra	Cualitativa	Nominal
--------------	--	--	-------------	---------

4.6 Conservación, transporte y envío de muestras.

Dos muestras de sangre: Con EDTA y otra en tubo seco con gel. Se conservaron a 4°C. Las muestras de gota gruesa se conservaron en papel. Todas las muestras se procesaron en el ICMT.

4.7 Técnicas y recolección de la información

Se diligencio un formulario con las variables sociodemográficas de los pacientes como edad, sexo, etnia, procedencia y resultados de las pruebas diagnósticas de cada participante. Ver Anexo 1.

7.1 Control de sesgos

Para controlar los sesgos en el estudio se tuvieron en cuenta los criterios de inclusión para evitar un sesgo de selección en el momento de tomar las muestras a los pacientes indicados y así no interferir con buenos resultados en la investigación.

1. Sesgo de selección

Este sesgo se pudo presentar debido a que la muestra fue recolectada por conveniencia en un periodo de tiempo determinado en Lloró-Chocó, de forma consecutiva hasta que se ajustó el número de la muestra lo cual podría causar dificultad de garantizar que los resultados obtenidos evidencien lo que pasa en la población general durante todos los meses del año.

2. Sesgo de información

Para controlar este riesgo se realizó un estudio piloto para conocer qué tan claro y útil era la encuesta diseñada. La encuesta fue realizada en campo por la bacterióloga Náyade Córdoba a cada paciente mediante una explicación de cada uno de los procedimientos del trabajo y los componentes de la encuesta, cuando eran niños se le explicó al adulto responsable, para evitar confusión con los términos clínicos.

Todos los procedimientos de laboratorio fueron realizados por la estudiante de maestría con la supervisión de la tutora.

La base de datos de los resultados de cada paciente fue realizada por la estudiante de maestría con revisión por parte de la tutora.

4.8 Plan de análisis

La base de datos se diligenció en Microsoft Excel versión 15.0, previa revisión de los formularios. El procesamiento de la información se realizó en SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versión 21.0).

Se realizó un análisis descriptivo univariado a los datos, por medio del cálculo de medidas de frecuencia absoluta y relativa (porcentajes) para las variables cualitativas y a las variables cuantitativas se les hizo cálculo de medidas de tendencia central, de posición y de desviación.

4.9 Consideraciones éticas

La investigación cumplió con los aspectos éticos que figuran en la resolución 008430 de 1993 emanada del Ministerio de Salud de Colombia, en la cual en el Título II Capítulo 1, se establecen las normas éticas para la investigación en seres humanos.

La presente investigación se consideró de riesgo mínimo según el Artículo 11 numeral b de dicha resolución.

El proyecto no contempló ninguna manipulación, tratamiento experimental o procedimientos que pusieran en riesgo la vida del paciente en beneficio del estudio.

La información suministrada por los pacientes fue manejada con absoluta confidencialidad y solo tuvieron acceso a ella los investigadores.

Los pacientes no recibieron ninguna remuneración económica por participar en el estudio, ni estuvieron sujetos a presiones por parte de los investigadores.

El paciente estuvo en la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento de la investigación.

Prevalcieron los beneficios sobre los riesgos en este proyecto. Se les entregaron los resultados a los participantes y se les asesoró en el caso de ser positivo para que consultaran a la entidad de salud a la cual estaba afiliado para su manejo.

Se solicitó consentimiento informado a los participantes en el estudio. En el caso de ser menor de edad, el consentimiento se solicitó a un adulto responsable y al niño menor se le solicitó asentimiento.

El proyecto fue aprobado para su ejecución por el comité de ética del ICMT-CES según acta 61 de enero 25 de 2018.

5. 0 Técnicas y procedimiento del laboratorio

5.1 Gota Gruesa:

El diagnóstico de malaria se confirmó con la identificación mediante examen microscópico de gota gruesa de la especie de *Plasmodium* presente en la sangre, además se realizó recuento parasitario en la totalidad de las muestras positivas tanto por *P. falciparum* y *P. vivax* como en infecciones mixtas.

La toma de la muestra se realizó en el momento del día que el paciente consultó en el centro de salud, a donde acudían cuando presentaron síntomas (fiebre, escalofrío y sudoración principalmente). Para la toma de muestra, después de consignar la información clínico-epidemiológica del paciente, se marcaron tres láminas por cada paciente, dos para gota gruesa y una para el extendido de sangre periférica. Se procedió a tomar la muestra de sangre del dedo índice o dedo medio del paciente según los lineamientos de diagnóstico de malaria del Instituto Nacional de Salud. Brevemente, se limpió con alcohol y algodón, después se secó la zona con una torunda de algodón seco, se puncionó con una lanceta estéril desechable en el borde lateral del dedo entre la yema y la uña, se limpió la primera gota de sangre con algodón seco, se presionó el dedo y se colocó la siguiente gota a 1 cm. de la identificación de la lámina. Luego se realizó la gota gruesa utilizando el borde de otro portaobjeto (lámina extensora) y se extendió la sangre realizando el menor número de movimientos sobre la muestra para evitar dañar la morfología del parásito formando un cuadrado homogéneo y de grosor adecuado. Una vez la muestra de sangre estuvo completamente seca, se realizó el proceso de pre- coloración con azul de metileno fosfatado, se enjuagó la muestra con solución amortiguadora y luego se realizó la coloración de Field usando el siguiente protocolo: por cada lámina a colorear se midieron 3 ml de solución amortiguadora, 1 gota de solución A (Azur B con H₂PO₄) y 1 gota de solución B (Eosina), se mezcló y se coloreó en lámina cóncava en posición invertida por un tiempo de 12 a 15 minutos según estandarización.

Cuando la muestra se secó completamente se procedió a su observación en 1000X buscando un campo ideal (10-20 leucocitos), luego se comenzó a examinar la muestra en zig-zag teniendo en cuenta no repetir algún campo. Si la muestra era positiva, se observó el número suficiente de campos (200 leucocitos en total) para diagnosticar la especie o especies presentes en la muestra y luego se realizó el recuento parasitario en términos de número de parásitos/ul de sangre. Para diagnosticar una muestra como negativa, se observaron como mínimo 200 campos microscópicos.⁹⁴

5.2 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Leptospira Salmonella*, *Brucella*, y *Rickettsia* sp.

Para la realización de las pruebas de PCR para la detección de cada uno de estos 4 agentes se procedió con el siguiente protocolo:

Extracción de ADN de muestra de sangre total: el proceso de extracción de ADN se realizó con el estuche comercial QuickADN – Universal Kit de Zymo Research (Irving, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante, brevemente: 200 microlitros (μ l) de sangre total se mezclaron con 200 μ l de buffer de lisis más 20 μ l de proteinasa K, se incubó a 55°C por 10 minutos y se adicionaron 25 μ l de buffer de unión. Luego se transfirió la muestra al sistema de columnas y se centrifugó a 12.000 RPM por 1 minuto, se adicionaron 400 μ l de buffer de pre-lavado de ADN en una columna nueva y se centrifugó por 1 minuto, posteriormente se adicionaron 700 μ l de buffer de lavado y finalmente se centrifugó por 1 minuto en un tubo nuevo para obtener el ADN; la pureza y concentración del ADN se determinó usando el equipo Nanodrop mediante lectura a 260/280. El ADN extraído se almacenó a -20°C hasta su uso.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Se realizó el proceso de PCR **en forma individual** para cada uno de los agentes bacterianos. El proceso de amplificación se realizó tomando como volumen final de la reacción 25 µl, para esto se mezclaron: 20 µl de Supermix Invitrogen (Thermo Fisher Scientific, CA, USA), 0.5 µl de cada uno de los cebadores (concentración de 10 µM cada uno) y 4 µl de ADN.

En la tabla 3 se describen las secuencias de los cebadores y las referencias bibliográficas de donde se adaptaron los protocolos de la PCR de cada agente:

Tabla 3 Cebadores utilizados para las pruebas de PCR

Agente	Cebadores	Tamaño Amplificado	Referencia
<i>Brucella abortus</i>	Fw: TGCAGCTCACGGATAATTTG Rv: ACACCTTGTCACGCTCAC	783 pb ORF BruAb2_016 8	Sánchez-Jiménez MM, Cardona-Castro N. Rev CES Med Zootec. 2013; Vol 8 (2): 73-82.
<i>Salmonella sp.</i>	Fw: GCGTTGGGAGTGTGGTCTAT Rv: AATGGGCAGTATTGCTACCG	450 pb <i>invA</i>	Muñoz N et al. Journal of Molecular Diagnostic. 2010; 12 (2): 220-25.
<i>Leptospira sp.</i>	Fw: CGCTGAAATGGGAGTTCGTATGATT Rv: CCAACAGATGCAACGAAAGATCCTT T	423 pb <i>lipL32</i>	Moreno N, Agudelo -Flórez P. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2010; 27(4): 548-56
<i>Rickettsia sp.</i>	CS-78: GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT CS-323: GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAG GAT	401 pb <i>gltA</i>	Faccini-Martínez AA, Ramírez-Hernández A, Forero-Becerra E, et al. Vector-borne and zoonotic diseases 2016; 16: 82-87

Se usaron como controles positivos para la PCR, ADN de cepas de referencia del ICMT-CES de *Salmonella sp.* y *Leptospira sp.*, ADN extraído de la vacuna comercial *Brucella abortus* S19 (VECOL, Bogotá-Colombia) para *Brucella sp.* y el control comercial Amplirun® *Rickettsia* ADN control (Vircell, Granada-España) para *Rickettsia sp.*. Se usó como control negativo agua estéril ultra purificada.

La amplificación se llevó a cabo en un termociclador marca C1000 Thermal cycler (BIORAD, Hercules, CA, USA), siguiendo el siguiente protocolo en **forma individual** para cada agente: desnaturalización inicial de 95°C por 3 minutos, posteriormente 35 ciclos con 3 pasos: desnaturalización a 95°C por 1 minuto, anillamiento de los cebadores a 57°C, 67°C, 58°C y 62°C para *Leptospira*, *Salmonella*, *Brucella* y *Rickettsia* respectivamente por 1 minuto y extensión a 72°C por 1 minuto; posteriormente un ciclo adicional de extensión a 72°C por 5 minutos y un ciclo de refrigeración a 4°C en forma indefinida.

Electroforesis: la visualización de los amplificadores se realizó por medio de un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio 10 mg/ml, se dejó correr en cámara de electroforesis a 100 voltios por 1 hora y 30 minutos, posteriormente se adquirieron las imágenes utilizando un EpiChem Darkroom (UV, Upland, USA).

5.3 Prueba rápida de *Leptospira*

Se utilizó el estuche comercial SD BIOLINE *Leptospira sp.* (SD Bioline, Gyeonggi-do, ABBOT Standard Diagnostics, Korea) para la detección de anticuerpos (IgM, IgG o IgM/IgG) contra *Leptospira interrogans* en suero, plasma o sangre completa de origen humano.

