

revista de **LEPROLOGÍA**

Vol XXV Núm 5
Mayo-Agosto 2006

**COMPORTAMIENTO CLÍNICO SEROLÓGICO
MICROBIOLÓGICO DE LA INCIDENCIA DE LEPROA.
CAMAGÜEY, CUBA, 2001-2004**

**ANÁLISIS DE SONDAS Y TÉCNICAS
DE AMPLIFICACIÓN DE GENES PARA
EL DIAGNÓSTICO Y CONTROL DEL
TRATAMIENTO EN LA LEPROA INFANTIL**

**TÉCNICA DE LA INOCULACIÓN
EN ALMOHADILLA PLANTAR PARA CULTIVO
DEL *MYCOBACTERIUM LEPRAE***

Vol XXV
Núm 5 - 2006

revista de LEPROLOGÍA



Fontilles

MIEMBRO DE ILEP

*Federación internacional de lucha
contra la lepra*

FONTILLES

REVISTA DE LEPROLOGÍA

DIRECTORA

Dra. Montserrat Pérez López

DIRECTORES ASOCIADOS

Dr. José-Ramón Gómez Echevarría

Dr. Pedro Torres

COMITÉ EDITORIAL

Eduardo de Miguel

Max Ebstein

Diana Lockwood

Fátima Moll

Yolanda Sanchis

John Stanford

REDACCIÓN Y ADMINISTRACIÓN:

FONTILLES. REVISTA DE LEPROLOGÍA

BIBLIOTECA MÉDICA

03791 FONTILLES (ALICANTE) España

SE PUBLICAN TRES NÚMEROS AL AÑO

SUSCRIPCIÓN:

España:

Anual 30,00 Euros

Núm. suelto o atrasado 8,00 Euros

Extranjero:

Anual vía ordinaria 42,00 Euros

Anual vía aérea 60,00 Euros

Núm. suelto o atrasado..... 16,00 Euros

Publicación incluida en base de datos del Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud (IBECS).

A LOS SEÑORES EDITORES

Se publicará en esta revista médica una nota bibliográfica de todas las obras que se nos remitan ejemplares.

Imprime: Federico Domenech, S. A. Valencia
Depósito Legal V. 420-1958. — ISSN 0367-2743

Publicación autorizada por el Ministerio de Sanidad como Soporte Válido. Ref. SVR N.º 126

PUBLICACIÓN DE TRABAJOS

NORMAS PARA LOS AUTORES

FONTILLES REVISTA DE LEPROLOGÍA agradece la colaboración científica sobre el campo de la LEPROLOGÍA y la DERMATOLOGÍA, incluyendo investigaciones científicas, terapéuticas, epidemiológicas y sobre ciencias básicas en conexión con estas especialidades.

Los manuscritos remitidos deberán cumplir los siguientes requisitos:

a) Ser originales y no haber sido publicados anteriormente en ninguna otra revista.

b) Se enviarán dos ejemplares, el original y una copia, mecanografiados, en papel blanco, tamaño folio, a doble espacio y con margen izquierdo no inferior a 3 cms. Se pueden incluir fotografías en blanco y negro (las fotos en color serán por cuenta del autor) y los gráficos que el autor crea pertinentes.

c) Estarán escritos en castellano y llevarán un resumen (si es posible también traducido al francés y al inglés para mejor difusión del trabajo en el extranjero) que tendrá una extensión mínima aproximada de 100 palabras y máxima de 200 palabras, éste debe ser un artículo en miniatura. A continuación del resumen se escribirán las palabras claves con objeto de que reflejen los contenidos esenciales del artículo. No superarán el número de 5.

El texto constará de las siguientes partes:

d) Título. Autores. Nombres y apellidos de cada autor (es conveniente indicar: Servicio, Departamento o Centro en el que se hayan realizado). Resúmenes. Palabras Clave. Texto. Bibliografía, que sólo incluirá las referencias citadas en el texto y por el orden de su aparición en el mismo, y fotos con sus pies y orden en que se han de imprimir. Dirección postal del autor a quien debe dirigirse la correspondencia relativa al artículo.

e) Los artículos se enviarán (los extranjeros por vía aérea) a la redacción de la Revista. Sanatorio San Francisco de Borja. 03791 FONTILLES (Alicante) España. Tel. 96 558 33 50 - Fax: 96 558 33 76. E-mail: **biblioteca@fontilles.org**

f) La dirección de la revista se reserva el derecho de no aceptar los originales y el hacer las correcciones de estilo necesarias. Si éstas fueran muy importantes, se hará previa consulta con el autor y preferentemente se indicará a éste la forma en que se debe someter de nuevo el manuscrito para su publicación.

g) Los trabajos serán publicados a medida que lo permita el espacio disponible de la revista, siguiendo orden riguroso de antigüedad en su recepción.

h) Después de publicado en FONTILLES REVISTA DE LEPROLOGÍA podrá ser transcrito total o parcialmente, en cualquier revista, siempre que se haga expresa referencia a su procedencia.

i) La redacción de la revista no acepta la responsabilidad de los conceptos y criterios que publica, la cual es única y exclusivamente de los autores.

Los volúmenes de esta revista están formados por 6 números cada uno, o sea, los correspondientes a 2 años.

SUMARIO

	<u>Pág.</u>
EDITORIAL. <i>Haití.</i>	383
CARTA AL EDITOR. Servicio de baciloscopia de la lepra en Cuba. Organización y función de la red de laboratorios. – <i>Suárez Moreno, Odelaisy; Alonso Gómez, M.^a Elena.</i>	385
TRABAJOS CIENTÍFICOS Y COLABORACIONES	
Comportamiento clínico serológico microbiológico de la incidencia de lepra. Camagüey, Cuba, 2001-2004. – <i>Atrio Mouriño, Nieves; Amador Díaz, Martha Eduviges; Díaz Renón, M^a Teresa.</i>	389
Análisis de sondas y técnicas de amplificación de genes para el diagnóstico y control del tratamiento en la lepra infantil. – <i>Kamal, Raj; Dayal, R.; Katoch, V. M.; Katoch, K.</i>	397
Técnica de la inoculación en almohadilla plantar para cultivo del <i>Mycobacterium leprae</i>. – <i>Levy, Louis; Ji, Baohong</i>	407
NOTICIAS	
XLIX Curso Internacional de Leprología. Edición personal Paramédico..	433
XLIII Curso Internacional de Leprología. Edición personal Médico.	433
NECROLÓGICAS	
Dr. Diltor Vladimir Araujo Opromolla.	434
ÍNDICE DE REVISTAS	
Bacteriología e Inmunología	435
Patología, Fisiopatología y Bioquímica.	440
Lepra experimental.	442
Clínica y Diagnóstico.	444
Terapéutica.	448
Cirugía, Fisioterapia y Rehabilitación Física.....	451
Epidemiología. Prevención y Control.....	451
Psicología, Educación y Rehabilitación Social.	456
Generalidades e Historia.	458
Otras Micobacterias.	460

Respuesta comercial
Autorización núm. 13654
B.O. de correos
(fecha: 04-11-94)

No
necesita
sello



Apartado 112 FD- 46080 Valencia

**Biblioteca Médica del Sanatorio San Fco. de Borja
03791 Fontilles (Alicante)
España**

**Tel. 965 58 33 50
Fax. 965 58 33 76
biblioteca@fontilles.org**

Nombre/ Name

Apellidos/ Surname

Dirección/ Address

.....

Población/ City C.P/ P.O.Box

País/ Country

e.mail: Teléfono/ Phone

N.I.F/ Passport number

- Suscripción anual a la Revista Leprología**
- España 30 €/año Extranjero vía ordinaria 42 €/año
 vía aérea 60 €/año
- Solicitud del n.º atrasado**
- España 8 € Extranjero 16 €

Forma de Pago

- Contrareembolso
 Cheque bancario a nombre de Fontilles
 Transferencia bancaria

2090 0051 31 0040002687
Caja de Ahorros del Mediterráneo

fecha y firma

EDITORIAL

HAITÍ

La República de Haití es un país del Caribe, en la parte occidental de la isla La Española, limitando, por tanto, con República Dominicana. Su área total es de 27.750 Km y su capital es Puerto Príncipe.

Haití es una antigua colonia francesa; fue el primer país en Latinoamérica en declarar su independencia y el segundo del continente tras Estados Unidos. A pesar de su longevidad, es el país más pobre en Occidente.

La sanidad se concentra en la capital y las ciudades del resto del país están faltas de asistencia especializada. En muchos lugares, es el personal sanitario, formado o no, el que se hace cargo de la asistencia básica. Los religiosos y religiosas son también personas que desempeñan este trabajo a nivel muy básico.

A nivel político es un país inestable. Grupos radicales, pillaje, la necesidad de subsistencia personal y familiar, malestar por la presencia de las fuerzas de las Naciones Unidas etc., confieren todavía una sensación de inestabilidad e inseguridad importante, aunque después de las últimas elecciones el optimismo y las ansias de cambio son evidentes.

Aproximadamente un 70% de la población vive en la pobreza, haciéndole el segundo país más pobre en el mundo. Cerca del 70% de los haitianos depende de la agricultura, que consiste principalmente de agricultura de subsistencia a pequeña escala y emplea cerca de las dos terceras partes de la población económicamente activa.

El presente de la ayuda en Haití pasa por la integración en los programas de salud básica comunitaria, en la formación de trabajadores de la salud en su amplio contexto, de la forma más básica, a nivel personal, familiar, comunitario, etc.

Uno de los problemas más graves que sigue teniendo Haití es su "guerra" con su pareja en la isla, La República Dominicana; por ello una de las zonas más abandonadas y lugar de "nadie" es la zona próxima a la frontera.

Ha sido una región devastada por las catástrofes naturales, de difícil acceso y con muchas enfermedades tales como problemas de infecciones de la piel, sarna, tiñas, micobacterias de diferentes etiologías, infecciones abdominales, malaria, tuberculosis, SIDA. El censo de enfermos de lepra y la persona responsable, un religioso, desapareció con las últimas inundaciones del 2003.

Hay que contar con las dificultades propias de esos países tales como la lentitud en que a veces se llevan a cabo las gestiones; la desestructuración de los organismos oficiales, la inestabilidad de las personas en sus lugares de trabajo, el desánimo en que frecuentemente se encuentran, las deficiencias en acceder a las comunidades, falta de carreteras, pistas en mal estado y que quedan anuladas en épocas de lluvias, dificultad en la obtención de medicamentos y que estos lleguen a su destino y sobre todo con **la pobreza y la miseria** en la que siguen viviendo un alto porcentaje de la población. La mayor parte de la deforestación de Haití se debe a que los haitianos cortan las maderas para quemarlas, carbonizarlas y poderlas vender como carbón, su fuente de energía. En la mayor parte del país no existe luz ni, por supuesto, agua.

Es responsabilidad nuestra dar a conocer al mundo la situación y la realidad de este país. La realidad no es la que nos llega a través de los medios de comunicación muchas veces manipulados y que no muestran esa situación tal y como es, y sobre todo, cómo se vive cuando estás allí.

Además, hay que tener en cuenta que, cualquier programa debe estar diseñado y encuadrado dentro de un proyecto básico, de SALUD comunitaria, con lo que ello implica y en el estricto y a la vez amplio sentido de la palabra.

DRA. MONTSERRAT PÉREZ

Asesor Científico de la Junta de Gobierno

10 de julio de 2006.

Carta al Editor:

SERVICIO DE BACILOSCOPIA DE LA LEPRO EN CUBA. ORGANIZACIÓN Y FUNCIÓN LA RED DE LABORATORIOS

ODELAISY SUÁREZ MORENO¹
MARÍA ELENA ALONSO GÓMEZ²

El Sistema de Salud Pública en Cuba ha garantizado que se mantenga el estudio bacteriológico de la lepra como uno de los elementos fundamentales para el diagnóstico, clasificación y evaluación de los pacientes multibacilares, incluidos aquellos que se sospecha recidiva. La infraestructura que permite esta actividad está conformada como una pirámide cuyo ápice es el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" y le siguen los 14 Laboratorios Provinciales (LP) de los Centros Provinciales de Higiene y Epidemiología, a los que responden 36 Laboratorios de la base conformados por los 21 Laboratorios de Hospitales (LH) de cabeceras de provincias y 15 Laboratorios Municipales (LM) ubicados en los Centros Municipales de Higiene y Epidemiología del todo el país; todos ellos forman una red de laboratorios que mantienen un constante intercambio. Hoy nos place comentar este trabajo a la comunidad científica con el objetivo de brindar nuestra experiencia y a su vez enriquecer nuestra labor con las sugerencias de los colegas

LABOR DE LOS LABORATORIOS DE LA BASE LH Y LB

- El servicio de baciloscofia de lepra se ofrece generalmente en los laboratorios de base, donde se mantienen un registro de los resultados de la prueba por paciente (hoja del paciente) el cual incluye nombre y dos apellidos número de identidad y dirección y área de salud. A cada paciente le realizan un chequeo de rutina anual, hasta ser dados de alta, o la prueba puede ser ordenada antes de este período según criterio del médico responsable del caso.

¹ Laboratorio de Referencia de Lepra, Instituto de Medicina Tropical, Ciudad de la Habana, Cuba. odelaisy@ipk.sld.cu.

² Ministerio de Salud Pública de Cuba.

- Estos laboratorios de base, envían **todas sus láminas** al laboratorio provincial, y cada lámina está acompañada una de ficha que contiene:
 - * Número de la lámina
 - * Nombre del paciente y procedencia
 - * Si es caso nuevo en estudio o seguimiento
 - * Codificación asignada.

FUNCIÓN DE LOS LP

En los laboratorios provinciales también se brinda el servicio de bacteriología de lepra con igual metodología que los laboratorios de la base, a todo paciente que por cercanía acuda al él y realiza el primer control de calidad a todas las láminas enviadas por los LH Y LM comprendidos en su región, este control evalúa:

Calidad de la muestra:

- Utilidad y cantidad de la muestra (si es o no escasa)
- Si está bien fijada o se encuentra retraída por la presencia de grasa en la lámina
- Contaminación (con sangre u otros detritus)

Calidad de la coloración:

- Grumos de fuschina
- Coloración de contraste pobre o muy coloreada.

Calidad de la lectura:

- Las láminas son releídas sin conocer su codificación inicial, para evaluar su codificación inicial.

Con los resultados del control realizado se hace un informe y es enviado al LNR junto con las láminas. Las láminas que envían al LNR son todas las positivas, todas las correspondientes a los casos en estudios y el 5% de las láminas negativas de los pacientes que se encuentran bajo seguimiento bacteriológico.

LABOR DEL LNR

*** Referencia bacteriológica**

Al igual que en los LP, las láminas recibidas son recepcionadas y su información es incorporada a la base de datos del laboratorio. Posteriormente se realiza el control de calidad observando los parámetros mencionados anteriormente y se llena un registro por lámina con la codificación observada y se señalan las dificultades encontradas y las soluciones de las mismas. Las láminas son devueltas a los LP de origen, acompañadas de un informe del análisis realizado en cada una de ellas.

*** Visitas de control y ayuda**

Cada año se tratan de visitar diferentes LP y sus LH y LM para detectar en el terreno las dificultades presentadas por los mismos, haciéndose un análisis minucioso de los problemas materiales o de personal, todo ello en búsqueda de soluciones mediatas e inmediatas propuesta por el colectivo y los visitantes.

Las visitas constituyen un elemento favorable para ampliar la comunicación e intercambio entre los laboratorios de la red y el LNR.

*** Actividad docente**

En el LNR se imparte docencia teórico/práctica como parte del programa de formación de médicos especialistas de I Grado en las especialidades de Microbiología e Inmunología y a Maestranteros de Bacteriología/Micología. Se ofrece asesoramiento a todo el personal de la red y entrenamiento y reciclaje al personal encargado de los estudios bacteriológicos de lepra de todo el país. Además se organizan y desarrollan Cursos Nacionales de actualización a especialistas y técnicos en microbiología y se brinda asesoría y tutoría de tesis a estudiantes universitarios y de post grado.

El Laboratorio Nacional de Referencia ubicado en el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri", tiene la responsabilidad de organizar y dirigir este trabajo como parte integrante del Programa de Control y todo nuestro esfuerzo ha sido encaminado a lograr una interrelación activa entre los diferentes niveles de la red nacional de laboratorios, por otra parte elevar la calidad del servicio y la capacitación del personal, que han sido muy superadas en los últimos tiempos, pues como todos saben en la etapa de post eliminación de la Lepra como Problema de Salud Pública es un reto mantener un sistema de vigilancia eficaz.

TRABAJOS CIENTÍFICOS Y COLABORACIONES

COMPORTAMIENTO CLÍNICO SEROLÓGICO MICROBIOLÓGICO DE LA INCIDENCIA DE LEPRO CAMAGÜEY CUBA. 2001-2004

NIEVES ATRIO MOURIÑO*, MARTHA EDUVIGES AMADOR DÍAZ**,
MARÍA TERESA DÍAZ RENÓN***

INTRODUCCIÓN

La Lepra es una enfermedad infecto-contagiosa crónica, cuyo nombre proviene de la palabra griega UKHEDU (escama) y constituye uno de los males más antiguos que recuerda la humanidad¹. Es producida por el *Mycobacterium leprae*, bacilo ácido- alcohol- resistente en forma de bastón, el cual se reproduce muy despacio, por lo que los síntomas visibles pueden tardar de 10 a 20 años en aparecer², afectando principalmente la piel, los nervios periféricos, la mucosa de las vías respiratorias superiores, además de algunas otras estructuras y los ojos, reportándose como la tercera causa de ceguera en el mundo^{3,4}. Ella es, entre las afecciones crónicas la que sigue siendo; si no se atiende precoz y eficazmente, la principal causa de deformidades e incapacidades en la población mundial, al ser el *Mycobacterium leprae* el único bacilo que invade los nervios periféricos y consigue permanecer allí evadiendo la destrucción por el huésped, lo que implica una gran repercusión social^{5,6}.

Esta dolencia ha afligido a la humanidad desde tiempos inmemorables; afectó en un pasado a todos los continentes y fue bien reconocida en las antiguas civilizaciones de China, Egipto y la India⁷; dejando tras de sí una imagen terrible en la historia y la memoria de la humanidad, infundiendo miedo en los seres humanos durante miles de años. Fue vista como una plaga y una maldición bíblica, considerada contagiosa, mutilante e incurable, lo que condujo a una reacción in-

* Especialista de segundo grado en Dermatología.

Jefa del grupo Provincial de Dermatología.

Jefa del Programa de Lepra en la Provincia.

** Especialista primer grado en Dermatología.

Jefa del Programa de Lepra en los Municipios Najasa y Jimaguayú.

*** Especialista primer grado en Dermatología.

tensa por parte de la comunidad, haciendo que se temiera más a las personas afectadas que a la propia enfermedad.

Sin embargo, la misma no es más que una dolencia escasamente contagiosa y totalmente curable, sobre todo cuando se diagnostica precozmente^{8,9}, pero desgraciadamente su elevado potencial para producir deterioro neural conlleva a la discapacidad, constituyendo entre las enfermedades transmisibles del mundo, una de las principales causas de discapacidad física permanente¹⁰. Además, al afectar normalmente a individuos en su fase de edad más productiva impone una carga significativa a la sociedad¹¹.

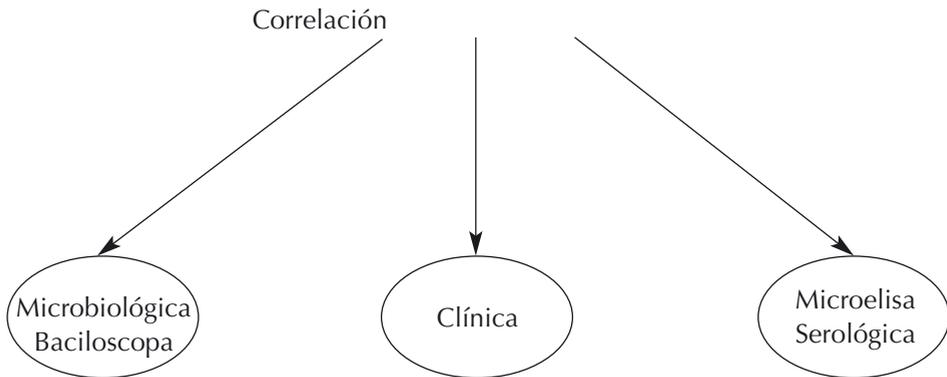
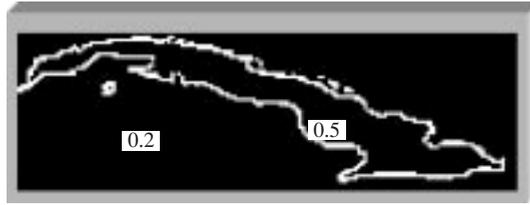
Con la implantación del nuevo programa, ya en 1993 Cuba logra erradicar la Lepra como problema de Salud, al ser la tasa inferior a 1×10.000 ¹². En nuestra provincia se logra erradicar la Lepra como problema de salud en el 2003, teniendo en cuenta todo lo anterior y a pesar de no ser la Lepra un problema de salud en Cuba ni en nuestra provincia, pero si existen Municipios que aún mantienen esta problemática y además continúan apareciendo nuevos casos¹³.

Lo que motivó la realización de esta investigación para identificar aquellos pacientes que presentan bacilos del *Mycobacterium leprae* a través del estudio serológico, empleando el UMELISA HANSEN, ensayo inmunoenzimático indirecto, patentado en Cuba, en el cual se utiliza como fase sólida tiras de ultramicroElisa (diez mil por pocillo) revestidos previamente con antígeno sintético: Glucolípidio fenólico I (PGL-I) especie específico de *Mycobacterium leprae* y su intensidad de fluorescencia permitirá detectar la presencia de anticuerpos IgM al *Mycobacterium leprae*¹⁴; teniendo gran utilidad en el diagnóstico precoz de nuevos casos por su especificidad al agente, ya que la seropositividad precede al diagnóstico en la mayoría de los casos y principalmente en los pacientes lepromatosos que tienen muy altos títulos de anticuerpos (Ac). Al momento del diagnóstico clínico; la respuesta serológica a estos antígenos (Ag), es de tipo IgM; disminuyendo los niveles de estos anticuerpos específicos con la quimioterapia¹⁴⁻¹⁸.

Estudios similares realizados en Corea^{17,18} y Cuba¹⁹, muestran que los parámetros serológicos basados en el antígeno PGL-I pueden ser útiles para el pesquijaje, en la evaluación de los pacientes de Lepra en el momento del diagnóstico y en el monitoreo de los pacientes que reciben quimioterapia.

Este estudio se complementa con la reacción de Mitsuda, que mide la respuesta inmunológica específica frente a la forma lepromatosa^{20,21} y permite el diagnóstico por clínica (examen dermatoneurológico, sustentado en una amplia educación sanitaria) y baciloscopía (mediante la escala logarítmica de Ridley que se basa en el promedio de bacilos observados en el frotis, contando los sólidos, los fragmentos y los granulados), de casos pre-clínicos que pudieran ser diagnosticados años después en forma tardía¹⁴.

Es por ello que, teniendo en cuenta lo expresado en la Declaración de Caracas, durante el desarrollo de la Tercera Conferencia Regional de la OPS/OMS sobre la Eliminación de la Lepra de la Américas, en la que se planteó como una necesidad el "disponer de nuevas tecnologías apropiadas que permitan lograr un diagnóstico más temprano a fin de influir sobre la transmisión hasta lograr la inte-



rupción de la misma”¹⁶, se decidió realizar un estudio sobre el comportamiento clínico serológico Y microbiológico de los pacientes notificados en esta etapa en la provincia de Camagüey.

Objetivo

Determinar la incidencia de lepra en la provincia de Camagüey y relacionar las formas clínicas con los resultados serológicos y microbiológicos en el período 2001 - 2004.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio descriptivo transversal en el período comprendido del primero de enero del 2001 al 31 de diciembre del 2005. El universo de estudio estuvo constituido por 170 casos notificados de lepra en la provincia de Camagüey.

Se tomó la incidencia del Departamento de Estadísticas Provincial, recepcionándose las variables de edad, sexo, formas clínicas, primeros síntomas y resultados bacteriológicos.

A estos pacientes se les realizó un estudio serológico de lepra en el Centro Provincial de Higiene y Epidemiología, y se confeccionó una encuesta donde se reflejaron todos los datos anteriores, relacionándose dichas variables.