Principio de la prueba: Se basa en la detección de anticuerpos IgG e IgM circulantes en el suero del paciente, contra una proteína de *Leptospira* que está adherida a la membrana de la prueba.

Procedimiento: El estuche y las muestras a utilizar se dejaron atemperar, luego con la micropipeta se tomaron 5 µl de suero y se depositaron en el cuadro más pequeño de la placa, luego se depositaron 3 a 4 gotas del diluyente en el pozo (circulo grande) de la prueba rápida y se esperaron 20 minutos para leer los resultados.

Interpretación de resultados: Un resultado fue negativo si no se observaba color en las líneas IgM e IgG y solo se observaba la línea control; un resultado fue positivo si se observaba color en las línea control y en la línea IgM o IgG según fuera el caso correspondiente.

5.4 Inmunoblot para *Leptospira sp.* y *Salmonella spp.*

Se utilizó el estuche comercial INMUNOTROPIC® para *Salmonella* y *Leptospira* desarrollado y producido por el ICMT-CES con registro INVIMA 2018 RD-0004949. El contenido del estuche INMUNOTROPIC® se puede observar en la tabla 4.

Tabla 4 Componentes del estuche INMUNOTROPIC®

2 soportes para tiras de nitrocelulosa que contienen 8 canales de reacción

Tirillas de nitrocelulosa	
Conjugado enzimático anti ig g humana	1 x 60 mL
Conjugado enzimático anti ig m humana	1 x 60 mL
Solución diluyente	1 x 60 mL
Solución de lavado	1 x 100 mL
Control negativo	1 x 50 mL
Control positivo	1 x 0,05 mL
Cromógeno	1 x 0,05 mL
Diluyente cromógeno	1 x 6 mL

El protocolo detallado de INMUNOTROPIC® es el siguiente: para iniciar el inmunoblot se verificó el número de muestras a realizar, incluyendo los sueros de los pacientes, controles negativo

y positivo. Posteriormente se estableció la distribución e identificación de las muestras y los sueros control y se colocaron las tirillas de nitrocelulosa individualmente en cada canal de la bandeja soporte con una pinza y con el número de la tirilla hacia arriba. Luego se agregó 1 ml de diluyente de muestras a cada canal donde se realizó la reacción, incluyendo los canales donde estaban localizados los sueros controles y se agitaron a temperatura ambiente durante 1 minuto hasta que las tiras estuvieron completamente bien humedecidas. A continuación, se agregaron 10µl de cada muestra a ser ensayada a los canales respectivos, un canal para IgG y otro para IgM por muestra. Se agregó igual volumen de los sueros controles a los canales y se agitaron todas las tirillas durante 1 hora a temperatura ambiente. Pasado el tiempo, se aspiró el contenido de cada canal y se agregó 1 ml de solución de lavado a cada uno de los canales y se lavaron por 5 minutos en agitación. Para evitar la contaminación entre canales, no se dejó que la solución de lavado se desbordara. Luego se aspiró el contenido de cada canal y se repitieron los pasos de lavado dos veces más. Posteriormente, se agregó 1 ml del anticuerpo anti IgG o IgM humano conjugado con peroxidasa de rábano picante en dilución 1:5000 a los canales correspondientes y se agitó por 1 hora a temperatura ambiente. Luego se aspiró el contenido de cada canal y, por último, se repitió el lavado por 5 minutos tres veces. Finalmente, se adicionaron 500 µl de la solución cromógena preparada en el momento de uso mezclando 500 µl de cromógeno en 4.5 ml de diluyente de cromógeno, a cada canal. Se agitó por 10 minutos a temperatura ambiente, luego se aspiró el contenido de cada canal y se realizaron dos breves lavados con agua destilada para interrumpir el desarrollo de color. Luego con una pinza se transfirió las tirillas a un papel absorbente o papel filtro y se dejaron secar al aire libre. No se realizó la interpretación de resultados hasta que las tirillas estuvieron totalmente secas.

5.5 Prueba de Rosa de Bengala

Se utilizó el estuche comercial SPINREACT Rosa de Bengala para determinación cualitativa de anticuerpos anti-*Brucella* en suero (SPINREACT, Girona-España). La muestra a utilizar fue suero, que no estuviese hemolizado o lipemico.

Principio de la prueba: La prueba Rosa de Bengala es una aglutinación en portaobjeto para detectar de forma cualitativa y semicuantitativa anticuerpos totales anti-*Brucella* en suero humano, utilizando partículas de látex y el colorante rosa de bengala. La unión antígeno anticuerpos se evidencia por la presencia de partículas aglutinadas en la placa, debido a la presencia de anticuerpos IgG o IgM en el suero del paciente.

Procedimiento: Se atemperaron el estuche y las muestras a utilizar, luego se depositaron 50 µl de la muestra y una gota de control positivo y negativo en círculos diferentes, se mezclaron bien estas gotas con ayuda de palillos (diferentes) y se agregaron 50 µl del reactivo Rosa de Bengala a cada círculo, se agitó la placa en agitador rotatorio a 100 rpm durante 5 minutos exactamente, debido a que el tiempo prolongado podía dar falsos positivos.

Interpretación de resultados: Se observó macro y microscópicamente la presencia o ausencia de aglutinación en la placa inmediatamente después de terminar el tiempo estipulado; la presencia de aglutinación indicaba la presencia de anticuerpos totales anti-*Brucella*.

5.6 Prueba rápida de dengue

Se utilizó el estuche comercial Dendue Duo (Dengue NS1 AG + IgG/IgM) (SD Bioline, Gyeonggido, ABBOt, Standard Diagnostics, Korea), el cual tiene los siguientes insumos para el ensayo: dispositivo como que incluye detección de IgG/IgM y antígenos NS1 para Dengue, diluyente del ensayo para la prueba IgG/IgM, pipeta capilar de 5 u, gotero e instructivo de uso.

Principio de la prueba: La prueba está diseñada para detectar simultáneamente anticuerpos IgG e IgM y también se detecta en sangre total humano. Cuando una muestra es añadida al pozo de muestras, los IgGs e IgMs anti-dengue en la muestra reaccionaran con los conjugados de oro coloidal y las proteínas recombinantes de la cubierta del virus del dengue y forman un complejo de anticuerpos-antígeno. Como este complejo migra a lo largo de la longitud del dispositivo de prueba por acción capilar, será capturado por IgG antihumano y/o IgM antihumano inmovilizados en dos líneas de pruebas a través del dispositivo de prueba y generan una línea de color.

Procedimiento de la prueba Ag NS1: Se retiró el dispositivo del empaque de aluminio y se puso sobre una superficie plana y seca permitiendo que todos los componentes del estuche estuviesen a temperatura ambiente, luego con un gotero desechable se añadieron 3 gotas de muestra en el pozo (S), se interpretaron los resultados a los 15 a 20 minutos, este resultado no debía ser leído después de 20 minutos, para evitar resultados incorrectos.

Procedimiento de Dengue IgG e IgM: Con una pipeta capilar de 10 μ l se añadió la muestra de suero en el pozo marcado como (S), luego se añadieron cuatro gotas del diluyente del ensayo en el pozo de forma redonda, los resultados se interpretaron de 15 -20 minutos. Este resultado no debía ser leído después de 20 minutos, para evitar resultados incorrectos.

Interpretación de resultados: Un resultado fue negativo si no se observaba color en las líneas IgM e IgG y solo se observaba la línea control; un resultado fue positivo si se observaba color en las línea control y en la línea IgM o IgG según fuera el caso correspondiente y para el Ag NS1 se observaba la banda T y banda C con reacción de color.

6. Resultados

6.1 Características sociodemográficas de los pacientes con síndrome febril

Durante el mes de marzo de 2018 fueron captados en el Centro de Salud del municipio de Lloró 120 pacientes con síndrome febril. La mayor participación correspondió al sexo femenino, 69,2% (83/120). El promedio de edad y la desviación estándar (promedio \pm DE) fue 33,8 \pm 20,7 años, oscilando entre 3 y 79 años. Los grupos de edad con mayor participación fueron el mayor de 50 años (23,3%), seguido de 6 a 10 años (11,7%) y el de 16 a 20 años (9,2%). La mitad de la población de estudio tenía 33,5 años y la edad más frecuente fue 42 años. Tabla 5 El promedio de edad \pm DE por sexo fue 36,5 \pm 20,2 y 27,7 \pm 20,6 años para mujeres y hombres respectivamente.

De acuerdo a la etnia los pacientes 9,3% (112/120) de los pacientes pertenecían a la etnia negra, 5,8% (7/120) eran indígena y un 0,8% (1/120) mestizo.

El 98,3% (118/120) de los pacientes residían en el municipio de Lloró, un paciente provenía de Barranquilla y uno de Quibdó. El 83,3% (100/120) de los pacientes residían en zona urbana y el 16,7% (20/120) en zona rural. Tabla 5

Tabla 5 Características sociodemográficas del total de los pacientes con síndrome febril y de los casos de malaria y de dengue. Lloró, Chocó, 2018

Características	Total		Malaria por gota gruesa		Dengue IgM	
	No.	%	No.	%	No.	%
Sexo						
Hombre	37	30,8	8	21,6	7	18,9
Mujer	83	69,2	4	4,8	12	14,5
Total	120	100	12	10,0	19	15,8
Grupo de edad (años)						
1 a 5	7	5,8	2	28,6	0	0,0
6 a 10	14	11,7	1	7,1	1	7,1
11 a 15	8	6,7	0	0,0	0	0,0
16 a 20	11	9,2	4	36,4	1	9,1
21 a 25	8	6,7	0	0,0	2	25
26 a 30	6	5,0	1	16,7	1	16,7
31 a 35	10	8,3	0	0,0	1	10,0
36 a 40	8	6,7	2	25	1	12,5
41 a 45	9	7,5	0	0,0	2	22,2
46 a 50	11	9,2	1	9,1	4	36,4
50 y más	28	23,3	1	3,6	6	21,4
Etnia						
Negra	112	93,3	11	9,8	18	16,1
Indígena	7	5,8	1	14,3	1	14,3
Mestiza	1	0,8	0	0,0	0	0,0
Zona						
Urbana	100	83,3	10	10,0	16	16,0
Rural	20	16,7	2	10,0	3	15,0

6.2 Frecuencia de malaria de acuerdo a características sociodemográficas, especie de parásitos y aspectos clínicos

La frecuencia de malaria detectada por gota gruesa fue del 10,0% (12/120), por sexo fue de 4,8% (4/83) en el sexo femenino y 21,6% (8/37) en sexo masculino. El promedio de edad de los 12 pacientes positivos para malaria fue $24,5 \pm 17,6$ años y para el sexo femenino fue $25,0 \pm 16,8$ años y para el masculino $24,3 \pm 19,1$ años. La mitad de los casos tenían 18,5 años o menos. El valor máximo de edad de los casos de malaria fue de 58 años y el mínimo de 4 años (1 niña). El grupo con mayor frecuencia de casos de malaria fue el de 16 a 20 años, 36,4% (4/11) seguido del grupo de 3 a 5 años, 28,6% (2/7) y el de 36 a 40 años con 25,0% (2/8). Tabla 5

En cuanto a la etnia se observó una frecuencia de malaria de 9,8% (11/112) en pacientes que pertenecían a la etnia negra y de 14,3% (1/7) de la etnia indígena. La frecuencia de malaria fue igual en la zona rural que en la urbana, 10,0% (2/20) y 10,0% (10/100) respectivamente. Tabla 5

La especie de parásito más frecuente fue *P. falciparum* con un 75% (9/12), *P. vivax* se observó en 25,0% de los casos. La Razón $P. falciparum/P. vivax = 75/25 = 2,5$. El Conteo de parásitos fue mayor para *P. falciparum*: (promedio \pm DE) = 4648 ± 5790 Parásitos x μ l vs. *P. vivax* = $233 \pm 41,6$. Se reportó infección previa de malaria en el 83,3% (10/12) de los pacientes.