Desarrollo:

Gráfico N.º 1

**Lepra. Incidencia por Tasa 1x10.000 según municipios.
Camagüey. Cuba. 2001 /2005**

Municipio	2001	2002	2003	2004
Najasa	0	0	0	0
Vertiente	0	0.18	0.37	0
Esmeralda	0	0.62	0	0
Minas	0.24	0.24	0.24	0
Guaimaro	0.34	0.17	0.34	0
Jimaguayu	0	1	0	0
Céspedes	0	0.42	0.42	0.42
Florida	0.39	0.26	0.39	0.26
S.Cubita	0	2.19	0	0
Sibanicú	0.95	0.63	0.63	0.31
Camagüey	0.86	0.67	0.61	0.61
Nuevitas	1.1	0.22	0.24	1.34
S.C.Sur	2.03	0.55	2.04	0.37

Como podemos observar los Municipios con mayores tasas fueron Santa cruz del Sur, Nuevitas y Camagüey.

Gráfico N.º 2

**Lepra. Formas Clínicas según grupos de edades por tasa 1x 100 000.
Camagüey. Cuba. 2001 /2004.**

Formas Clínicas	Edades			
	-15	15-29	30-44	45 y +
LI	0.15	0.1	0.29	0.12
LT	0	0.16	0.39	0.17
LD	0.15	0.32	1.03	2.77
LL	0	0.21	0.44	1.57

Las formas clínicas LI y LT tienen su mayor incidencia en las edades comprendidas entre 30 y 44 mientras que las LD y LL la tienen en las de mayores de 45 años lo que es de esperar si tenemos en cuenta que el periodo de incubación es más largo.

Gráfico N.º 3**Lepra. Formas Clínicas según sexo.
Camagüey. Cuba. 2001 /2004**

Formas Clínicas	Femenino	Masculino
LI	0.1	0
LT	0.1	0.02
LD	0.27	0.47
LL	0.17	0.17
Total		

Hubo un predominio del sexo masculino en las formas clínica LD no así en el resto de las formas clínicas que se comporto de igual forma.

Gráfico N.º 4**Lepra. Relación entre primeros síntomas y formas clínicas
Camagüey. Cuba.2001 /2004.**

	LI	LT	LD	LL
Mácula Anestésica	11	13	64	16
Nódulo	0	0	2	18
Rinitis	0	0	4	4
Maculo-Papula	0	0	0	0
Infiltración difusa	0	0	22	15
Epístaxis.	0	0	1	2
Neuritis Periférica	0	0	6	10
Mal Perforante Plantar	0	0	0	1
Síntomas generales	0	0	3	4

Como podemos ver hubo un predominio de personas que reportan la macula como primeros síntomas sin embargo se notifican mas tarde con otras manifestaciones de la enfermedad.

Gráfico N.º 5

Lepra. Correlación Serológica y Microbiológica según formas clínicas . Camagüey. Cuba. 2001 /2004

Baciloscopia	Multibacilar						Paucibacilar		
	-0,250		0,250-0,300		0,300		0,250-0,300		
	N.º	%	N.º	%	N.º	%			
Cod. 0	39	0,70%	10	0,45%	20	0,28%	18	1	5
Cod. 1	4	0,07%	0	0%	8	0,11%			
Cod. 2	6	0,10%	2	0,09%	6	0,08%			
Cod. 3	0	0%	6	0,27%	6	0,08%			
Cod. 4	6	0,10%	4	0,18%	18	0,26%			
Cod. 5	0	0%	0	0%	10	0,14%			
Cod. 6	0	0%	0	0%	1	0,01%			

Gráfico N.º 6

Lepra. Correlación Clínica Serológica y Bacteriológica según formas clínicas. Camagüey. Cuba. 2001 /2004.

Formas Clínicas	+0.300	%	Baciloscopia Cod. 1 a 6	%
LI	4	33	3	25
LT	3	20	0	0
LL	37	74	47	94
LD	31	33	27	29

Vemos que la mayor positividad la tienen las formas clínicas LL y LD como era de esperar.

CONCLUSIONES

- 1.–Los municipios de mayor tasa de incidencia fueron Santa Cruz del Sur, Nuevitas y Camagüey.
- 2.–Se comprobó un franco predominio de las formas clínicas multibacilares, destacándose la lepra dimorfa seguida de la lepra lepromatosa.
- 3.–Existió un predominio de las edades comprendidas entre 45 años y más seguidas de las de 35 a 44 años, principalmente en las formas clínicas LD y LL.
- 4.–Se constató mayor incidencia de lepra en el sexo masculino.
- 5.–Las formas clínicas LL y LD fueron los que presentaron mayor porcentaje de pruebas serológicas y microbiológicas positivas.
- 7.–En las formas clínicas multibacilares, los resultados serológicos positivos predominaron en las baciloscopías cuyas codificaciones oscilaron entre 1 y 6.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GONZÁLEZ PRENDES, MA: *Historia de la Lepra en Cuba*. La Habana, Cuba, Editorial Cenit. 1963.
2. Anónimo: *El proceso de la lucha contra la lepra*. Bol. Oficina Sanit Panam 1996; 121: 348- 349.
3. SAUNDERSON, P; GEBRE, S: *Reversal reactions in the skin lesions of AMFES patients: Incidence and risk factors*. Lepr. Rev. 2000. Sep.; 71 (3):309-17.
4. LÓPEZ SIFONTES, ME; CARRAZANA HERNÁNDEZ, GB, CASTAÑO HERNÁNDEZ, S: *Indicadores epidemiológicos de la incidencia de lepra en un distrito de salud*. Rev. Lepr. Fontilles 1995; 20: 625-643.
5. CARRAZANA HERNÁNDEZ, GB; FERRÁ TORRES, TM, PILAR PÉREZ R: *Estudio de las incapacidades causadas por la lepra*: Rev. Lepr. Fontilles, 1990; 17: 547- 555.
6. SENGUPTA, V: *Inmunopatología de la Lepra. Estado actual*. Indian J. Lepr.,vol. 72 (3), 2000: 381-91.
7. MAURANO, F: *Tratado de Leprología*. Tomo 1. Pág 18. Imp. Servicio Nacional de Lepra. 1950. Río Janeiro.
8. TERCENIO DE LAS AGUAS, J: *Todos contra la lepra* (Editorial). Rev. Lepr. Fontilles 1996; 20: 935- 936.
9. ALABÍ GA, et al: *Guía para la eliminación de la lepra como problema de la salud pública: Organización Mundial de la Salud 1995*. Plublication núm. WHO/ LEP./ 95.I: 6- 7.
10. NAAFS, B: *Punto de vista actual sobre las reacciones en la Lepra*. Indian J. Lepr., vol. 72, Núm 1 (2000), pág 97-122.
11. Leprosy Elimination Project, WHO: *Desafíos para la consecución de la eliminación de la Lepra*. Indian J. Lepr., vol. 72, núm. 1 (2000), pág. 33-45.
12. Organización Mundial de la Salud: *Lepra al Día*. Boletín. *Eliminación de la Lepra en las Américas*. N.º 9. 2001. Pág 1-2.
13. Cuba. Ministerio de Salud Publica: *Anuario estadístico. Incidencia y Prevalencia de Lepra según provincias*. La Habana. Infomed. 2001.
14. RAMÍREZ, R; RODRÍGUEZ, I; RECALDE, H; BASUALDO, D; MURASIOLI, D; COLOMBO, M: *Estudio Seroepidemiológico de la Lepra en Formosa, República Argentina*. Rev. Lepr. Fontilles. Vol. 23(2). Mayo-agosto, 2001: 159- 170.
15. FERREIRA, J; MENGUE, SS; WAGNER, MB; DUNCAN, BB: *Estimación de la prevalencia oculta en la enfermedad de Hansen a través del retraso en el diagnóstico y grado de irresponsabilidad en el momento del diagnóstico*. Int. J. Lepr., vol. 68, núm. 4 (2000). Pág. 464-473.
16. DOCKRELL, HM; BLACK, GF; WEIR, RE; FINE, PE: *Whole blood assays for interferon-gamma: practicalites and potential for use as diagnostic tests in the field*. Lepr. Rev. 2000. Dec;71 (Suppl): S60-2.
17. CHO, SN; CELLONA, RV; VILLAHERMOSA, LG; FAJARDO, TT; BALAGON, MV: *Detection of Phenolic Glycolipid I of Mycobacterium Leprae in Sera from Leprosy patients before and after Start of Multidrug Therapy*. Department of Microbiology, Yonsel University College of Medicine, Int J Dermatol 2000. Nov; 39 (11): 837-9.

18. SHIN, YC; LEE, H; WAISH, GP; KIM, JD; CHO, SN: *Variable numbers of TTC repeats in Mycobacterium leprae DNA from leprosy patients and use in strain differentiation.* J. Clin. Microbiol 2000. Dec; 38 (12): 4535-8.
19. GONZÁLEZ ABREU, E; MORA, N; PÉREZ, M; PEREIRA, M; PÉREZ, J: *Serodiagnóstico de Lepra en contactos de pacientes por ensayo eslabonado de la enzima inmunoabsorbente.* Lepr. Rev. 1990;61(2): 145-50.
20. ALCAIS, A; SÁNCHEZ, TO; TUC, NV: *La reacción granulomatosa frente a la inyección intradérmica de lepromina que está unida al gen de NRAMP1 humano en leprosos consanguíneos vietnamitas.* Int. J. Lepr., vol. 68, núm. 2 (2000), pág. 201.
21. SENGUPTA, U: *Experience and lessons from the use of lepromin and Mycobacterium leprae-specific serology.* Lepr. Rev. 2000 Dec;71 (Suppl):S63-6.

ANÁLISIS DE SONDAS Y TÉCNICAS DE AMPLIFICACIÓN DE GENES PARA EL DIAGNÓSTICO Y CONTROL DEL TRATAMIENTO EN LA LEPROA INFANTIL

RAJ KAMAL *, R. DAYAL **, V. M. KATOCH* & K. KATOCH*

RESUMEN

Se detectaron secuencias de ácidos nucleicos de *Mycobacterium leprae* utilizando sonda de genes que hibridan con secuencias diana RNA ribosómicas (16S rRNA), DNA ribosómico (16S rDNA) y técnicas de amplificación de genes (PCR) en lesiones cutáneas de pacientes de lepra infantil y el efecto del tratamiento farmacológico sobre estas técnicas. Se incluyeron en este trabajo 80 pacientes de lepra infantil. La mayoría de casos (79%) tenía entre 9-16 años. Se dividieron los casos en 3 grupos de acuerdo con el tratamiento, sin tratar (30), en tratamiento (30) y al finalizar el tratamiento (20). Se efectuaron exámenes clínicos y baciloscopia para la detección de bacilos ácido-alcohol resistente BAAR y de las biopsias se extrajeron y fraccionaron los ácidos nucleicos. Se detectó rRNA y rDNA 16S específico de *M. leprae* mediante hibridación con sondas, mientras que la secuencia del gen 36 kDa se detectó mediante técnicas de amplificación de genes (PCR). Los casos se clasificaron en lepra paucibacilar (PB) y multibacilar (MB) de acuerdo a los criterios de la OMS (1988). La positividad del rRNA 16S en los casos PB disminuyó desde el 60% en los casos no tratados al 10.5% después de 4-8 meses de tratamiento, mientras el rDNA 16S disminuyó del 50% al 21%, y con PCR desde 70% al 36.8% para la misma muestra y todos se negativizaron al año. La misma tendencia se observó en el grupo MB, donde la positividad en los casos baciloscopia positivos decreció desde el 100% al 56.2% con rRNA 16S y al 42.8% con rDNA 16S y PCR respectivamente, después de los 9-12 meses de tratamiento, siendo a los 2 años todos negativos, menos un caso que permaneció

* National JALMA Institute for Leprosy and Other Mycobacterial Diseases (ICMR). Tajganj, Agra, India

** Department of Pediatrics; S.N.Medical.College, Agra, India.

Correspondencia a: R. Kamal (e-mail: rohinik@sancharnet.in)

Este trabajo es una reproducción de "Leprosy Review", vol. 77, núm. 2, junio 2006, págs. 141-146.

positivo con PCR. Los casos MB con baciloscopia negativa siguieron la misma tendencia, 100% de positividad detectado por rRNA 16S y PCR, 75% detectado por rDNA 16S y decreció hasta la negatividad a los 9-12 meses de tratamiento.

Estos resultados apuntan hacia un posible potencial de estas técnicas como apoyo molecular para el diagnóstico de casos MB baciloscopia negativos y el control de la respuesta al tratamiento. Sin embargo, la prueba definitiva exige ser valorada mediante estudios prospectivos de seguimiento

SUMMARY

Nucleic acid sequences of *Mycobacterium leprae* were detected using gene probes hybridizing with targeting ribosomal RNA (16S rRNA), ribosomal DNA (16S rDNA) and gene amplification techniques (PCR) in skin lesion of paediatric leprosy patients and the effect of treatment on the by these methods. Eighty paediatric leprosy patients were included in the study. Most cases (79%) were between 9 and 16 years of age. Cases were divided into three groups according to treatment status, viz. untreated (30), undergoing treatment (30), and at the end of treatment (20). Clinical and slit smear examination for acid fast bacilli (AFB) was performed and nucleic acids were extracted and fractionated from skin biopsies. *M. leprae* specific 16S rRNA and 16S rDNA was detected by hybridization with gene probes whereas the 36kDa gene sequence was detected by a gene amplification assay (PCR). The cases were classified as paucibacillary (PB) and multibacillary (MB) by the standard criteria of WHO (1988). Positivity of 16S rRNA in PB cases decreased from 60% in untreated to 10.5% after 4-8 months of treatment whereas for 16S rDNA, it decreased from 50% to 21%, for PCR from 70% to 36.8% for the same specimen, and all became negative at 1 year. Similar trends were seen in MB cases where positivity in smear positive untreated cases decreased from 100% to 56.2% with 16S rRNA and 42.8% with 16S rDNA and PCR, respectively, after 9-12 months of treatment and all became negative at 2 years, except one case which remained positive with PCR. Similar results were observed in smear negative MB cases, 100% positivity detected by 16S rRNA and PCR, 75% detected by 16S rDNA decreased to zero after 9-12 months of therapy. This study suggests the potential usefulness of gene probes targeting 16S rRNA and 16S rDNA and PCR as supportive molecular tools for diagnosis of smear negative evolving MB disease and also monitoring the response to treatment, these observations however, needs to be validated in prospective follow up studies.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, la mayoría de los casos de lepra están en la India y en algún otro país como Brasil.¹ Para la erradicación de estas enfermedades es fundamental la detección y tratamiento precoz de manera que se puedan prevenir las defor-

dades y controlar de manera efectiva la enfermedad. En los niños resulta fundamental efectuar un diagnóstico correcto. Los métodos convencionales para diagnosticar incluyen el examen clínico, la demostración de BAAR y el examen histopatológico. Sin embargo, en los casos precoces y dudosos, el diagnóstico no llega a ser definitivo con estos métodos y hay que hacer un control de manera continua de estos casos durante períodos variables de tiempo hasta que se pueda efectuar un diagnóstico definitivo. Estos casos requieren otras técnicas alternativas para su confirmación. La posible utilidad de estas técnicas de sondas y amplificación de genes con elevada sensibilidad y especificidad adquieren gran importancia para el diagnóstico precoz de la enfermedad.

Actualmente, ya se dispone de algunas de estas técnicas de Biología Molecular.^{2,3} El uso de las técnicas de sondas con dianas sobre el rRNA y rDNA han revelado su potencial para la confirmación del diagnóstico de lepra en niños.^{4,5} La PCR también ha demostrado proporcionar capacidad adicional en la confirmación del diagnóstico de esta enfermedad. Estas técnicas de amplificación de fragmentos específicos de DNA pueden detectar la presencia específica de ácidos nucleicos de *M. leprae* en muestras con entre 1-10 microorganismos.⁶ Falta todavía información más concluyente sobre la persistencia/desaparición de estos ácidos nucleicos después del tratamiento y su importancia clínica y terapéutica. Este trabajo presenta estas observaciones mediante el uso de técnicas de detección de rRNA 16S, rDNA 16S y amplificación del gen 36 kDa de biopsias obtenidas en niños durante distintas fases del tratamiento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo entre enero de 2001 y marzo de 2004 en el Departamento de Medicina (Unidad Médica 1) y Microbiología y Biología Molecular, del Centro JALMA Instituto para la Lepra y otras enfermedades micobacterianas, de Agra y Departamento de Pediatría, S. N. Universidad Médica. Agra.

El consentimiento para la investigación se obtuvo del Comité de Asesoramiento Científico del Instituto, quien controló anualmente el desarrollo del estudio. La aprobación ética se obtuvo del Comité Ético del Instituto el 14 de octubre de 1998 como parte del proyecto denominado "Sondas para el diagnóstico precoz y posible diferenciación de cepas", que desde entonces se ha revisado periódicamente.

Se incluyeron en el estudio a ochenta niños menores de 16 años y en distintas fases de tratamiento, después de obtener el consentimiento de sus padres. Se definió un caso de lepra como una persona que presenta signos clínicos de lepra con o sin confirmación bacteriológica del diagnóstico mediante la confirmación de BAAR en los frotis cutáneos.⁷ Se clasificaron estos casos empleando el criterio estándar del Comité de Expertos de la OMS sobre Lepra, en Ginebra 1988. La lepra PB incluye sólo los casos baciloscopia negativos (Lepra indeterminada-I, Tuberculoide-TT, Borderline Tuberculoide-BT), mientras que la lepra MB incluye la

Borderline-Tuberculoide-BT, otros casos de lepra Borderline-BB, Borderline-Lepromatosa-BL y Lepromatosa-LL que resultan baciloscopia positivos.⁷

En este trabajo se dividieron a los pacientes en tres grupos de acuerdo a su fase de tratamiento: los no tratados, en tratamiento (4-8 meses para los PB y 9-12 meses para los MB) y los que terminaron la terapia farmacológica (1 año los PB y 2 años los MB, respectivamente). Se trataron todos los pacientes con pautas estandarizadas o utilizadas en esos momentos en el Instituto.^{8,9} A los pacientes en tratamiento se les efectuó un control de forma periódica.

El tratamiento farmacológico para los casos MB (más de 10 años) contenía rifampicina 450 mg/una vez al mes, 50 mg de clofazimina en dosis alternas y 50 mg de dapsona diaria. Para niños menores de 10 años, se ajustó la posología a: 300 mg de rifampicina (una vez al mes), 50 mg de clofazimina dos veces a la semana y 25 mg de dapsona diaria hasta los 2 años.⁸

La posología para los casos PB (mayores de 10 años) contenía 450 mg de rifampicina mensual y 50 mg diarios de dapsona durante 1 año. Para niños menores de 10 años contiene 450 mg de rifampicina mensual y 50 mg diarios de dapsona durante 1 año. Para menores de 10 años, se ajusta la dosis a 300 mg de rifampicina y 25 mg de dapsona. El tratamiento finaliza al año.⁹ Se llevaron a cabo un examen clínico exhaustivo junto a una baciloscopia por BAAR. Se obtuvieron biopsias cutáneas de las lesiones activas de estos pacientes.

EXTRACCIÓN Y FRACCIONACIÓN DEL RNA Y DNA

Las biopsias se homogenizaron en tampón TE (Tris-EDTA, pH 8). Se extrajeron los ácidos nucleicos y mediante un procedimiento fisicoquímico se fraccionaron en rRNA y rDNA. El procedimiento consiste en: ciclos de congelación-descongelación, tratamiento enzimático secuencial con lisozima y proteinasa K seguida de fraccionamiento por precipitación con 0.75 v/v etanol por RNA y después 0.75 v/v isopropanol para DNA después de la suspensión de tampón de lisis.¹⁰ Se eliminó la contaminación residual de DNA en rRNA mediante tratamiento con DNase (Sigma).

SONDAS

Se utilizaron las siguientes dos sondas con distintas dianas sobre fragmentos distintos de RNA ribosómico del genoma del *M. leprae* diseñados por KATOCH *et al.*^{2,10} y utilizados por SHARMA *et al.*^{11,12} y DAYAL *et al.*^{4,5}: (i) una sonda DNA sintética 5'CACTGGCTTCGGGTGTT-3', frente a un fragmento de 1425-1441 de rRNA 16S y (ii) una sonda de 18 oligonucleótidos 5'CTTCAAGGCGGATGTCTT-3' que amplifica la región 192-209 del rRNA 16S.

Las sondas se obtuvieron de Bioserve y Biotechnology (Hyderabad, India) y marcados en el extremo 3'OH con DIG con el Kit n.º 3353575 (Roche Diagnostics, Alemania). Los RNA y DNA ribosómicos fraccionados se transfieren a membrana de nylon y fijados en un horno a 120 °C durante 30 minutos (GALLENKAMP,

UK). La hibridación con sondas se efectuó utilizando el procedimiento descrito anteriormente.^{12, 13}

PCR

Se amplificó un fragmento de 530 bp del gen 36 kDa descrito por HARTSKEERL *et al.*^{3,6} en un termociclador (M. J. RESEARCH USA, Modelo PTC 100). La identificación de los amplificadores se confirmó mediante electroforesis en gel e hibridación southern blot mediante una sonda marcada DIG.

RESULTADOS

Se estudiaron ochenta casos, la mayoría (79%) con edades comprendidas entre 9-16 años. La mayoría de pacientes presentaban lesiones hipopigmentadas (74.75%) y máculas (63.75%) en áreas corporales expuestas o no. La mayoría presentaba alteraciones de la sensibilidad cutánea y un 75% presentaba engrosamiento neural. El examen baciloscópico reveló que el 91% de los casos PB (total 41) eran negativos, mientras que el 9% resultaron positivos (Tabla 1). La mayoría de casos MB (66.25%) eran baciloscopia positivos.

Tabla 1. Resultados del examen de frotis cutáneos en los pacientes del estudio

Período de tratamiento	Resultados del frotis	I	TT	BT	BB	BL	LL	Total
No tratados	Positivo	0	0	4	5	5	2	16
	Negativo	3	2	5	2	2	0	14
4-8 meses y 9-12 meses de tratamiento	Positivo	0	0	0	4	3	0	7
	Negativo	2	4	13	2	1	1	23
1-2 años de tratamiento	Positivo	0	0	0	1	2	1	4
	Negativo	0	0	8	5	2	1	16
Total		5	6	30	19	15	5	80

MUESTRAS PAUCIBACILARES

Las biopsias del 60% de los casos no tratados resultaron ser positivos por rRNA 16S, 50% para las sondas que hibridan con rDNA 16S, mientras que el 70% era PCR positivo. En los pacientes en tratamiento (4-8 meses), 10.5%, 21%, y 36.8% resultaron positivos con sondas que hibridan rRNA 16S, rDNA 16S y PCR, respectivamente. No había señal de positividad al completarse el año de tratamiento en estos casos con sondas o PCR (Tabla 2).

Tabla 2. Resultados sondas ácido nucleicos y PCR en biopsias de pacientes PB.

Período de tratamiento	Pacientes evaluados	Sondas		PCR con diana 36kDa
		16SrRNA diana	16SrDNA diana	
No tratados	10	Casos positivos 6 (60%)	Casos positivos 5 (50%)	Casos positivos 7 (70%)
4-8 meses de tratamiento	19	2 (10.5%)	4 (21%)	7 (36.8%)
1 año de tratamiento	8	0	0	0

MUESTRAS MULTIBACILARES

En el grupo no-tratados todos los casos baciloscopia positivos resultaron también positivos por rRNA 16S, rDNA 16S y PCR. En el grupo baciloscopia negativos, el 100% de positividad se analizó con sondas que hibridan dianas sobre rRNA 16S y con PCR, mientras que el 75% de los casos con resultados positivos con sondas que hibridan el rDNA 16S diana.

En pacientes MB en tratamiento, el 42.8% de los casos baciloscopia positivos presentaron señales positivas, mientras que todos los casos frotis negativos fueron negativos con ambas sondas y con PCR. Ninguno de los casos frotis negativos presentó señales positivas al final del tratamiento y solo un caso baciloscopia positivo resultó PCR positivo.

Tabla 3. Resultados sondas ácido nucleicos y PCR en biopsias de pacientes MB

Periodo de tratamiento	Resultados frotis	Total	Sensibilidad de la sonda		
			16S rRNA diana	16S rDNA diana	PCR con diana 36 kDa
			Positividad	Positividad	
No tratados	Positivo	16	16 (100%)	16 (100%)	16 (100%)
	Negativo	4	4 (100%)	3 (75%)	4 (100%)
9-12 meses de tratamiento	Positivo	7	4 (56.2%)	3 (42.8%)	3 (42.8%)
	Negativo	4	0	0	0
Después de 2 años de tratamiento	Positivo	4	0	0	1 (25%)
	Negativo	8	0	0	0



Una pieza esencial...