En 3,3% (4/120) del total del paciente se observó presencia de gametocitos de *P. falciparum*. sin ningún otro agente causal de fiebre.

Aspectos clínicos

Los casos de malaria fueron captados, en promedio, a los 4 días de la fecha de inicio de síntomas, oscilando entre 1 y 13 días.

Se encontró que los síntomas más frecuentes en pacientes con malaria fueron artralgia (91,7%), cefalea (75,0%) y escalofrío (75,5%). Los datos se pueden observar en la tabla 6

Tabla 6

Características clínicas de los pacientes con malaria e infección reciente por el virus del dengue por presencia de Ac IgM. Lloró, Chocó, 2018

Síntomas clínicos	Total, n= 120		Malaria n = 12		Dengue = 19	
	No.	%	No.	%	No.	%
Generales						
Cefalea	102	85,0	9	75,0	18	94,7
Artralgia	102	85,0	11	91,7	18	94,7
Mialgia	74	61,7	5	41,7	15	78,9
Escalofrío	93	77,5	9	75,0	17	89,5
Dolor retroocular	74	61,7	4	33,3	7	36,8
Astenia/adinamia	54	45,0	0	16,6	15	78,9
Congestión ocular	13	10,8	4	33,3	5	26,3
Edema extremidades	8	6,7	2	16,7	0	0,0
Linfoadenopatía	29	24,2	3	25,0	3	15,8
Respiratorios						
Dolor de garganta	34	28,3	3	25,0	6	31,6
Congestión nasal	33	27,5	3	25,0	6	31,6
Digestivos						
Anorexia	83	69,2	9	75,0	13	68,4
Dolor epigástrico	76	63,3	6	50,0	10	52,6

Nauseas vómito	62	51,7	7	58,3	10	52,6
Melenas	5	4,2	0	0,0	0	0,0
Hematemesis	1	0,8	0	0,0	0	0,0
Genitourinario						
Metrorragias	2	2,4	3	4,2	0	0,0
Hematuria	4	3,3	0	0,0	0	0,0
Cutáneas						
Erupción/brote	31	25,8	4	33,3	5	26,3
Prurito	66	55,0	5	41,7	11	57,9
Petequias	9	7,5	1	8,3	2	10,5
Hemorrágicos						
Purpura equimosis	4	3,3	1	8,3	0	0,0
Epistaxis	6	5,0	1	8,3	0	0,0
Hemorragia gingival	1	0,8	0	0,0	0	0,0

*Denominador número de mujeres = 83

6.3 Pruebas moleculares para *Leptospira sp*, *Salmonella sp*, *Brucella sp* y *Rickettsia sp*

En cuanto a la determinación molecular por PCR, no se obtuvo detección de ADN de ninguno de los agentes de interés en las muestras de los 120 (100%) pacientes del estudio.

6.4 Frecuencia de leptospirosis por prueba rápida e INMUNOTROPIC®

Los 120 (100%) pacientes fueron negativos tanto por prueba rápida como por INMUNOTROPIC® para anticuerpos Ig G e Ig M para *Leptospira sp*.

6.5 Frecuencia de salmonelosis por prueba INMUNOTROPIC®

Frecuencia de anticuerpos IgM contra *Salmonella sp*

No se detectó presencia de anticuerpos tipo IgM en los pacientes con síndrome febril, lo que significa que la causa de esta fiebre no fue por *Salmonella sp*.

Frecuencia de Acs IgG *Salmonella*

Se detectó anticuerpos tipo IgG en 10/120 (8,3%) de los pacientes con síndrome febril

De los positivos, 8/83 (9,6%) pertenecían al sexo femenino y 2/37 (5,4%) al sexo masculino.

En 7 de los 11 grupos estudiados se encontró presencia de este tipo de Acs IgG, siendo el grupo de 36 a 40 años y el de 26 a 30 años los de mayor frecuencia.

El 100% de los pacientes con positividad a anticuerpos IgG para *Salmonella* pertenecían a la etnia negra y el 100% procedían de la zona urbana.

6.6 Frecuencia de brucelosis por Rosa de Bengala

El total de los 120 (100%) pacientes fueron negativos por la prueba Rosa de Bengala para *Brucella abortus*.

6.7 Frecuencia de dengue por prueba rápida.

Frecuencia infección reciente por anticuerpos IgM

La frecuencia de infección reciente por presencia de anticuerpos tipo IgM contra el virus del dengue, fue del 15,8% (19/120) de pacientes seropositivos por la prueba rápida. Según sexo, se

encontró una frecuencia del 14,5% (12/83) en mujeres y un 18,9% (7/37) para sexo masculino; el promedio de edad y la desviación estándar en los positivos fue de $43,2 \pm 17,2$ años. la mayor frecuencia de positivos para anticuerpos IgM se observó en el grupo de edad de 46 a 50 años (36,4%) seguido del 21 a 25 años (25,5%). Al hacer agrupación de los casos de 1 a 25 y mayores de 25 años, la frecuencia fue de 8,3% (4/48) y en el grupo mayor de 25 años fue de 20,0% (15/75). Razón=2,4

En la etnia negra se observó una frecuencia de positivos del 16,1% (18/112) y 14,3% (1/7) de la etnia indígena. se detectaron 16,0% (16/100) pacientes positivos en la zona urbana y un 15,0% (3/20) en la zona rural Tabla 5

Aspectos clínicos

Se encontró que los síntomas más frecuentes en pacientes con infección reciente por dengue (con anticuerpos IgM) fueron cefalea y artralgia (94,7%) y mialgia (78,9%). Tabla 6

Frecuencia de seroprevalencia de Anticuerpos tipo IgG contra el virus del dengue

Se observó una seroprevalencia de anticuerpos tipo IgG contra virus del dengue en un 56,7% (68/120) de los pacientes. En las mujeres la seroprevalencia fue del 63,9% (53/83) y en los hombres del 40,5% (15/37); al agrupar la población de 3 a 25 la seroprevalencia fue de 39,6% (19/48) y en los mayores de 26 años fue de 68,2% (49/72). La seroprevalencia de anticuerpos IgG en la etnia negra fue 59,8% (67/112) y el 14,3% (1/7) en los indígenas. La seroprevalencia observada en la zona urbana 62,0% (62/100) y 30,0% (6/20) en la zona rural. Tabla 12 seroprevalencia de IgG dengue. Tabla 7

Tabla 7. Características sociodemográficas de los pacientes con síndrome febril, según presencia de anti IgG contra Salmonella spp y dengue Lloró, Quibdó, 2018

	Total		Salm IgG		Dengue Ac IgG	
Característica	No.	%	No.	%	No.	%
Sexo						
Hombre	37	30,8	2	5,4	15	40,5
Mujer	83	69,2	8	9,6	53	63,9
Total	120	100,0	10	8,3	68	56,7
Grupo de edad (años)						
1 a 5	7	5,8	1	14,3	0	0,0
6 a 10	14	11,7	0	0,0	5	35,7
11 a 15	8	6,7	0	0,0	3	37,5
16 a 20	11	9,2	0	0,0	6	54,5
21 a 25	8	6,7	1	12,5	5	62,5
26 a 30	6	5,0	1	16,7	2	33,3
31 a 35	10	8,3	1	10,0	4	40,0
36 a 40	8	6,7	2	25,0	7	87,5
41 a 45	9	7,5	0	0,0	4	44,4
46 a 50	11	9,2	1	9,1	10	90,9
Mayor de 50	28	23,3	3	10,7	22	78,6
Etnia						
Negra	112	93,3	10	8,9	67	59,8
Indígena	7	5,8	0	0,0	1	14,3
Mestiza	1	0,8	0	0,0	0	0,0
Zona						
Urbana	100	83,3	10	10,0	62	62,0
Rural	20	16,7	0	0,0	6	30,0

6.8 Identificación de co-infecciones por estos agentes etiológicos

Los 120 (100%) pacientes fueron negativos para coinfecciones entre los agentes infecciosos del estudio, tanto por prueba rápida como por pruebas moleculares.

En total, de los 120 pacientes analizados, 31/120 (25.8%) fueron positivos para algún agente etiológico de los buscados en este estudio.