...en el tratamiento de las infecciones bacterianas cutáneas

Plasimine

Mupirocina 2%

15g / 30g



Plasimine Mupirocina. Composición: Pomada 2%. Cada gramo contiene: Mupirocina (DCI) 20 mg. Excipientes: polietilenglicoles, c.s. Propiedades: Mupirocina, principio activo de PLASIMINE Pomada, es un antibiótico de amplio espectro obtenido por fermentación a partir de *Pseudomonas fluorescens*, cuya estructura química y mecanismo de acción no están relacionados con los de otros antibacterianos. Inhibe "in vivo" la síntesis bacteriana de proteínas mediante ligazón específica y reversible a la isoleucil-tRNA sintetasa bacteriana. Este mecanismo de acción y su estructura probablemente favorecen la ausencia de resistencias cruzadas con otros antibióticos. Mupirocina, a concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) presenta acción bacteriostática, sin embargo, a concentraciones mayores (alcanzables con la administración tópica) es bactericida. Debe utilizarse exclusivamente por vía tópica. Aunque los estudios realizados revelan una buena penetración en el estrato córneo de la piel, la absorción sistémica del antibiótico tras su administración tópica es muy escasa. Mupirocina pomada es soluble en agua y no mancha la piel ni la ropa. Indicaciones: PLASIMINE Pomada (Mupirocina) está indicada en

el tratamiento tópico de infecciones cutáneas bacterianas primarias: impétigo, foliculitis y furunculosis. Actividad antibacteriana: Mupirocina es activa "in vitro" frente a los microorganismos responsables de la mayoría de las infecciones cutáneas. Su acción es especialmente potente frente a Gram positivos pero las altas concentraciones alcanzadas en piel tras su administración tópica, permiten incluir también Gram negativos en su espectro. Entre los microorganismos sensibles se incluyen: Aerobios Gram positivos: *Staphylococcus aureus* (incluyendo cepas productoras de β -lactamasas y cepas Metiliclin resistentes), *Staphylococcus epidermidis* y otros estafilococos, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*. Aerobios Gram negativos: *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pasteurella multocida*. Posología y forma de administración: Adultos y niños: Debe aplicarse una pequeña cantidad de pomada sobre la zona afectada hasta 3 veces al día durante 5-10 días, según sea la respuesta terapéutica. En caso necesario puede cubrirse la zona tratada con un vendaje oclusivo o de gasa. Los pacientes que no manifiestan una respuesta clínica, en el plazo de 3 a 5 días de tratamiento, deberán ser reevaluados. Contraindicaciones: Hipersensibilidad a mupirocina o a otras pomadas que contengan polietilenglicol. Precauciones: PLASIMINE Pomada contiene polietilenglicol, que se absorbe a través de heridas o piel alterada y se excreta por el riñón. Por este motivo, PLASIMINE Pomada debe utilizarse con precaución en pacientes con evidencia de insuficiencia renal moderada o severa. No debe utilizarse para administración intranasal ni oftálmica. Como ocurre con otras formulaciones tópicas, debe evitarse el contacto directo de la pomada con los ojos. No mezclar PLASIMINE Pomada con otras pomadas para uso tópico. Embarazo y lactancia: La administración de mupirocina a dosis elevadas en estudios de experimentación animal, no ha mostrado efectos teratógenos. Sin embargo, no existe suficiente evidencia de seguridad para recomendar su uso durante la gestación y la lactancia. Efectos secundarios: En los ensayos clínicos realizados, se han descrito algunos efectos adversos menores, localizados en el área de aplicación, como escozor, quemazón, eritema, prurito y sequedad de la piel. Intoxicación y su tratamiento: No se han descrito cuadros de intoxicación. En caso de sobredosis o ingestión accidental, consultar al Servicio de Información Toxicológica. Teléfono 91 562 04 20. Presentaciones y conservación: Tubo de 15 g de pomada al 2%. Tubo de 30 g de pomada al 2%. Conservar a temperatura ambiente (inferior a 25° C). La pomada restante al final del tratamiento debe desecharse. Precio y condiciones de dispensación: Tubo de 15 g; PVP IVA 4%: 4,75€. Tubo de 30 g; PVP IVA 4%: 9,83€. Incluido en la Seguridad Social. Aportación normal. Licencia GSK. LOS MEDICAMENTOS DEBEN MANTENERSE FUERA DEL ALCANCE DE LOS NIÑOS. Laboratorios Isdin, S.A. Av. Diagonal, 520. 08006 Barcelona.

 ISDIN

DISCUSIÓN

En ausencia de la visualización microscópica de BAAR, el diagnóstico de la lepra depende de los síntomas clínicos e histopatológicos que en muchos casos resultan confusos, sobre todo en los casos con lesiones cutáneas maculares e hipopigmentadas; dichos casos son los evaluados en este estudio y también por otros investigadores que trabajan con niños. Las lesiones maculares son las formas precoces de la enfermedad y se detectan más frecuentemente en India.^{4, 5, 15, 16} No sólo presenta problemas para el correcto diagnóstico, sino que la actividad bacteriológica de la enfermedad también constituye otro factor difícil de controlar.

Hemos observado no solamente que se puede detectar rRNA y rDNA de *M. leprae* mediante sondas y secuencias específicas DNA *M. leprae* por PCR en casos MB y PB no tratados, sino que incluso se pueden utilizar estas técnicas para controlar el progreso y evolución del tratamiento. La positividad es mucho mayor en los casos MB y una parte significativa de casos MB baciloscopia negativos resultan positivos aplicando estas técnicas. La detección del DNA ribosómico es menos sensible que en los casos PB. Como en estudios anteriores, estas sondas dieron resultados positivos en todos los frotis positivos sin tratar y en una proporción significativa de casos frotis negativos. Aunque no es estadísticamente significativa la sensibilidad total de estas sondas en los casos PB no es la más adecuada y resulta menor que la sensibilidad observada con PCR. Esta información revela que estas sondas y PCR sólo se pueden utilizar como técnicas suplementarias y que cuando son negativas, los clínicos tendrán que confiar y confirmar mediante exámenes clínicos e histológicos.

La mayor positividad de las sondas con dianas son rRNA 16S en casos no tratados comparado con sondas sobre rDNA 16S puede explicarse por el hecho de que las sondas sobre DNA requieren 10^4 - 10^5 dianas para una señal positiva, mientras que las sondas con dianas RNA ribosómico tienen un número mayor por célula viva (2000-5000 copias) y estas se degradan más rápidamente después de la muerte bacilar.^{2, 10, 11, 12} Esta ventaja no presenta ninguna diferencia estadísticamente significativa en este estudio por el reducido número de casos. Las posibles ventajas de estas técnicas requieren un análisis y su verificación estadística en un número mayor de casos. El trabajo revela que la positividad rRNA 16S disminuye con el tratamiento. Por tanto, la detección de rRNA 16S puede emplearse para controlar el tratamiento correlacionado con la pérdida de viabilidad del *M. leprae*. Se ha publicado una disminución de la señal en casos adultos MB en tratamiento,¹² pero no hay mucha experiencia con casos menos bacilíferos. Aunque los resultados deben ser validados en un mayor número de casos, las tendencias son prometedoras. La proporción de casos con secuencias de ácidos nucleicos detectables disminuyó progresivamente. Como ya se informó anteriormente, las señales de DNA detectado por PCR disminuye con el tratamiento, pero persiste en un determinado número de casos.^{17, 18} Como el tratamiento recomendado ha sido reducido y es casi el mismo que el de los casos a mitad del tratamiento en esta serie, el significado de estas señales positivas en dicho punto precisa ser evaluado mediante estudios de seguimiento.

En conclusión, este estudio apoya la utilidad potencial de la hibridación con sondas génicas con dianas sobre rRNA 16S o rDNA 16S para la confirmación de casos MB activos y también podrá ser útil para controlar el tratamiento. Para una seguridad máxima, el uso de métodos de amplificación de genes como PCR (con posibles dianas m-RNA o r-RNA).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al personal médico y paramédico por su asistencia técnica y a LEPRO UK por sus valiosas contribuciones de reactivos.

REFERENCIAS

1. WHO: Global Leprosy situation *Weekly Epidemiol Recd*, 1999; **74**: 313-320.
2. KATOCH, VM.; KANAUJIA, GV.; SHIVANAVAR, CT.; *et al.*: Ribosomal RNA gene based probes for early diagnosis and epidemiology of leprosy. *Quard Di Cooper Sanitor* 1992; **2**: 163-166.
3. DEWIT, MYL.; FABER, WR.; KRIEG, SR.; *et al.*: Application of polymerase chain reaction to detection of *Mycobacterium leprae*. *J. Clin Microbiol*, 1991; **29**: 906-910.
4. DAYAL, R.; AGRAWAL, PK.; KALRA, K.; *et al.*: Diagnostic value of gene probes and its correlation with clinical profile of leprosy in children. *Ind J Pediatr* 1994; **31**: 1521-1527.
5. DAYAL, R.; GUPTA, R.; MATHUR, PP.; *et al.*: Study of gene probes in child hood leprosy. *Ind.J Pediatr*, 1997; **65**: 99-105.
6. HARTSKREEL, RA.; DEWIT, MYL.; KLATSER, PR.: Polymerase chain reaction for detection of *M. leprae*. *J Gen Microbiol*, 1989; **35**: 2357-2364.
7. WHO: Expert Committee on Leprosy. *Sixth Technical Report Series No 768*. WHO, Geneva, 1988, pp. 14-15.
8. KATOCH, K.; RAMU, G.; RAMANATHAN, U.; *et al.*: Result of modified WHO Regimen in highly bacilliferous BL/ LL patients. *Int J Lepr*, 1989b; **57**: 451-457.
9. KATOCH, K.; RAMANATHAN, U.; NATARAJAN, N.; *et al.*: Relapses in paucibacillary patients after treatment with three short term regimens containing rifampicin. *Int J Lepr*, 1989; **57**: 458-464.
10. KATOCH, VM.; KANAUJIA, GV.; SHIVANAVAR, CT.; *et al.*: Progress in developing ribosomal RNA and r-RNA genes based probes for diagnosis and epidemiology of infectious diseases specially leprosy. In: Kumar S, Sen AK, Dutta GP, Sharma RN (eds) *Tropical diseases — molecular biology and control strategies*. CSIR, New Delhi, 1994, pp. 581-587.
11. SHARMA, RK.; KATOCH, VM.; KATOCH, K.; *et al.*: Comparison of sensitivity of probes targeting ribosomal RNA Vs DNA in leprosy cases. *Ind J Med Microbiol*, 1996a; **14**: 99-104.

12. SHARMA, RK.; SHIVANAVAR, CT.; KATOCH, K.; *et al.*: Microdensitometric scanning procedure for quantitative assessment of hybridization of r-RNA targeting probes in leprosy. *Acta Leprol*, 1997; **10**: 213-217.
13. DAYAL, R.; PALWAL, AK.; PRASHAD, R.: A clinicobacteriological profile of leprosy in children. *Ind J Pediatr*, 1989; **26**: 122-128.
14. NOUSSITOU, FM.; SANSARICQ, H.; WALTER, J.: *Leprosy in children*. WHO, Geneva, 1976.
15. DAVE, MS.; AGARWAL, SK.: Prevalence of leprosy in children of leprosy patients. *Lepr Ind*, 1984; **56**: 615-621.
16. BHASWAR, BS.; MEHTA, NR.: An epidemiological study of leprosy through school survey in Surat, Gujarat. *Lepr Ind*, 1980; **52**: 548-556.
17. WOODS, SA.; COLE, ST.: A rapid method for detection of potentially viable *Mycobacterium leprae* in human biopsies: a novel application of PCR. *FEMS Microbiol Letts*, 1989; **65**: 305-310.
18. SINGH, HB.; KATOCH, K.; NATRAJAN, M. *et al.*: Effect of treatment on PCR positivity in multibacillary leprosy patients treated with conventional and newer drugs ofloxacin and minocycline. *Acta Leprol*, 1999; **11**: 179-182.

TÉCNICA DE LA INOCULACIÓN EN ALMOHADILLA PLANTAR PARA CULTIVO DEL *MYCOBACTERIUM LEPRAE*

LOUIS LEVY* & BAOHONG JI**

RESUMEN

Aunque la multiplicación del *M. leprae* en las almohadillas plantares de ratones inmuno-competentes es limitada y no se originan lesiones típicas de la enfermedad, este método representa el primer sistema útil y modelo animal reproducible de la infección por *M. leprae*. Su uso ha permitido establecer investigaciones sobre temas básicos referentes a la enfermedad y sobre la microbiología del *M. leprae* y la epidemiología, tratamiento y control de la lepra. Esta técnica es muy laboriosa y cara en cuanto a la compra y mantenimiento de los animales. Además, es imprecisa e insensible comparada con las técnicas utilizadas con microorganismos cultivables. Por estas razones y también por el éxito de la multiterapia, ha sido abandonada por muchos centros. Sin embargo, hasta que se disponga de una técnica más sensible y simple para demostrar la viabilidad del *M. leprae*, sigue siendo un instrumento esencial para la investigación en este campo. En este trabajo, se revisa la técnica de la almohadilla en detalle, se analiza su precisión y limitaciones, sus importantes aplicaciones y se describe el método que pueda reemplazar a este en el futuro.

SUMMARY

Although multiplication of *Mycobacterium leprae* in the foot pads of immune-competent mice is limited, and no leprosy-like lesions are produced in these animals, the Mouse foot-pad system represents the first truly useful and re-

* Department of Dermatology, Hadassah University Hospital, Jerusalem, Israel.

** Bactériologie et Hygiène. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France.

Correspondencia a: B. Ji, Bactériologie et Hygiène. Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, 91, Boulevard de l'Hôpital, 75634 Paris Cedex 13, France (e-mail: baohong_ji@yahoo.com)

Este trabajo es una reproducción de "Leprosy Review", vol. 77, núm. 1, marzo 2006, págs. 5-24.

producibile animal model of *M. leprae* infection. Its employment has enabled research into basic questions with respect to the microbiology of *M. leprae*, and the epidemiology, treatment and control of leprosy. The mouse foot-pad technique is labour-intensive and time-consuming, and is expensive in terms of the costs of animal purchase and maintenance. In addition, the technique appears to be rather imprecise and insensitive, compared with the techniques employed in working with cultivable micro-organisms. For these reasons, and also as a by-product of the success of multi-drug therapy, the technique has been abandoned in many research centres. Nevertheless, until a more simple and sensitive technique for demonstrating the viability of *M. leprae* is developed, the mouse foot-pad system remains an essential tool for leprosy research. In this review, we discuss the mouse foot-pad technique in detail, analyse its precision, point out its shortcomings, describe its most important applications, and prescribe a method by which to assess the ability of an alternative technique to serve in place of this established technique.

INTRODUCCIÓN

A pesar de los continuos esfuerzos durante décadas por muchos grupos de investigadores, el *Mycobacterium leprae*, el agente causal de la lepra humana, todavía no ha sido cultivado en medio sintético, aunque hay estudios que afirman haber conseguido algunos indicios de actividad metabólica con medios *in vitro*.¹ Además, el análisis del genoma del *M. leprae* parece indicar que su cultivo en medio sintético quizás no sea posible: menos de la mitad del genoma contiene genes funcionales, mientras que los genes inactivados o pseudogenes son muy abundantes; el genoma ha sufrido una reducción evolutiva, acompañada de una degradación génica y reducción de tamaño. Estos cambios evolutivos han originado la eliminación de importantes rutas metabólicas, junto a circuitos reguladores y funciones de tipo accesorio, particularmente los comprometidos en el catabolismo.^{2,3}

La incapacidad de cultivar el *M. leprae* en medios sintéticos o celulares hizo que C.C. SHEPARD intentara cultivarlo en la almohadilla plantar del ratón. Como describió en dos artículos fundamentales,^{4,5} la técnica implica la inoculación de pequeñas cantidades del organismo ($\leq 10^4$) en la almohadilla plantar del ratón inmuno-competente. Los organismos se multiplican muy lentamente *in situ*, con un tiempo de generación de aproximadamente 2 semanas. Durante varios meses el *M. leprae* se duplica entre 6-8 veces, estando su multiplicación limitada por el sistema inmune del ratón. Inoculaciones mayores ($\geq 10^5$ organismos) parece ser que priman el sistema inmunológico antes de que haya multiplicación apreciable. Como resultado, el inóculo sólo contiene proporciones diminutas ($< 1:10^4$) de organismos viables que normalmente no originan multiplicación, resultando la técnica insensible. Además, la respuesta inmune del ratón es bastante eficiente una vez alcanzado el máximo de reproducción y casi todos los organismos son inactivados¹ de manera que resulta difícil obtener con esta técnica grandes cantidades de organismos viables.

A pesar de todas estas limitaciones, actualmente no se dispone de una alternativa válida a la técnica de inoculación plantar como sistema para cultivar *M. leprae*. Sin embargo, a pesar de su importancia histórica y su aportación a los conocimientos sobre *M. leprae* y la lepra, esta técnica ha sido abandonada en muchos laboratorios, ya que los investigadores más jóvenes y recién llegados al campo de la lepra se muestran impacientes con ella, y los más veteranos están siendo reemplazados en sus departamentos.

Esta revisión no pretende ser un manual de “hágalo usted mismo” para los que quieran implantar esta técnica en su laboratorio, ni pretende ser una revisión completa de todo lo publicado sobre el tema. Por el contrario, el objetivo de este trabajo es elaborar la base científica de la técnica y facilitar ejemplos de sus diversas aplicaciones, proporcionar estándares mediante los cuales se puedan intercambiar resultados y proporcionar sugerencias sobre posibles alternativas futuras a la técnica.

Antecedentes

SHEPARD escogió la almohadilla plantar trasera del ratón como zona para intentar cultivar el *M. leprae* por dos motivos. Los inmunólogos ya utilizaban la almohadilla plantar para evaluar las respuestas a antígenos. Más relevante todavía, era que FENNER⁷ ya había descrito la multiplicación en la almohadilla plantar del ratón de *M. marinum* y *M. ulcerans*, organismos que presentan temperaturas óptimas de crecimiento menores de 37 °C. La temperatura óptima del *M. leprae* ya se suponía inferior a 37 °C por su predilección por las zonas más templadas de la piel y nervios periféricos. Shepard demostró⁸ que la almohadilla plantar está a una temperatura varios grados menores que la temperatura corporal del ratón (aunque sus datos demuestran que la cola es todavía más fría, este es un órgano mucho mayor y, por tanto, el inóculo no se mantiene localizado y además resulta más difícil de inyectar).

SHEPARD descubrió^{4,5} que el *M. leprae* obtenido de las biopsias cutáneas o lavados nasales de los pacientes con lepra lepromatosa e inoculados en las almohadillas plantares de los ratones, se multiplicaban localmente si se diluía apropiadamente dicho inóculo. Además, los organismos obtenidos de las almohadillas inoculadas se multiplicaban de manera constante mediante pasaje a las almohadillas de ratones no infectados. Si el inóculo es inferior a $\leq 10^4$ bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) por almohadilla, se observa un incremento de 50- a 1.000-veces superior en cada pasaje. Una cepa de *M. leprae* se multiplicó 6×10^9 - veces al final de 5 pasajes y 17 cepas demostraron incremento de 10^4 - a 10^7 - durante el transcurso de 3 pasajes. Estos hallazgos de SHEPARD fueron posteriormente confirmados por REES⁹ y Pattyn¹⁰ entre otros y esta técnica se convirtió en un importante instrumento de investigación para la lepra.

Antes de los experimentos de SHEPARD, muchos investigadores habían inoculado *M. leprae* en ratones y otros mamíferos pequeños por distintas vías. Sin embargo, estos trabajadores intentaban conseguir manifestaciones de una enferme-

dad tipo lepra, mientras que SHEPARD simplemente enumeró los AFB en el inóculo y después de la multiplicación en los tejidos inoculados. Se obtuvieron resultados similares en otros roedores, incluyendo la rata, el jerbo, hámster y *Mystromys*^{4,11} y aunque sí que se han conseguido enfermedades tipo lepra en ratones inmunocomprometidos^{12,13} y ratas¹⁴, el armadillo¹⁵ y varios primates¹⁶, el ratón de laboratorio inmuno-competente ofrecía la ventaja de la economía y disponibilidad de numerosas cepas genéticamente bien definidos. Por tanto, la mayor parte del trabajo se llevó a cabo en ratones.

Multiplicación del *M. leprae* en el ratón

MULTIPLICACIÓN EN EL RATÓN INMUNO-COMPETENTE

La multiplicación del *M. leprae* en la almohadilla plantar trasera del ratón inmunológicamente intacto BALB/c está representado en la curva típica de crecimiento de la Figura 1. En este ejemplo,¹⁷ se inoculan los ratones en la almohadilla plantar trasera con 5×10^3 *M. leprae*, y a partir de los 60 días se recogen a intervalos determinados los bacilos de un pool tisular de entre 4 a 8 almohadillas. La cantidad de BAAR por almohadilla puede aumentar exponencialmente hasta $>10^6$ durante el transcurso de los 150 días después de la inoculación, seguido por una fase estacionaria o "plateau". Este proceso, aunque lento, es reproducible.

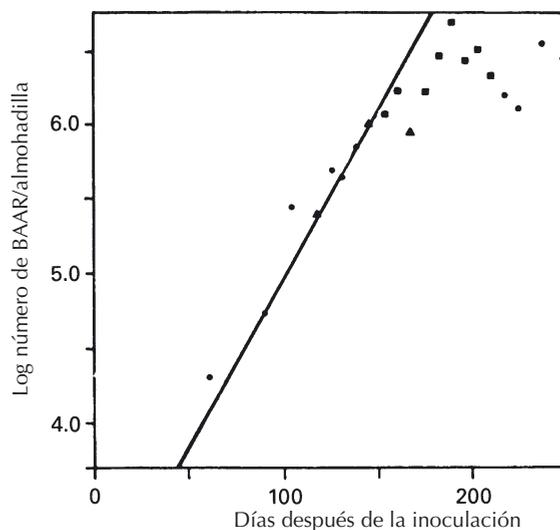


Figura 1: Curva de crecimiento del *M. leprae* en la almohadilla plantar de ratón inmuno-competente BALB/c. Los ratones fueron inoculados en la almohadilla plantar con 5×10^3 organismos y se efectuaron recuentos de los homogeneizados resultantes de 4 (●), 6 (▲) u 8 (■) almohadillas plantares a los intervalos descritos. El tiempo de generación durante la multiplicación logarítmica, calculada a partir de trazar la línea recta mejor ajustada, es de aproximadamente 13 días (adaptado de la referencia n.º 17).

MUPLICACIÓN EN EL RATÓN INMUNO-COMPROMETIDO

En un trabajo ya clásico,¹² REES reveló que en ratones CBA adultos-timectomizados, irradiados letalmente y con reconstitución de médula ósea, los animales inoculados con 10^4 *M. leprae*/almohadilla plantar, estos se multiplicaron hasta un máximo de dos o tres veces superiores en los timectomizados-irradiados (T + I) que en los inmuno-competentes CBA inoculados con la misma suspensión bacteriana. Además, los ratones T + I permitían la multiplicación de un inóculo de 10^6 por almohadilla plantar, mientras que con esta magnitud no se conseguía multiplicación en ratones inmuno-competentes. Gaugas¹⁸, obtuvo resultados similares sustituyendo la globulina anti-linfocítica por la irradiación.

COLSTON y su grupo demostraron³ un máximo de multiplicación incluso más elevado en ratones "desnudos" congénitamente atímicos (*nu/nu*) y a los 18-24 meses después de la inoculación muchos animales presentaron un engrosamiento visible de las almohadillas inoculadas.

DOSIS INFECTIVAS MÍNIMAS DE *M. LEPRAE*

En la tabla 1 se presenta la evidencia de que un solo *M. leprae* viable es suficiente para conseguir la multiplicación en el ratón. Se observó que el *M. leprae* se multiplicó en al menos siete de las 10 almohadillas inoculadas mediante un promedio de cinco bacilos por almohadilla en ocho experimentos en que los pasajes se efectuaron entre 30 días antes y 13 días después de que la multiplicación alcanzara 10^6 BAAR.⁶

Además, como se demostrará, una fracción del inóculo se pierde inmediatamente en el punto de administración. Por tanto, aunque se inocularon cinco organismos viables de promedio, la distribución más o menos al azar del inóculo BAAR junto al hecho de que algunos de los BAAR se pierden en el sitio de inoculación, sugiere que la multiplicación del *M. leprae* en muchos ratones representada en la Tabla 1, puede haberse conseguido con sólo un organismo viable.