7. Discusión

En el presente estudio, realizado en marzo del 2018 en el municipio de Lloró, se encontró positividad a algún agente etiológico en 31 (25,8%) de los 120 pacientes con síndrome febril, quedan sin diagnóstico etiológico el 74,1% (89/120). Esto puede ser atribuido a la temporada después de lluvias e inundaciones o momento epidemiológico en el cual se realizó la investigación, La primera causa del síndrome febril en el municipio de Lloró fue malaria, 10,0%, frecuencia que fue más baja que el Índice Parasitario Anual (IPA) reportado para Chocó y para ese mismo municipio por el Instituto Nacional de Salud (INS) en 2018, 112,1 por 1000 habitantes ⁹⁵. Estas diferencias se explican porque la captación de casos fue durante un solo mes del año y posiblemente el momento climático no era de elevado riesgo epidemiológico. El riesgo de infección por malaria fue mayor en el sexo masculino con relación al femenino, lo que coincide con los datos de Colombia con un reporte de 36.448 casos de malaria en hombres y 25.693 en el sexo femenino en 2018 ⁹⁶ y acorde con otros estudios realizados por Ochoa J et al, en la ciudad de Quibdó – Chocó, donde evidenciaron mayor presencia en el sexo masculino que en el sexo femenino, 55,4% y 44,6% respectivamente⁹⁷, además se observó que la etapa productiva fue la de mayor riesgo. Estos resultados están relacionados posiblemente a un mayor desplazamiento de los hombres jóvenes a sitios de trabajo, estos se dedican a la minería, pesca y tala de madera, donde la trasmisión de malaria es mayor. Sin embargo la población infantil también está a riesgo, en el estudio no se indago sobre el estado nutricional de los niños participantes, pero este puede ser uno de los factores causantes de malaria en este grupo de edad, Blair S et al, en una investigación donde compararon dos grupos de niños con malaria y sin ella , frente a su estado nutricional, una de las conclusiones fue que en los niños con deficiencia de Apolipoproteína A1 (apo A1) se presentaba más positividad para malaria , frente a los niños con niveles normales.⁹⁸. En ambas zonas hay presencia de malaria, lo cual se debe a la presencia del vector en ambos sitios o por desplazamiento de las personas a su

lugar de trabajo. La zona urbana de Lloró está rodeada de selava, además el Ministerio de Salud y Protección Social reportó aumento de malaria periurbana en el pacífico donde es endémica e incluyó en el plan decenal su control.⁹⁹

La etnia indígena fue la de mayor riesgo, en contraste con el INS en los que malaria predominó en afrocolombianos 19,8% y 17,7%. Los resultados del presente estudio deben ser interpretados con cautela porque la población indígena que participó fue baja, se requiere una muestra mayor¹⁰⁰

El parásito más frecuente fue *P. falciparum*, coincide con datos de 2018 del INS para Chocó (IFA: 19,3 e IVA=12,9 x 1000 hab) y para Lloró (IFA= 75,7, IVA = 29,8 x 1000 hab).¹⁰⁰

La razón *P.falciparum* /*P. vivax* en lloró tiene un comportamiento semejante a todo el depto. Chocó (2,5 vs 1,5). En África algunas personas de raza negra presentan resistencia a *P. vivax* por la ausencia natural al factor Duffy en sus eritrocitos. OPS, sería importante estudiar este factor en población afrodescendiente en zona endémica de malaria.¹⁰¹

El conteo de parásitos es importante porque permite evaluar si es una malaria clasificada como moderada o severa (*P.falciparum* mayor a 50.000), INS 2018)¹⁰²

En el estudio se reportó un 3.3% de pacientes con gametocitos para *P. falciparum* en la gota gruesa pero que no presentaron trofozoítos,¹⁰³ estos pacientes no fueron tomados como positivos para malaria debido a que solo las personas con trofozoítos son consideradas gota gruesa positiva, pero este hallazgo es importante en la investigación por ser Lloró un municipio endémico ya que estas personas son reservorios del parásito.¹⁰⁴

Este resultado puede indicar una automedicación o tratamientos incompletos, muchos pacientes tomar aralen (cloroquina) la cual actúa sobre los gametocitos de *P. vivax* y no contra los gametocitos de *P.falciparum*.

Los síntomas clínicos que obtuvieron mayor frecuencia entre los pacientes positivos para malaria fueron artralgia, cefalea y escalofrió, los cuales son los síntomas generales para cualquiera de las dos especies, lo que indica que no hay hallazgo de síntomas de alarma para malaria complicada.¹⁰⁵

En 4 pacientes se presentaron manifestaciones en piel poco descritas en la literatura. Este dato podría estar relacionado con otra causa diferente a malaria, se debería profundizar en otros estudios.

Dos casos presentaron manifestaciones hemorrágicas.

Leptospira sp obtuvo resultados negativos tanto en la prueba rápida SD *Leptospira*, INMUNOTROPIC® y PCR utilizadas en este estudio, a pesar de su selva humedad tropical, de posiblemente tener reservorios domésticos y salvajes de la bacteria, además de presentar inundaciones cerca a la fecha de toma de muestras,¹⁰⁶ se puede atribuir a que en el momento del estudio no estaba circulando la bacteria (IgM neg) y tal vez no ha circulado (IgG neg).

Con el método de PCR no se encontraron muestras positivas para ningún agente bacteriano.

Brucella sp no fue positiva con ninguno de los métodos utilizados en esta investigación, a pesar que en este municipio no se han reportado casos de esta enfermedad y que no es un municipio ganadero, se incluyó en la investigación debido a que hay muchos casos de síndrome febril sin diagnóstico, a que es una zona donde se consume queso sin pasteurizar, por lo cual se pensó que fuese un factor de riesgo, pero esto no ha influenciado la aparición de la enfermedad.

Rickettsia sp no obtuvo resultados positivos, se incluyó en la investigación debido a que a pesar que esta no es una zona ganadera si es agrícola y esto permite que puedan presentarse garrapatas, su navegación por río Atrato y cercanía con Urabá Antioqueño donde se reportan casos de la infección, por estas razones es importante realizar vigilancia epidemiológicas en estas zonas tropicales y no centrarse solo en malaria, tener estos silencios epidemiológicos pueden convertirse con el tiempo en brotes; en un estudio realizado por Quintero Vélez JC et al., reportaron seroprevalencia en lugares donde los estudios de síndromes febriles siempre son por los mismos

agentes (malaria, Dengue), seroprevalencia de *Rickettsia* en animales domésticos los cuales representan un factor de riesgo para contraer la enfermedad¹⁰⁷, por último en este estudio muestran los riesgos de transmisión en zonas con deforestación o alteración en sus bosques, según la AT-D (Alerta Temprana de Deforestación) Lloró está incluido en la zona del pacifico con deforestación, es un municipio que está siendo afectado por la minería lo cual conlleva a tala de árboles indiscriminada y la alteración del hábitat de muchas especies silvestres¹⁰⁸

Restrepo et al, 2015 reportaron una frecuencia de dengue más elevada en febriles, Quibdó (28,4%) posiblemente por el uso de más técnicas diagnósticas (Ej. RT-PCR). La distribución por sexo fue semejante (mujeres 46,6%), al igual que lo reportado por INS, 2018 con 53,9% de dengue en hombres. Ninguno de estos pacientes había sido diagnosticado en el Centro de Salud^{109 110}

Según la OMS, en cualquier edad se puede presentar la enfermedad, pero hay mayor riesgo en extremos de la vida en este estudio la mayor frecuencia fue adultos mayores coincide con Restrepo et al, 2015 fue (53,3%) en el grupo de 60-64 años, pero el de menor riesgo el de 40-44 años (9,1%). En contraste con Colombia en donde la tendencia en los últimos años es hacer más frecuente en la edad juvenil, diferencias que pueden ser explicadas por la diversidad de exposición a los criaderos del vector, tema que debe ser estudiado.¹¹¹¹¹²

Ambas etnias mostraron frecuencias similares, semejante a lo reportado por INS en 2018, aunque más elevadas, porque Colombia tiene mayor población mestiza (1,9% afro y 1,5% indígenas).

La frecuencia fue similar entre zona urbana y rural en contraste con lo reportado por INS en 2018, (80,0% de los casos en Colombia son urbanos), y con la India en donde hubo 2.6 veces casos de dengue en la zona urbana con relación a la rural. Shah PS, 2019, sin embargo, hay que darle importancia a la transmisión rural tanto para este municipio como para el resto del país donde la posibilidad de ruralización del dengue, como ya está descrito en otros autores Shah PS, 2019,¹¹³

la sintomatología correspondió a casos de dengue sin signos de alarma, es decir esta evolución benigna de dengue no permite su presunción diagnóstica. Se ha afirmado la protección en la etnia afrodescendiente a las formas graves del dengue en Colombia. (Restrepo BN et al, 2008, Chacon JC, 2014) y en África (Gubler 1998)¹¹⁴¹¹⁵

El 56,7% de la población estudiada ha estado en contacto con el virus del dengue. Se puede afirmar que hay transmisión de dengue en este municipio. Además, se observó mayor seroprevalencia en mujeres, comportamiento similar a otros estudios. En estudios reportados por Restrepo BN, 2004, Piedrahita LD, 2018 en población escolar de Medellín, 52,3% vs. 47,7%. Aunque no hay un consenso frente al riesgo mayor de infección por dengue en las mujeres, se ha sugerido que el riesgo de enfermarse es por permanecer más tiempo en la vivienda en contacto con el vector. Otros estudios tienen resultados diferentes y aun no hay un consenso frente al riesgo mayor por sexo.¹¹⁶¹¹⁷ se encontró mayor exposición al virus del dengue en la población afrodescendiente este puede ser el reflejo de la residencia habitual de estas dos étnicas, el afrodescendiente habita en el área urbana y el indígena habita en caseríos ubicados en la selva.

Se observó mayor riesgo de infección por el virus del dengue en la zona urbana como ha sido la tendencia para esta enfermedad.

se observa una tendencia al aumento de la seroprevalencia a medida que incrementa la edad, por ser mayor el tiempo de exposición en la zona, hallazgos que han sido corroborados por otros autores. Piedrahita LD, 2018, Restrepo BN, 2004¹¹⁶¹¹⁷

El 8,3% de la población estudiada ha estado en contacto con la bacteria *Salmonella*. Se puede afirmar que hay transmisión de salmonelosis.

Además, se observó mayor seroprevalencia en mujeres, lo cual se puede ser atribuido a que por lo general son ellas las encargadas de manipular alimentos y aguas que pueden ser reservorios de las

bacterias y podrían haber sido infectadas anteriormente lo cual explicaría la presencia de anticuerpos IgG. Gunn et al, 2014.¹¹⁸

Se encontró que todos los casos registrados fueron en la población afrodescendiente porque fue el principal grupo consultante.

Se observó mayor riesgo de infección por *Salmonella* spp en la zona urbana.

Se observa una tendencia al aumento de la seroprevalencia a medida que incrementa la edad, hallazgos.

No se evidenció co-infección en esta investigación, se reportaron Acs tipo IgG de *Salmonella* sp en personas que fueron positivas para Acs tipo IgM para dengue, pero esto no indica coinfección entre estos dos agentes debido a que los Acs tipo IgG para *Salmonella* nos indican una seroprevalencia de la enfermedad y no una enfermedad aguda o activa en el momento de la identificación.

Probablemente en Lloró no se han reportado infecciones porque las personas no acuden a el hospital a tiempo y muchos se auto medican en casa y porque la sintomatología de todas estas infecciones es muy similar a la producida por cualquier otro agente de los ya mencionados previamente y una vez el paciente es positivo por ejemplo para malaria recibe este tratamiento pero no se sospecha en la co-infección con otro agente, lo cual puede llevar a la muerte pues en el caso de dengue puede evolucionar a un cuadro grave y en el caso de las infecciones bacterianas si no son tratadas adecuadamente con antibióticos esto puede incluso llevar a la muerte.

Excluyendo la positividad de malaria la cual es endémica para este municipio, se logró determinar la etiología de síndrome febril del 15,8%.