TIEMPO DE REPRODUCCIÓN DEL *M. LEPRAE*

Como el *M. leprae* se multiplica a la misma velocidad en ratones inmuno-competentes y ratones inmuno-comprometidos, parece ser que la velocidad con la que se multiplican en la almohadilla plantar puede ser máxima. El cálculo del tiempo de reproducción a partir de la pendiente de la fase logarítmica es imprecisa, porque las cantidades más pequeñas de *M. leprae* se calculan a partir de sólo algunos organismos y porque el inicio de la fase plateau es difícil de determinar. Una técnica alternativa puede ser medir la diferencia de tiempo entre curvas de crecimiento paralelas que resultan de inocular grupos de ratones con diluciones seriadas $\times 10$ de la misma suspensión bacteriana. En un experimento, resumido en la Figura 2, las curvas están separadas entre 40-45 días, equivalente a 13 días de tiempo de doblamiento bacteriano (la diferencia entre dos inóculos adya-

centes, p. ej. 5×10^3 y 5×10^2 , es equivalente a 3,32 doblamientos). El valor medio del tiempo de generación derivado de este y seis experimentos más fue 11.1 ± 1.92 (promedio \pm 95% límites de confianza) días.²⁰

Tabla 1: Muerte del *M. leprae* durante la fase “plateau” (adaptado de la referencia n.º 6). En 21 experimentos se inocularon ratones BALB/c lactantes con diluciones seriadas x 10 de suspensiones de *M. leprae*, de manera que los ratones se inoculan con un promedio de 5×10^3 , 5×10^2 , 5×10^1 o 5 BAAR por almohadilla plantar. Se analizan muestras de al menos 1 año después de la inoculación, y se acordó que había multiplicación si el número de BAAR era $\geq 10^5$ por almohadilla plantar, sin tener en cuenta la cantidad inoculada.

N.º almohadillas infectadas/N.º inoculados con:					
N.º días después de 10⁶					N.º <i>M. leprae</i> viable* por 5×10^3
	5×10^3	5×10^2	5×10^1	5×10^0	
-30			6/6	10/10	5.000
-27				10/10	5.000
-6				7/10	600
0				10/10	5.000
1				9/10	2.300
8			10/10	9/10	2.300
11			10/10	7/10	1.200
13			10/10	7/10	1.200
14	2/4	2/10	0/10		1
22			9/10	5/10	350
61		6/10	2/8		12
78	4/8	2/10	1/10		1
82			10/10	6/10	900
94	6/10	2/10			1
95	1/8	7/10	0/10		1
110		9/10	0/6		23
117			7/10	3/10	155
122	10/10	2/2	1/10		18
158	7/10	2/10	0/10		2
191	10/10	7/10	0/10		12
232	10/10	6/10	0/10		9

* Estos valores se calculan como MPN por medio de la ecuación HALVORSON y ZIEGLER.²¹

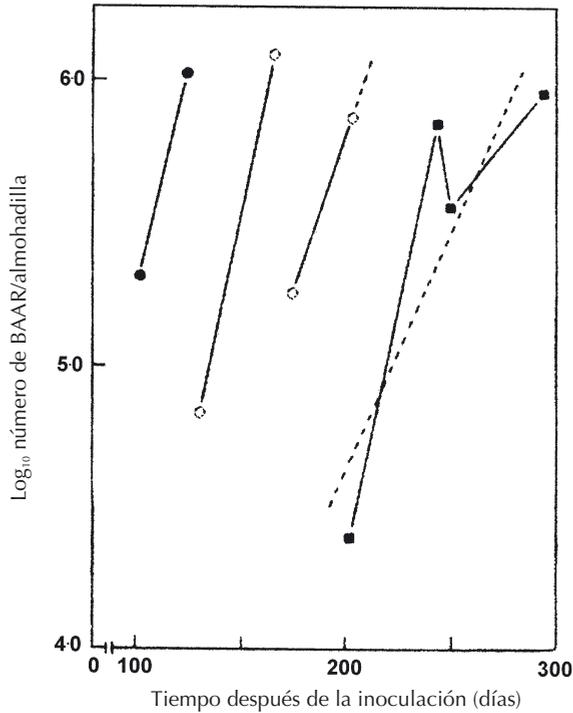


Figura 2: El número \log_{10} de *M. leprae*/almohadilla como función de la cantidad de días desde la inoculación al examen de la muestra y el número de BAAR inoculados. Los puntos representan las cantidades obtenidas de *M. leprae* en cada grupo de ratones: la línea recta que mejor se ajusta se utiliza para medir el tiempo desde la inoculación a la multiplicación al nivel de 10^6 BAAR/almohadilla. Los ratones se inocularon con 5.000 (●), 500 (○), 50 (Δ), o 5 (■) BAAR/almohadilla (de referencia n.º 20).

FASE "PLATEAU"

La fase "plateau" de la curva de crecimiento del *M. leprae* en la almohadilla plantar es similar a la fase estacionaria del crecimiento de bacterias cultivables. Sin embargo, el cese de la multiplicación del *M. leprae* en la almohadilla plantar no es por el agotamiento de los nutrientes esenciales o acumulación de productos tóxicos del metabolismo bacteriano, que son los causantes de la fase estacionaria en cultivo, sino que los organismos son inactivados por el huésped, el ratón.

La evidencia sobre este tema puede hallarse en una serie de experimentos,⁶ en que las distintas proporciones de organismos viables calculados a intervalos antes y después de que el *M. leprae* alcanzara el nivel de 10^6 por almohadilla plantar, por el método HALVORSON y ZIEGLER²¹ del "número más probable" (MPN). Los resultados de estos experimentos resumidos en la Tabla 1, demuestran que al

cesar la multiplicación, los *M. leprae* viables desaparecen en un tiempo medio de 25 días. Por lo tanto, la fase plateau o estacionaria se caracteriza por la muerte de los bacilos.

Incremento de la multiplicación en ratones inmuno-comprometidos y su reversión al reconstituir el sistema inmunológico

Que la multiplicación del *M. leprae* esta incrementada en las almohadillas plantares de ratones inmuno-comprometidos sugiere que la multiplicación esta limitada por la respuesta inmunológica del ratón. Además, REES demostró¹² una rápida reversión de la lesión de la almohadilla en ratones T + I por reconstitución del ratón mediante linfocitos singénicos. Otros investigadores²²⁻²⁴ han informado sobre la reversión del proceso patológico en ratones desnudos *M. leprae* infectados mediante reconstitución inmunológica. Sin embargo, utilizando una técnica *in vitro*, ADAMS y sus co-trabajadores²⁵ fueron incapaces de demostrar la muerte de los bacilos en ratones infectados y *nu/nu* reconstituidos.

Resistencia frente a la sobreinfección

Si el mecanismo mediante el cual los ratones limitan la multiplicación del *M. leprae* es una respuesta inmunológica mediada por células, los ratones primados poco después de una infección previa, antes de poder mostrar una respuesta inmunológica, no deben estar protegidos frente a una primo-infección secundaria, mientras que los primados después del inicio de la respuesta inmunológica deben estar protegidos. Se demostró este proceso en una serie de experimentos²⁶ en los que grupos de ratones fueron inoculados en una almohadilla plantar y a distintos intervalos después, primados en la otra almohadilla plantar con *M. leprae* de la misma cepa.

Precisión de la técnica

En el Apéndice 1 se resume una descripción de la técnica de la almohadilla plantar, por SHEPARD y D. H. MCRAE.²⁷ Brevemente, se sacrifica el animal y se disecciona la almohadilla plantar inoculada y se homogeniza. Se disponen pequeñas alícuotas del homogeneizado sobre los "círculos" de la cámara de contar, que se tiñe y se examina al microscopio óptico. Como no es posible examinar todo el homogeneizado, sólo se cuentan los organismos presentes en una pequeña muestra. Además, como todas las micobacterias, el *M. leprae* tiende a formar grumos de bacilos y además la homogeneización no consigue disgregar todos los BAAR. Como resultado de todo esto, el *M. leprae* no es probable que esté distribuido uniformemente por todo el homogeneizado y el recuento de BAAR estará sujeto a errores. La precisión de esta técnica ha sido estudiada por Krushat y colaboradores.²⁸

Primero, se detectó que los BAAR en muestras con cantidades minimas (≤ 2 por campo microscópico) de bacilos estaban distribuidos más al azar, i.e. su distribución era consistente con la distribución Poisson (ver Apéndice 2).

Estos investigadores también evaluaron la variación en la cantidad de BAAR entre las distintas muestras preparadas de un homogeneizado y de las distintas muestras de duplicados, tanto de un único ratón como de un pool de muestras de varios animales. La variación obtenida en los recuentos de estas BAAR en las preparaciones duplicadas resultó consistente con una distribución normal. Además, la variación desde el recuento mayor a menor, de las almohadillas de cuatro ratones efectuado en 13 grupos fue de 1,67 a 20,0, con un promedio de 6,66 y el resultado obtenido mediante grupos de cuatro a ocho ratones en los duplicados de muestras resultó menor a 4,08. Estos resultados revelan que esta técnica es reproducible ya que, a pesar de la distribución no aleatoria del *M. leprae* en los homogeneizados, la técnica de almohadilla plantar presenta una gran precisión.

Finalmente, también se dispone de evidencias que indican que cuando se inoculan ambas almohadillas traseras al mismo tiempo con *M. leprae* viable, los organismos se reproducen en cada almohadilla trasera ⁶ de forma independiente. En un experimento donde se sacrificaron los animales y obtuvieron muestras de ambas almohadillas traseras que habían sido inoculadas con la misma suspensión bacteriana, se evidenció multiplicación en el 48% de las mismas; el 23% presentó multiplicación en ambas almohadillas; 27% en ninguna y 50% en sólo una, que es exactamente la predicción de la distribución binomial.²⁹

Todavía hay otras fuentes de error. Una es el momento o intervalo de sacrificio del animal: si es demasiado pronto se puede estar afectando la multiplicación del *M. leprae*, mientras que si es tardía puede enmascarar importantes diferencias entre grupos de animales de experimentación. Otro motivo de error es que el inóculo contenga sólo pocos bacilos viables. Si el inóculo ($\leq 10^4$ *M. leprae* por almohadilla) contiene pocos organismos viables, de manera que algunas almohadillas se inoculan con uno o más organismos viables, mientras que otras solamente con *M. leprae* no viable, como ocurre algunas veces,³⁰ la variación en las cantidades de BAAR obtenidas de los sacrificios por duplicado puede ser mucho mayor que el obtenido por KRUSHAT *et al.*²⁸ En dichas circunstancias, el resultado de sacrificios duplicados puede variar desde el mínimo (8.875, si sólo hay un BAAR) durante el examen de 40 campos microscópicos, como se observa en el Apéndice 1, hasta 100 veces o más esta cantidad.

En la Tabla 2 se presentan las distintas cantidades obtenidas de los duplicados de muestras de *M. leprae* de las almohadillas individuales, de los ratones control no tratados de seis experimentos. El riesgo de variación entre el menor a mayor número de BAAR, va desde 10 a 480. El análisis obtenido de los resultados de estos seis experimentos revela que el inóculo difiere mucho, en términos de proporción de *M. leprae* viable; la proporción de organismos viables en el mayor de los inóculos era 10 veces mayor que en el que menos contenía.

DESTINO DEL INÓCULO

Junto al problema de la distribución no-aleatoria de los microorganismos, se presenta otra complicación que es la pérdida del inóculo del punto de inocula-

ción. Como se puede deducir de la descripción de la enumeración de los BAAR obtenidos de las almohadillas inoculadas, no es posible medir la proporción de inóculo que permanece en el tejido de la almohadilla después de la inoculación; recuperar el inóculo al completo de $\leq 10^4$ BAAR de la almohadilla resultaría en el recuento de menos de un BAAR por 40 campos microscópicos, de promedio. Durante el transcurso de un experimento donde se inocularon las almohadillas plantares con gran cantidad de *M. leprae* y se sacrificaron los animales a los pocos días, se observó que sólo se recuperó un 30% de los organismos inoculados,³⁴ lo que sugiere que una parte importante del inóculo se pierde y se han realizado experimentos para intentar cuantificar esta pérdida.³⁵

Tabla 2: Evaluación del número de *M. leprae* en almohadillas plantares individuales de los ratones control de seis experimentos. Los resultados de los análisis individuales de *M. leprae* representando los grupos de control de seis experimentos distintos, se analizan en términos de la variación almohadilla por almohadilla en las cantidades de BAAR obtenidos.