8. Conclusiones y recomendaciones

- Este es el primer estudio realizado en la zona urbana del municipio de Lloró, Chocó en el que se hace búsqueda activa de agentes causantes de síndrome febril.
- Se demostró que en el municipio de Lloró, malaria y dengue son causa importante de síndrome febril.
- La población de mayor riesgo de malaria fueron los hombres en edad productiva, seguido del grupo de 1 a 5 años y la transmisión puede ser urbana y rural. La urbanización de esta infección debe ser comprobada con estudios entomológicos, para aplicar las medidas de control pertinentes.
- Se evidenciaron casos de infección reciente por dengue que no habían sido detectados por los servicios de salud.
- La ruralización de esta infección debe ser comprobada con estudios entomológicos, para aplicar las medidas de control pertinentes. Se recomienda que a los pacientes con síndrome febril con gota gruesa negativa se le debe sospechar dengue para adecuar su manejo.
- Se evidenció la circulación del virus del dengue por presencia de Acs IgG en el municipio de Lloró, transmisión que ha sido durante varios años, demostrado por la elevada frecuencia en la población adulta mayor.
- Se evidenció circulación de *Salmonella* dentro de su población, debido a que se encontraron Acs IgG lo que evidencia la presencia de la bacteria en la zona ya sea a partir de reservorios ambientales o humanos.
- Aunque no se demostró que *Brucella*, *Leptospira* y *Rickettsia* fueran causa de síndrome febril es importante que el personal de salud del municipio sea capacitado para sospechar estas enfermedades dadas las condiciones socio-ambientales

(desplazamientos, hábitos higiénicos, suministro de servicios públicos, clima, etc) del municipio se debe continuar con la búsqueda de estos agentes infecciosos como causa de síndrome febril.

- Aunque no se identificaron co-infecciones de malaria y dengue en el período de estudio, se debe tener presente cuando sea evaluado un paciente dado que es de las co-infecciones más frecuente en zonas endémicas.
- Esta investigación demuestra la importancia de ampliar el diagnóstico de otros agentes infecciosos (dengue y *Salmonella*) de síndrome febril, lo cual permitiría conocer la magnitud del problema, mejorar la vigilancia epidemiológica y aplicar las medidas de intervención pertinentes o adecuadas para disminuir la morbimortalidad de estas infecciones.

9. Limitaciones del estudio

- El tamaño de la muestra y la selección de la misma no fue suficiente para inferir los resultados en la población de Lloró
- La toma de muestras fue en un periodo de tiempo específico (marzo de 2018), si se hubiera realizado el muestreo en momentos diferentes probablemente se hubiera encontrado más casos de infección por diferentes agentes

Perspectivas futuras

- Socializar los resultados obtenidos a los responsables de salud en el municipio de Lloró para generar interés para el mejoramiento del diagnóstico, de los casos de síndrome febril.
- Continuar con esta línea de investigación incluyendo la población indígena, incluir el componente entomológico, ampliar el tamaño de la muestra y el número de muestreos.

Impacto académico, científico y social del trabajo

- Académicamente es importante porque genera expectativa para diferentes grupos de investigación que estén interesados en profundizar sobre las especies, vectores o reservorios de esta zona del departamento del Chocó poco estudiada.
- Impacto a la sociedad Lloroseña, identificación de agentes diferentes a malaria

10. Anexos

Anexo 1. Encuesta

Búsqueda de cinco agentes etiológicos causantes de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó. No. Caso:

Datos socio-demográficos

Nombres _____ y _____ Apellidos completos _____

ID _____

Nombre _____ del acudiente _____

Institución donde lo atienden 1. __ Hospital 2. __ centro de salud 3. __ Casa 4. __ Otra

Municipio de residencia _____

6. Departamento _____ 7. Zona: 1. __ Urbana 2. __ Rural

8. Barrio/vereda _____ 9. Dirección _____

Teléfono o cel. _____ 11. Edad (años): _____

12Sexo: 1. __ Hombre 2. __ Mujer

Datos clínicos

12. Fecha de inicio de fiebre (día/mes/año) _____

13. Fecha toma de muestra (día/mes/año) _____

14. Días de fiebre _____

15. Infecciones previas en el último semestre: 1. __ No 2. __ Si Cuál(es):

Malaria _____ *Salmonella* _____ *Brucella* _____ *Leptospira* _____

Rickettsia _____ Dengue _____ Otras _____

16. Ha presentado estos síntomas en el último semestre

Síntomas y signos	Si	No	Sin dato
Fiebre			
Cefalea			
Dolor retro-ocular			
Mialgias			
Artralgias			
Escalofrío			
Astenia			
Anorexia			
Erupción			
Náuseas y vómitos			
Epigastria/dolor abdominal			
Linfadenopatias			
Congestión nasal/rinorrea			
Dolor de garganta			
Congestión ocular			
Brote			
Prurito			
Petequias			
Púrpura/equimosis			
Epistaxis			
Hematemesis			
Melenas			
Metrorragias			
Hematuria			
Hemorragia gingival			
Edemas en extremidades			
Hospitalizado			
¿Otro Cuál?			

17. Observaciones

Resultados de laboratorio

18.

Agente/prueba dx	Gota gruesa	PCR	Serología	Rosa de Bengala	de	Observaciones
Malaria						
Tipo de parásito						
Recuento						
<i>Brucella</i>						
<i>Salmonella</i>						
<i>Leptospira</i>						
<i>Rickettsia</i>						

Elaboró:

Anexo 2. Consentimiento informado

Consentimiento Informado

Búsqueda de cinco agentes etiológicos causantes de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó.

Investigadora principal del proyecto: Miryan Margot Sánchez Jiménez. Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES.

Co-Investigadores: Náyade Córdoba Rentería. Instituto Colombiano de Medicina Tropical, Universidad CES, Sabaneta, Antioquia.

Este documento describe el propósito del estudio, sus posibles riesgos y beneficios y los derechos que usted tiene como participante en él. Por favor, tómese el tiempo necesario para tomar su decisión. La decisión de participar o no en este estudio es solamente suya. Por favor no firme, a menos, que se sienta satisfecho con las respuestas a sus preguntas. Si usted decide participar, por favor asegúrese de firmar y poner la fecha al final de la última página de este formulario.

¿POR QUE HACEMOS ESTE ESTUDIO?

El paludismo, o malaria, es una enfermedad mortal causada por la picadura de mosquitos hembra del género *Anopheles*, su agente infeccioso *Plasmodium spp* tiene cuatro especies que afectan a humanos: *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. vivax*, [OMS, 2016]. En el año 2016 en Colombia se reportaron 990, con 39 muertes. El 56,4 % de las muertes las registró el departamento del Chocó [INS, 2016]. En el municipio de Lloró en el año 2016 se presentaron 3,134 casos de malaria de los cuales 374 fueron por malaria mixta, por *P. falciparum* 1,731, por *P. vivax* 1,029, en el año 2017 *P. falciparum* 528, *P. vivax* 449, [INS,2016]

La leptospirosis es una zoonosis reemergente de gran incidencia en regiones tropicales debido a factores ambientales, climáticos y sociales que favorecen la transmisión. El agente etiológico es

Leptospira spp, bacteria que puede infectar a la mayoría de especies de mamíferos cuando entran en contacto directo o indirecto con agua o suelo contaminado con orina de animales infectados. [Johnson M, 2004]. En Colombia, la enfermedad es considerada como un evento de notificación obligatoria e individual al sistema nacional de vigilancia (SIVIGILA) desde el año 2007 y ha cobrado mayor interés para las autoridades sanitarias especialmente por el incremento de casos relacionados con las temporadas de lluvia e inundaciones ocurridas en el país durante los últimos años. [INS,2016] Las entidades territoriales con mayor número de casos según procedencia fueron Antioquia, Valle del Cauca, Tolima, Bolívar y Chocó con el 58 % del caso. [INS,2016] Según datos de la secretaria de salud departamental del Chocó, se reportó en el año 2014 dos casos de Leptospirosis, en el año 2015 seis, en el 2016 nueve. [secretaria de salud departamental]

Salmonella spp es un género bacteriano perteneciente a la familia Enterobacteriaceae constituido por bacilos gramnegativos intracelulares anaerobios facultativos con flagelos periticos. Constituye un grupo importante de patógenos para animales y humanos. Está compuesto por dos especies: *S. enterica* y *S. bongori* de las cuales la *S. enterica* representa la especie de mayor patogenicidad. [Perez, 2014]. En datos proporcionados por la secretaria de salud departamental del Chocó, en el año 2012 se reportaron dos casos de salmonelosis, en el 2013 se reportaron 28 casos, 2014 ocho, 2015 tres, 2016 dieciséis y en 2017 un caso reportado. [secretaria de salud departamental -Chocó]

En el municipio de Lloró no se reportan casos

La brucelosis es una zoonosis producida por distintas especies del Género *Brucella spp*, cuyas fuentes de infección y organismo responsable varían en función de la zona geográfica. La bacteria *Brúcella spp* puede infectar al ganado vacuno, las cabras, los camellos, los perros y los cerdos.

La bacteria se puede diseminar a los humanos si este entra en contacto con carne infectada, la placenta de animales infectados, si bebe leche o come queso sin pasteurizar [Rodríguez M,2001]. Las bacterias del género *Rickettsia spp* pueden ser patógenas para hospederos vertebrados e invertebrados, varias de las especies de este género han sido la causa de numerosas epidemias en todo el mundo. Algunas de los más importantes brotes registrados en la historia son el de tifus, que causó. [Quintero J, 2012]

¿QUE PASARÁ DURANTE EL ESTUDIO?

se procederá a tomar una muestra de 5 a 7 ml de sangre en un tubo sin anticoagulante con gel y 5 ml de sangre en un tubo con anticoagulante EDTA, y de 5 ml en los niños. También se tomará gota gruesa para el diagnóstico de malaria

Adicionalmente nos autorizará a tomar datos clínicos, de laboratorio y a realizar análisis especializados a partir de la muestra que fue recolectada.

¿CUALES SON LOS RIESGOS EN EL ESTUDIO?

La toma de la muestra de sangre puede causar:

- Pequeña molestia al momento de introducir la aguja.
- Hematoma en el sitio de la punción que desaparece en pocos días.
- En raras ocasiones mareo o infección en el lugar de la punción.
- La cantidad extraída de sangre no causa anemia.

¿CUÁLES SON LOS BENEFICIOS AL FORMAR PARTE DEL ESTUDIO?

Su participación Identificar cinco agentes etiológicos causantes de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó.

¿QUIÉN PUEDE PARTICIPAR EN EL ESTUDIO?

Puede participar cualquier persona, de cualquier edad, niños mayores a 3 años. La información suministrada a los integrantes del estudio será confidencial. A cada paciente se le asignará un código que permitirá su identificación durante el análisis de los datos. Las muestras tomadas serán almacenadas en el Instituto Colombiano de Medicina Tropical.

La participación en el estudio será voluntaria y no tendrá ningún costo, Usted tampoco recibirá compensación económica. Usted podrá retirarse del estudio en el momento en que lo considere necesario, sin que esto traiga consecuencias.

CONSENTIMIENTO DEL PARTICIPANTE, DEL PADRE/MADRE/TUTOR SI ES MENOR DE EDAD.

Se contestaron todas mis preguntas con satisfacción. Me han explicado que la participación en este estudio es voluntaria y que se puede dejar de participar en cualquier momento, si así se desea.

Autorizo la toma de la muestra de sangre para ser usada en la investigación y para que los investigadores puedan usar la información recolectada.

Firma del participante: _____

Firma del Padre o Acudiente: _____

Fecha: _____

Firma del investigador: _____

Nombre: _____ Fecha: _____

Firma del testigo: _____

Nombre: _____ Fecha: _____

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MUESTRAS ADICIONALES

Fecha: Día ___ Mes ___ Año ____

Número de Identificación del Paciente: _____

Paciente: _____

Primer Apellido Segundo Apellido Primer Nombre Segundo Nombre

T.I o C.C # _____

Padre o Acudiente _____

Nombres Apellidos

C.C #: _____

Búsqueda de cinco agentes etiológicos causantes de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó.

Muestras adicionales

Autorizó que las muestras de sangre tomadas a mí en este estudio puedan ser utilizadas en otros estudios realizados por el ICMT-CES.

Las muestras serán guardadas en el Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES. Sin embargo, otras enfermedades también importantes podrían ser estudiadas en esas

muestras. Por lo tanto, como parte de este estudio, los investigadores planean guardar muestras adicionales de sangre con el fin de estudiar otras enfermedades. Las muestras serán identificadas solo por códigos, de modo tal que su nombre no será identificado.

Si Usted desea que los investigadores guarden muestras adicionales, por favor firme abajo para indicar su deseo de dar permiso a los investigadores de guardar muestras adicionales para futuros estudios.

Cualquier estudio adicional usando sus muestras serán revisadas por los Comités de Ética institucionales de los investigadores, un comité que chequea estudios médicos para proteger los derechos de los voluntarios.

Usted puede cambiar de parecer en cualquier momento acerca de permitir que muestras suyas sean usadas en estudios futuros. Si es así contacte a los investigadores y hágalos saber de su decisión.

Firma del participante: _____

Firma del Padre o Acudiente: _____

Fecha: _____

Firma del investigador: _____

Nombre: _____ Fecha: _____

Firma del testigo: _____

Nombre: _____ Fecha: _____

Si usted tiene alguna pregunta acerca de la investigación, por favor contacte a Miryan Margot Sánchez Jiménez, teléfono: 3053500 ext: 2316 o Náyade Córdoba Rentería cel:3134108545
Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES

Anexo 3. Asentimiento informado

Instituto Colombiano de Medicina Tropical

Investigadora Principal: Dra. Miryan Margot Sánchez Jiménez,

Mi nombre es: _____ Fecha ___/___/_____

Le estamos preguntando si desea tomar parte de este estudio de investigación, debido a que estamos desarrollando una búsqueda de cinco agentes etiológicos causantes de síndrome febril utilizando estrategias de diagnóstico directo, serológico o molecular en Lloró-Chocó

Si Usted está de acuerdo en participar en este estudio, le hablaremos a Usted y a sus padres acerca de cómo se siente, lo examinaremos y le tomaremos unas muestras de sangre en su brazo con una aguja y una muestra del dedo.

Lo molestará un poco cuando tomemos la muestra de su brazo, debido a la aguja y en el dedo debido al punzado, pero ninguna de las otras cosas que haremos le causará molestia alguna.

Por favor hable sobre esto con sus padres antes de decidir si va a participar en el estudio o no.

También le vamos a preguntar a sus padres si dan su permiso para que Usted tome parte del estudio.

Pero aún si sus padres dicen que “sí”, Usted puede decidir que no tomará parte.

Estar en este estudio es su decisión. Si no desea estar en el estudio, no tiene que hacerlo, nadie se enojará si Usted no desea participar o aún si cambia de opinión más tarde en el estudio y desea no continuar.

Usted puede preguntar todas las dudas que tenga acerca del estudio. Si después se le ocurre alguna pregunta que no se le ocurra ahora, puede llamarme al teléfono **3053500 ext. 2316**.

Firmar su nombre al final, significa que Usted está de acuerdo en participar en este estudio. Si Usted decide no participar o cambia de opinión después, sus médicos continuarán cuidándolo como si Usted estuviera en el estudio. Usted y sus padres recibirán una copia de este formato una vez se ha firmado.

Nombre: _____ Fecha: _____

Firma del investigador: _____

Nombre: _____ Fecha: ___/___/___

Firma del testigo #1: _____

Nombre: _____ Fecha: ___/___/___

Firma del testigo # 2: _____

Nombre: _____ Fecha: ___/___/___

Si tiene alguna pregunta acerca de la investigación, por favor contacte a la Dra. Miryan Margot Sánchez Jiménez, teléfono: 3053500 ext: 2316 o 2280, Instituto Colombiano de Medicina Tropical.

11. Referencias

¹Cortés A, Romero L, Aguirre C, et al. Enfoque clínico del síndrome febril agudo en Colombia. Grupo de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Facultad de Medicina Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939216000138a>, Universidad Nacional de Colombia. aceptado el 20 de noviembre de 2015. Disponible en: : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939216000138>

² Organización Mundial de la Salud. Paludismo. Malaria. [Consultado: 25/01/2019]. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>

³ Tchuinkam T, Nyih-Kong B, Fopa F, et al. Distribution of Plasmodium falciparum gametocytes and malaria-attributable fraction of fever episodes along an altitudinal transect in Western Cameroon. Malaria Journal;2015 14:96. DOI: 10.1186/s12936-015-0594-6. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25889511>.

⁴ Organización Mundial de la Salud. Informe Mundial sobre el Paludismo 2015. [Consultado: 08/082017]. Disponible en: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2015/report/es/>

⁵ Instituto Nacional de Salud. Protocolo de Vigilancia en Salud Pública. Consultado:10/08/2017 Disponible en: <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2016%20Bolet%20C3%ADn%20epidemiol%20C3%B3gico%20semana%2052%20-.pdf>

⁶ Secretaria de Salud Departamental. Consultado: 17/09/2019. Disponible en: oficina de epidemiología. Primi Cecilia profesional especializado

⁷ Flores R. La situación actual de las zoonosis más frecuentes en el mundo. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Microbiología Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), México, D.F. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2010/gm106j.pdf>

⁸ Johnson M, Hannah S, Joseph P, et al. Environmental Exposure and Leptospirosis, Perú. 2004 Jun; 10(6):1016–1022. PMID: PMC3323149. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3323149/>

⁹ Organización Mundial de la Salud. Leptospirosis humana: guía para el diagnóstico, vigilancia y control. [consultado 12/09/2017]. Disponible en: <http://www.med.monash.edu.au/microbiology/staff/adler/guia-esp.pdf>

¹⁰ Organización Panamericana de la Salud. Información general: leptospirosis.[consultado 15/09/2017] Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=7821%3A2012-informacion-general-leptospirosis&catid=4784%3Aleptospirosis-contents&lang=es

¹¹ Agudelo P, Arango J, Merizalde E et al, Evidencia serológica de circulación de *Leptospira* spp en *Rattus norvegicus* naturalmente expuestos en una zona urbana colombiana. Instituto Colombiano de Medicina Tropical–Universidad CES, Colombia. pagudelo@ces.edu.co Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Colombia. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rsap/v12n6/v12n6a11.pdf>

¹² Instituto Nacional de Salud. Boletín epidemiológico semana 52. [Consultado 23/08/2017]. Disponible en : <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Paginas/default.aspx>

¹³ Instituto Nacional de Salud. Reporte Sivigila-Chocó.[consultado 21/01/2019].Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscadoreventos/BoletinEpidemiologico/2017%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2051.pdf>

¹⁴ Instituto Nacional de Salud. reporte SIVIGILA-Chocó [consultado21/01/2019].Disponible: <https://www.ins.gov.co/buscadoreventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>

¹⁵ Rodríguez M, Pousa A, Pons C et al. la Brucelosis como enfermedad profesional: estudio de un brote de transmisión aérea en un matadero. Rev. Esp. Salud Publica vol.75 no.2 Madrid mar./abr. 2001. Centro Nacional de Epidemiología (Programa de Epidemiología Aplicada de Campo). Instituto de Salud Carlos III.

Ministerio de Sanidad y Consumo. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272001000200008

¹⁶ Ministerio de la protección Argentina. Enfermedades infecciosas brucelosis-2013. [consultado 23/08/2017]. Disponible en: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000304cnt-guia-medica-brucelosis.pdf>

¹⁷ Lucero NE, Ayala SM, Escobar GI, et al. *Brucella* isolated in humans and animals in Latin America from 1968 to 2006. *Epidemiol Infect.* 2008; 136(4):496-503. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17559694>

¹⁸ Calderón A, Angulo L, Tique V, et al. Seroprevalencia de brucelosis bovina en dos localidades del Caribe colombiano. * Universidad de Córdoba, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Montería, Córdoba. Email: alcaran1@yahoo.com -2015. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v19n2/v19n2a07.pdf>

¹⁹ Parra M, Durango J, Mátta S. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella* Revista: Revista MVZ Córdoba 2002 7(2). Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/693/69370201/>

²⁰ Organization Mundial de la Salud. *Salmonella* no tifoidea. Consultado 02/10/2017. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/es/>

²¹ Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. [consultado 25/09/2017]. Disponible en: <http://new.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroETAs/modulo2/modulo2z1.html>

²² Instituto Nacional de Salud. Reporte de SIVIGILA Chocó. Consultado [28/01/2019]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>

²³Wijesinghe A, Gnanapragash N, Ranasinghe G et al. Fatal co-infection with leptospirosis and dengue in a Sri Lankan male. *Journal List BMC Res Notes* v.8; 2015 PMC4534057. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4534057/>

²⁴ Organización Mundial de la salud. Dengue y Dengue grave. [consultado 28/01/2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>

²⁵ Instituto Nacional de salud. Reporte de SIVIGILA. [consultado 28/01/2019] <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2028.pdf>

²⁶ Instituto Nacional de salud. Reporte de SIVIGILA. [consultado 28/01/2019. Disponible:] <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>

²⁷ Cortés JA, Romero-Moreno LF, Aguirre-León CA, Pinzón-Lozano L, Cuervo SI. Enfoque clínico del síndrome febril agudo en Colombia. *Infectio* [Internet]. 28 de febrero de 2016 [citado 4 de septiembre de 2017]; Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0123939216000138>

²⁸ Corporación Autónoma para el Desarrollo Sostenible del Chocó (CODECHOCÓ). [consultado 28/08/2017]. Disponible en: <http://codechocó.gov.co/portalwp/>

²⁹ Instituto Nacional de Salud. Boletín epidemiológico semana 52. [consultado 28/01/2018]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>

³⁰ Organización Mundial de la Salud. Paludismo. Notas descriptiva. [Consultado: 08/08/2017]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/es/>

³¹ Organización Mundial de la Salud. ¿Transmiten todos los mosquitos el paludismo?. [consultado 28/08/2017]. Disponible en: <http://www.who.int/features/qa/10/es/>

³² Center for disease control and prevention. [citado 22/08/2017]. Disponible en : <https://www.cdc.gov/dpdx/malaria/index.html>

³³ Ministerio de Salud y protección social. Malaria memorias. [consultado 27/08/2017]. Disponible en: https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/memorias_malaria.pdf

³⁴ Echeverry D, Barreto D, Osorio L . Malaria por Plasmodium vivax transmitida por transfusión de un donante asintomático a un recién nacido prematuro. Revista del instituto nacional de salud Biomedica. Disponible en: <https://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/594>

³⁵ Malaria de transmisión vertical. protocolo de diagnóstico. Unidad de Patología Infecciosa e Inmunodeficiencias de Pediatría. Disponible en: <http://www.upiip.com/sites/upiip.com/files/Malaria.%202015.pdf>

³⁶ Organización Mundial de la salud. Datos y cifras.[consultado 14/08/2019].disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria>

³⁷ Organización Mundial de la Salud. 10 datos de malaria. [consultado 24/08/2017]. Disponible en: <http://www.who.int/features/factfiles/malaria/es/>

³⁸ CARMONA F, Jaime. La malaria en Colombia, Antioquia y las zonas del Urabá y Bajo Cauca: panorama para interpretar la falla terapéutica antimalárica. Biomédica. Bogotá Vol. 16, N° 4. 2003; p 299 – 316.

³⁹ Instituto Nacional de Salud.boletin epidemiológico semana 52. [consultado 18/01/2019]disponible en: [http://www.ins.gov.co/buscador-
eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf](http://www.ins.gov.co/buscador-
eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf)

⁴⁰ Alcaldía municipio de Lloró Chocó. [citado 30/01/2017. Disponible en:] http://www.lleró-chocó.gov.co/informacion_general.shtml

⁴¹ Esquema del Ordenamiento Territorial del Municipio de Lloró 2000-2008 [citado 27/02/2018]. Disponible en: <file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/DIAGNÓSTICOI.pdf>

⁴² Protocolo de vigilancia en salud pública. Leptospirosis código 455. [consultado /01/2019]. disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/ZIKA%20Lineamientos/PRO%20Leptospirosis.pdf>

⁴³ Campuzano G, Blair S. Malaria: consideraciones sobre su diagnóstico. Módulo 1 (La clínica y el laboratorio), número 81. Editora Médica Colombiana. 2010©. Recibido el 5 de agosto, 2010; aceptado el 20 de agosto, 2010. Disponible en: <http://132.248.9.34/hevila/Medicinalaboratorio/2010/vol16/no7-8/1.pdf>

⁴⁴Ministerio de salud y protección social. Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento.Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/manual-diagnostico-malaria-no-complicada.pdf>

⁴⁵ Agudelo P, Restrepo B, Arboleda M. Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. Instituto Colombiano de Medicina Tropical-Universidad CES, Medellín, Colombia. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2007000900017

⁴⁶ Acha, P, Zyfres, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y los animales. 2º edición. Publicación Científica N° 503, OPS, Washington DC, 1986, pág. 112-120. Disponible en: <file:///C:/Users/PERSONAL/Downloads/Acha-Zoonosis-Spa.pdf>

⁴⁷ Instituto Nacional de Salud subdirección de vigilancia y control en salud pública grupo zoonosis. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/Informe%20de%20Evento%20Epidemiolgico/Brucelosis%20Humana%202009.pdf>

⁴⁸ Torres M, Hernandez S, Agudelo P at el,Revision actual de la epidemiologia de la leptospirosis. Disponible en:<http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2016/im165k.pdf>

⁴⁹ Góngora A, Parra J, Aponte L. Seroprevalence of Leptospira spp. In population groups of Villavicencio, Colombia. Rev Salud Pública.2008;10:269-78.Disponible en : http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642008000200007

⁵⁰ Leptospirosis.[consultado 19/01/2019].disponible en:https://www-clinicalkey-es.bdigital.ces.edu.co:2443/#!/content/clinical_overview/67-s2.0-2a829757-0404-4e1c-b97c-16a1a826d1e7

⁵¹ Schreier S, Douchawee G, Chadsuthi S, Triampo D, Triampo W. Leptospirosis: current situation and trends of specific laboratory tests. *Expert Rev Clin Immunol* [Internet]. 2013;9(3):263–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23445200>

⁵² ELISA IgM para el diagnóstico de *Leptospira*. [consultado 18/01/2019]. disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/normatividad/proctec/MET-CNSP007%20Ed01%20elisa%20IgM%20DIAGNÓSTICO%20LEPTOSPIRA.pdf>

⁵³ Abgueuen P. Leptospirosis. *EMC - Tratado Med* [Internet]. 2014;18(4):1–10. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S163654101469228X>

⁵⁴ Guía para la vigilancia para el laboratorio de *Leptospira spp* disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Gu%C3%ADa%20para%20la%20vigilancia%20por%20laboratorio%20de%20Leptospira%20spp.pdf>

⁵⁵ Perolat, Merien F, Ellis WA. Characterization of *Leptospira* isolates from serovar hardjo by ribotyping, arbitrarily primed PCR, and mapped restriction site polymorphisms. *Laboratoire des Leptospires, Institut Pasteur, Nouméa, New Caledonia. J Clin Microbiol.* 1994 Aug;32(8):1949-57. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7989548>

⁵⁶ Durango J, Arrieta G, Matar S. Presencia de *Salmonella spp*. En un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública. Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba, Montería, Córdoba, Colombia. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/843/84324111.pdf>

⁵⁷ Jawetz, *Microbiología médica, 27e*, McGraw-Hill Medical

⁵⁸ Ochoa T, santiesteban J et al. *Salmonella*. disponible en: <https://www-clinicalkey-es.bdigital.ces.edu.co:2443/#!/content/book/3-s2.0-B9780323376921001118?scrollTo=%23h10001014>

⁵⁹ *Salmonella*. Disponible en:<https://www-clinicalkey-es.bdigital.ces.edu.co:2443/#!/content/book/3-s2.0-B9780323376921001118?scrollTo=%23h10000712>

⁶⁰ Organización Mundial de la Salud. fiebre tifoidea. [consultado 19/01/2019]. disponible:<https://www.who.int/mediacentre/factsheets/typhoid/es/>

⁶¹ Organización Panamericana de la Salud. Alerta Epidemiológica *Salmonella* entérica serovar Typhi haplotipo H58. Disponible en:https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=2018-9582&alias=46631-10-de-octubre-de-2018-salmonella-enterica-serovar-typhi-alerta-epidemiologica&Itemid=270&lang=es

⁶² Instituto nacional de salud. Protocolo de vigilancia y control de fiebre tifoidea y paratifoidea. [consultado 13/02/2019]. Disponible en:
<https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/FIEBRE%20TIFOIDEA%20Y%20PARATIFOIDEA.pdf>

⁶³ Instituto Nacional de salud. Características de los aislamientos de *Salmonella* spp. [consultado en: 13/02/2019]. Disponible en:
<https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/FIEBRE%20TIFOIDEA%20Y%20PARATIFOIDEA.pdf>

⁶⁴ *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. Universidad UNAM. Disponible en: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap4/>

⁶⁵ Tam FC1, Ling TK, Wong KT et al, The TUBEX test detects not only typhoid-specific antibodies but also soluble antigens and whole bacteria. Send to
J Med Microbiol. 2008 Mar;57(Pt 3):316-23. doi: 10.1099/jmm.0.47365-0PL. Disponible en:<https://jmm.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.47365-0#tab2>

⁶⁶ Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. [consultado 29/01/2019]. Disponible:
<http://new.paho.org/arg/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroETAs/modulo2/modulo2p.html>

⁶⁷ Guzman R, Contreras A, Avila et al, Brucellosis: a zoonosis of importance in Mexico. Rev. chil. infectol. vol.33 no.6 Santiago dic. 2016 .Disponible en:https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000600007

⁶⁸ Instituto Nacional de Salud. comportamiento de los casos de brucelosis notificados al SIVIGILA hasta en el año 2009.[consultado 20/08/2017]. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/SubdireccionVigilancia/Informe%20de%20Evento%20Epidemiol%C3%A9gico/Brucelosis%202008.pdf>

⁶⁹ Segura J.Brucelosis.Disponible en:https://www-clinicalkey-es.bdigital.ces.edu.co:2443/#!/content/guides_techniques/52-s2.0-mt_fis_42

⁷⁰E Gordon,Richard F.*Brucella* .Disponible en:<https://www-clinicalkey-es.bdigital.ces.edu.co:2443/#!/content/book/3-s2.0-B9788491130154002070?scrollTo=%23hl0000142>

⁷¹ Guarnizo L. Estudio Descriptivo de la presentación de brucelosis humana en Colombia desde 2000 hasta 2012. Rev. Med. Vet. ISSN 0122-9354: N° 28 julio-diciembre del 2014, páginas 67-79. Recibido: 7 de julio del 2014. Aceptado: 4 de agosto del 2014. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n28/n28a07.pdf>

⁷² Casa comercial SPRINREACT. Disponible en: <http://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/SEROLOGIA%20Y%20SEROLOGIA%20FEBRIL/1200901%20Rosa%20Bengala.pdf>

⁷³Abdad MY, Abou Abdallah, Fournier et al. A Concise Review of the Epidemiology and Diagnostics of Rickettsioses: Rickettsia and Orientia spp. J Clin Microbiol. 2018 Jul 26;56(8). pii: e01728-17. doi: 10.1128/JCM.01728-17. Print 2018 Aug. Disponible en: <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.bdigital.ces.edu.co:2443/pubmed/?term=A+Concise+Review+of+the+Epidemiology+and+Diagnostic+s+of+Rickettsioses%3A+Rickettsia+and+Orientia+spp>

⁷⁴ Suarez R, Hidalgo M, Niño N et al, Las rickettsias como agentes etiológicos de entidades febriles no diagnosticadas en Colombia.Disponible en: https://publicacionesfaciso.uniandes.edu.co/sip/data/pdf/Las_rickettsias_como_agentes_etiologicos.pdf

⁷⁵ Hidalgo M, Alvaro A, Martínez F et al, Rickettsiosis transmitidas por garrapatas en las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia. Disponible: doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v33i0.1466>

⁷⁶ Quintero J, Hidalgo M, Rodas J. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. Grupo de investigación Centauro, Sistema de Información Científica Redalyc Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia. Colombia. Grupo de Enfermedades Infecciosas, Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, D.C. Colombia. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49923387009>

⁷⁷ Venzel J. Epidemiology of rickettsioses by *Rickettsia parkeri* and other emerging and reemerging species associated with anthropization in Latin America. Acta méd. costarric vol.55 suppl.1 San José Jul. 2013. Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022013000400010

⁷⁸ Informe Quincenal Epidemiológico Nacional IQEN. Consultado [3/02/2019]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/IQEN/IQEN%20vol%202021%202016%20num%209.pdf>

⁷⁹ Quintero Vélez JC, Aguirre-Acevedo DC, Rodas JD, Arboleda M, Troyo A, Vega Aguilar F, et al. (2018) Epidemiological characterization of incident cases of *Rickettsia* infection in rural areas of Urabá region, Colombia. PLoS Negl Trop Dis 12 (10): e0006911. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006911>

⁸⁰ Centers for Disease Control and Prevention CDC. [consultado 1/02/2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/zika/hc-providers/clinicalevaluation.html>

⁸¹ Organización Mundial de la Salud. Dengue. [consultado: 03/02/2019]. Disponible en: <https://www.who.int/topics/dengue/es/>

⁸² Ministerio de Salud y Protección Social. [consultado 03/02/2019]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/salud/publica/PET/Paginas/dengue.aspx>

⁸³ Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades CENAPRECE. Enfermedades transmitidas por vectores. [consultado 04/02/2019]. Disponible en: <http://www.cenaprece.salud.gob.mx/programas/interior/vectores/dengue/vector.html>

⁸⁴ Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Emergentes y Zoonóticas. División de enfermedades transmitidas por vectores CDC. [consultado 04/02/2019]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/zika/pdfs/spanish/MosquitoLifecycle-sp.pdf>

⁸⁵ Organización Mundial de la Salud OMS. Dengue y Dengue grave. [consultado 04/02/2019]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>

⁸⁶ Organización Panamericana de la Salud (OPS). Alerta Epidemiológica Dengue. [consultado 04/02/2019]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=dengue-2158&alias=47046-21-de-noviembre-de-2018-dengue-alerta-epidemiologica&Itemid=270&lang=en

⁸⁷ Instituto Nacional de Salud (INS). Boletín Epidemiológico. [consultado 04/02/2019]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2052.pdf>

⁸⁸ Organización Panamericana de la Salud (ops). información general [consultado: 04/02/2019]. Disponible en: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4493:2010-informacion-general-dengue&Itemid=40232&lang=es

⁸⁹ Sánchez-Jiménez MM, Cardona-Castro N. Diseño y evaluación de una prueba de PCR para detección de *Brucella* spp. y *Brucella abortus*. Rev CES Med Zootec. 2013; Vol 8 (2): 73-82. Disponible en: http://www.scielo.org.co/bdigital.ces.edu.co:2048/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1900-96072013000200007&lang=pt

⁹⁰ Pinhua LeiHua TangShijia Ding et al. Determination of the invA gene of Salmonella using surface plasmon resonance along with streptavidin aptamer amplification. Microchimica Acta, 2014, Volume 182, Number 1-2, Page 289. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00604-014-1330-6>

⁹¹ Labruna M, Whitworth T , Horta M et al. Especie de *Rickettsia* que infecta garrapatas de *Amblyomma cooperi* de un área en el estado de São Paulo, Brasil, donde la fiebre manchada de Brasil es endémica. *J Clin Microbiol* . 2004 enero; 42 (1): 90–98. doi: 10.1128 / JCM.42.1.90-98.2004. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321730/>

⁹² Fernández S. Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Complejo Hospitalario Juan Canalejo. Estudios clínicos epidemiológicos. Disponible en: https://www.fisterra.com/mbe/investiga/6tipos_estudios/6tipos_estudios2.pdf

⁹³ Alcaldía municipal de Lloró. [Consultado 27/02/2018]. Disponible en: <http://www.lloró-chocó.gov.co/index.shtml?apc=Cvxx--1980283&x=1775252>

⁹⁴ Instituto Nacional de Salud. Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento. [consultado 23/08/2017]. Disponible: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Red-Nacional-Laboratorios/Documentos%20de%20inters%20SRNL/Manual%20para%20el%20%20Diagnóstico%20de%20Malaria%20no%20complicada%20en%20puestos%20de%20diagn%20y%20tratamiento%20%20ISBN%202015.pdf>

⁹⁵ Secretaria de salud departamental. Informe de evento de malaria-Chocó periodo. XII. disponible en: oficina de epidemiología, responsable primi Cecilia, profesional especializada.

⁹⁶ Instituto Nacional de Salud. informe epidemiológico de malaria periodo epidemiológico XIII de 2018. [Consultado: 12/04/2019]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/MALARIA%20PE%20XIII%202018.pdf>

⁹⁷ OCHOA, Johanna and OSORIO, Lyda. Epidemiology of urban malaria in Quibdo, Choco. *Biomédica* [online]. 2006, vol.26, n.2 [cited 2019-04-12], pp.278-285. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572006000200011&lng=en&nrm=iso

⁹⁸ Blair S, Carmona J, Correa A. Malaria en niños: relaciones entre nutrición e inmunidad. *Revista panamericana de salud*. Scielo. Disponible en: <https://www.scielosp.org/pdf/rpsp/2002.v11n1/05-14/es>

⁹⁹ Ministerio de salud y protección social. Frenar transmisión urbana es reto contra la malaria [consultado 22/04/2019]. Disponible:

<https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Frenar-transmision-urbana-es-reto-contra-la-malaria--.aspx>

¹⁰⁰ Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal. <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2018%20Bolet%C3%ADn%20epidemiol%C3%B3gico%20semana%2036.pdf>

¹⁰¹ Ambiente ecológico. [consultado 23/04/2019]. disponible en:

<http://www.ambiente-ecologico.com/revist58/paludi58.htm>

¹⁰² Instituto Nacional de Salud. Guía para la vigilancia por laboratorio de parásitos del género *Plasmodium* spp. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informacin%20de%20laboratorio/Gu%C3%ADa%20Vigilancia%20por%20laboratorio%20Plasmodium%20spp.pdf>

¹⁰³ Ministerio de salud y protección social. Manual para el diagnóstico de malaria no complicada en puestos de diagnóstico y tratamiento [consultado 11/02/2019]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/manual-diagnostico-malaria-no-complicada.pdf>

¹⁰⁴ Ministerios de salud y protección social. [consultado 11/02/2018]. Disponible. https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/memorias_malaria.pdf

¹⁰⁵ Tobón, Alberto, Signos de peligro en el paciente con malaria. Biomédica [en línea] 2009, 29 (Junio) : [Fecha de consulta: 12 de abril de 2019] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84311679016>

¹⁰⁶ Silesky J, Hidalgo J, Richard G et al, Leptospirosis: Report from the task force on tropical diseases by the World Federation of Societies of Intensive and Critical Care Medicine. Journal of Critical Care Volume 43, February 2018, Pages 361-365. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com.bdigital.ces.edu.co:2443/science/article/pii/S0883944117317227?via%3Dihub>

¹⁰⁷ Abdad MY, Abou Abdallah, Fournier et al. A Concise Review of the Epidemiology and Diagnostics of Rickettsioses: Rickettsia and Orientia spp. J Clin Microbiol. 2018 Jul 26;56(8). pii: e01728-17. doi:

10.1128/JCM.01728-17. Print 2018 Aug. Disponible en: <https://www.ncbi-nlm-nih.gov.bdigital.ces.edu.co:2443/pubmed/?term=A+Concise+Review+of+the+Epidemiology+and+Diagnosics+of+Rickettsioses%3A+Rickettsia+and+Orientia+spp>

¹⁰⁸l Décimo quinto boletín de alertas tempranas de deforestación (AT-D) segundo trimestre de 2018.[Consultado: 12/04/2018].Disponible: http://181.225.72.78/archivosSIAC/recursosSiac/img/Boletines_2018/Agosto/15%20BOLETIN%20DE%20ALERTAS.pdf

¹⁰⁹ Restrepo B N, Piedrahita L D, Agudelo I Y et al. Infección por dengue: una causa frecuente de síndrome febril en pacientes de Quibdó, Chocó, Colombia. Inicio > Vol. 35, Núm. 1 (2015) > Restrepo doi: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.v35i1.2345>.Disponible

¹¹⁰Instituto Nacional de Salud.informe de evento.Disponible: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Paginas/Info-Evento.aspx>

¹¹¹ Organización Mundial para la Salud.Dengue y Dengue grave.Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>

¹¹² Restrepo BN, Piedrahita LD, Agudelo IY, Marín K, Ramírez R. [Dengue infection: A common cause of febrile syndrome in patients from Quibdó, Chocó, Colombia]. *Biomedica*. 2015 Jan-Mar;35(1):131-7. doi: 10.1590/S0120-41572015000100016.

¹¹³Shah PS, Alagarasu K, Karad S, Deoshatwar A, Jadhav SM, Raut T, Singh A, Dayaraj C, Padbidri VS. Seroprevalence and incidence of primary dengue infections among children in a rural region of Maharashtra, Western India. *BMC Infect Dis*. 2019 Apr 2;19(1):296. doi: 10.1186/s12879-019-3937-z.

¹¹⁴ Chacón-Duque JC, Adhikari K, Avendaño E, Campo O, Ramirez R, Rojas W, Ruiz-Linares A, Restrepo BN, Bedoya G.African genetic ancestry is associated with a protective effect on Dengue severity in colombian populations. *Infect Genet Evol*. 2014 Oct;27:89-95. doi: 10.1016/j.meegid.2014.07.003. Epub 2014 Jul 10.

¹¹⁵Gubler DJ: Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:480–96.

¹¹⁶ Restrepo BN, Arboleda M, Lopera T. Estudio seroepidemiológico de dengue en la región del Urabá antioqueño, Colombia. *Infectio*. 2004;8:255-62.

¹¹⁷ Piedrahita LD, Agudelo Salas IY, Marin K, Trujillo AI, Osorio JE, Arboleda-Sanchez SO, Restrepo BN. Risk Factors Associated with Dengue Transmission and Spatial Distribution of High Seroprevalence in Schoolchildren from the Urban Area of Medellín, Colombia. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2018 Sep 2;2018:2308095. doi: 10.1155/2018/2308095. eCollection 2018.

¹¹⁸ Gunn S, Joanna M. Marshall et al. *Salmonella* chronic carriage: epidemiology, diagnosis and gallbladder persistence.

PMCID: PMC4252485