Fuente (N.º de referencia)	N.º almohadilla	N.º BAAR/almohadilla (x 10 ⁵)			
		Almohadillas individuales	Mediano	Ratio	MPN*
31	6	9·14, 5·50, 4·44, 2·40, 1·24, 0·889	3·42	10·2	1·25
30	16	7·72, 4·08, 1·60, 0·71, 0·62, 0·089 (2), ** <0·089 (9)	<0·089	>86·7	0·288
32	15	33·6, 20·2, 18·9, 15·1, 11·5, 8·70, 6·39, 6·04, 5·06, 4·70, 4·62, 3·90, 3·37, 3·36, 1·69	6·04	19·9	2·77
***	36	14·3, 5·95, 5·15, 4·86, 4·62, 3·37, 2·84, 2·31, 1·86, 1·69, 1·60, 1·51 (2), 1·33, 1·24, 1·15, 1·06 (3), 0·976 (2), 0·89, 0·621 (3), 0·266 (2), 0·178 (3), 0·089 (2), <0·089 (4)	1·06	161	0·723
33	25	48, 37, 33, 9·6, 6·9, 4·7, 3·75, 2·65, 2·3, 1·3 (2), 0·8 (2), 0·4 (5), 0·2 (2), 0·1 (5)	0·80	480	0·280
33	14	89·8, 45·7, 40, 30, 20·8 (2), 18·6, 12·7, 12·5, 7·2, 5·4, 5·3, 5·2, 3·4	15·6	26·4	1·36

** N.º más probable de *M. leprae* viable por 5000 BAAR.

*** N.º de almohadillas con el resultado esperado; en los demás casos, sólo una almohadilla presentó el resultado esperado.

*** Estos son resultados no publicados de M. Ngamyng *et al.*

Se prepararon inóculos de *M. leprae* por centrifugación de las suspensiones bacterianas obtenidas de almohadillas plantares de muchos ratones y estas suspensiones concentradas se volvieron a inocular en las almohadillas plantares de otros ratones. Se sacrificaron los animales a intervalos desde 1 h a 9 días después de la inoculación y se hicieron recuentos de los BAAR recuperados. Se obtuvo un máximo del 40% y un mínimo del 10% de los BAAR inoculados a las pocas horas siguientes a la inoculación, mientras que se recuperaba hasta un 75% del total de los BAAR simplemente añadidos a un homogeneizado. Además, si se homogeneizaba el tejido adyacente al punto de inoculación tampoco se obtenían BAAR. Se obtuvieron resultados similares al inocular almohadillas plantares con *M. marinum*, y efectuado un recuento a las 1-2 horas después mediante un homogeneizado.

Que el 70-90% del inóculo pueda perderse inmediatamente con sólo cinco organismos, dejando sólo uno o dos BAAR para que se multiplique *in situ*, apoya la conclusión que un único organismo viable *M. leprae* es suficiente para conseguir la multiplicación en la almohadilla plantar.

Aplicaciones de la técnica de la almohadilla plantar

El no poder cultivar el *M. leprae* en medio libre de células ha supuesto un gran impedimento para la investigación de la lepra. La única alternativa a este obstáculo ha sido la técnica de inoculación en almohadilla plantar, que ha permitido efectuar investigaciones en muchos campos. La aplicación de esta técnica se considera aquí bajo dos conceptos: el ratón como medio de cultivo y el ratón como modelo del huésped humano.

Se ha escogido un único ejemplo de cada uno de estos conceptos para ilustrar la manera en que se aplica la técnica.

EL RATÓN COMO MEDIO DE CULTIVO

Cribaje de medicamentos

Se han empleado varios métodos para cribar medicamentos. El método “continuo” que fue el primero utilizado para demostrar la actividad antimicrobiana de un medicamento frente al *M. leprae* en ratones,³⁶ exige que se administren los medicamentos a los ratones *M. leprae* infectados desde el mismo día de la inoculación hasta que se sacrifican los animales, los medicamentos activos son los que inhiben la multiplicación de los organismos, evaluado en el momento de examinar las almohadillas plantares de los animales sacrificados. Es el método más sensible para detectar la actividad antimicrobiana frente al *M. leprae*. Sin embargo, no puede diferenciar la actividad bactericida de la meramente bacteriostática; aunque muchos principios activos exhiben actividad bacteriostática frente al *M. leprae*, son pocos los bactericidas y estos serían los más interesantes para un tratamiento farmacológico combinado frente a la lepra.^{37, 38}

El método “cinético” es idéntico al continuo, excepto que el principio activo se administra durante un período limitado, iniciándose normalmente a los 60 días después de la inoculación, que es cuando los organismos están en la fase logarítmica de multiplicación y continua hasta los 90 días,^{39,40} aunque la administración del potencial medicamento se limita a una única dosis.⁴¹ Se evalúa la actividad del medicamento en términos de “retraso en el crecimiento”, determinado por la comparación entre el número de días necesario para la multiplicación hasta 10^6 BAAR por almohadilla entre los ratones tratados comparado con los controles no tratados. Un principio activo puramente bacteriostático inhibe la multiplicación del *M. leprae*, mientras continúa la administración, p. ej., el que ya no se detecte multiplicación bacteriana inmediatamente después de cesar la administración de medicamento sugiere que el *M. leprae* fue inactivado durante el tratamiento, o que hubo bacteriostasis prolongada. Este tipo de bacteriostasis puede atribuirse a la persistencia del medicamento en los tejidos o entre los microorganismos o puede reflejar el tiempo de recuperación que requieren los bacilos no inactivados. Por tanto, aunque el método cinético puede distinguir entre los puramente bacteriostáticos y los denominados “tipo bactericidas”, pero no entre actividad bactericida y bacteriostática-prolongada, sí se puede demostrar la ausencia de actividad bactericida.

La técnica “bactericida proporcional” descrita por COLSTON,⁴² proporciona un medio para medir la actividad bactericida de un compuesto. Se efectúan diluciones seriadas $\times 10$ de la suspensión del *M. leprae* y se inoculan ratones con 5×10^3 hasta 5×10^{-1} (o desde 10^4 hasta 1) organismos por almohadilla plantar. Los ratones control se dejaron sin tratar, mientras que los restantes grupos de ratones se tratan durante períodos que van desde, dependiendo del medicamento, una única dosis a 60 días. Después del tratamiento, los ratones se dejan durante 12 meses, un período de tiempo más que suficiente para que un solo organismo superviviente se multiplique hasta cantidades detectables. Se efectúa recuento de las almohadillas individuales de los ratones, normalmente 10 por dilución de cada tipo de inóculo por tratamiento; se considera que hay multiplicación cuando se obtiene más de $\geq 10^5$ BAAR. La proporción de *M. leprae* viable que sobrevive al tratamiento puede calcularse a partir de la “dosis media infectiva” (ID_{50}), es decir la cantidad de organismos necesaria para infectar el 50% de los ratones.⁴³ Si el inóculo mayor es de 5×10^3 *M. leprae*/almohadilla plantar, se puede evaluar una proporción de *M. leprae* viable de 6/100.000 organismos. Se calcula la proporción de *M. leprae* viable inactivados por el tratamiento al comparar la proporción de organismos viables en los ratones tratados con los ratones controles.

En la Tabla 3 se reflejan los resultados de un experimento en que se cribaron varios medicamentos, solos y combinados, para evaluar la actividad bactericida frente al *M. leprae*.⁴⁴ Los medicamentos fueron HMR 3647, un nuevo macrólido; claritromicina; moxifloxacino; una nueva fluoroquinolona; ofloxacino; rifampicina; y rifapentina, una análoga de la rifampicina. Las combinaciones ensayadas fueron: ofloxacino + minociclina (OM); moxifloxacino + minociclina (MM); rifapentina + moxifloxacino + minociclina (PMM); y rifampicina + ofloxacino + minociclina

(ROM). Se administró cada medicamento o combinación mediante cebamiento a cuatro grupos de ratones que habían sido inoculados 3 días antes con 5×10^3 , 5×10^2 , 5×10^1 ó 5×10^0 *M. leprae*/almohadilla plantar. Los macrólidos se administraron diariamente durante 5 días consecutivos, mientras que de todos los restantes sólo se administró una dosis única. Los resultados demuestran, entre otros hallazgos, que el PMM inactivó el 99.9% de los *M. leprae* viable, una proporción considerablemente mayor que la conseguida por ROM o rifampicina sola. Este hallazgo resulta interesante porque ninguna combinación de medicamentos incluyendo rifampicina había demostrado más actividad que la rifampicina sola.

Aunque el método bactericida proporcional necesita más ratones y más tiempo que los otros métodos y no puede detectar compuestos bacteriostáticos o bacteriostáticos-retrasados y constituye el método más fiable para demostrar la actividad bactericida y permite cuantificar el grado de esta actividad.

Tabla 3: Comparación del efecto bactericida frente al *M. leprae* de varios medicamentos o combinaciones mediante el método bactericida proporcional (adaptado de referencia nº 44). HMR = HMR 3647; CLARI = claritromicina; MXFX = moxifloxacino; OFLO = ofloxacino; MINO = minociclina; RPT = rifapentina; RMP = rifampicina. Se inocularon los ratones en la almohadilla plantar con las cantidades *M. leprae* que se indican y se administraron 3 días después los tratamientos. Si no se indica lo contrario, se administraron todos los tratamientos como dosis única. Se analizaron muestras de *M. leprae* de almohadillas individuales aproximadamente un año después.

Tratamiento (mg/kg)	N.º de almohadillas que presentan multiplicación*/N.º de almohadillas realizadas, por inoculación					% <i>M. leprae</i> viable	% <i>M. leprae</i> sacrificado
	5×10^3	5×10^2	5×10^1	5×10^0	5×10^{-1}		
Controles no tratados	10/10	10/10	10/10	7/10	0/10	21·82	–
HMR (100 X 5 dosis)	10/10	10/10	7/10	0/10	–	2·18	90·0
CLARI (100 X 5 dosis)	10/10	10/10	8/10	3/10	–	5·48	74·9
MXFX (150)	10/10	10/10	6/10	0/10	–	1·73	92·1
OFLO (150)	10/10	10/10	10/10	3/10	–	8·69	60·2
MXFX (150) + MINO (25)	10/10	9/10	6/10	0/10	–	1·38	93·7
OFLO (150) + MINO (25)	10/10	8/10	10/10	3/10	–	5·48	74·9
RPT (10)	9/10	3/10	1/10	0/10	–	0·09	99·6
RMP (10)	9/10	10/10	7/10	0/10	–	1·73	92·1
RPT (10) + MXFX (150)							
+ MINO (25)	5/10	2/10	0/10	0/10	–	0·02	99·9
RMP (10) + OFLO (150)							
+ MINO (25)	10/10	9/10	5/10	0/10	–	1·09	95·0

* Se considera que ha habido multiplicación del *M. leprae* si la muestra analizada $\geq 10^5$ BAAR/almohadilla.

** % *M. leprae* viable = $0·69 \times 100/\text{ID}_{50}$.

Susceptibilidad anti-microbiana

El tratar a todos los pacientes con una quimioterapia efectiva es la base de la actual estrategia para el control de la lepra. Desde la primera demostración de Rees,⁴⁵ al inocular ratones, y detectar cepas sulfona-resistentes de *M. leprae*, se ha admitido que la aparición de cepas resistentes del bacilo puede afectar seriamente el tratamiento de la lepra y dificultar su control. Para prevenir la aparición y diseminación de cepas resistentes hay que tratar a los pacientes con una multi-terapia; además es fundamental identificar los pacientes ya infectados con cepas resistentes y tratarles con una pauta alternativa con agentes antimicrobianos frente a los cuales los organismos son susceptibles.

La evaluación de la susceptibilidad frente a agentes antimicrobianos del *M. leprae* recuperado de los pacientes de lepra ha sido una de las aplicaciones más importantes de la técnica de almohadilla plantar. Actualmente, es muy interesante determinar la susceptibilidad de los bacilos frente a los tres componentes de la multiterapia (MDT), rifampicina, dapsona y clofazimina sobre todo la rifampicina, el componente más importante. Por el gran incremento en el empleo de fluoroquinolonas en el tratamiento de la lepra y de que ya se ha detectado *M. leprae* ofloxacino-resistente,^{46, 47} también se debería evaluar su susceptibilidad entre los pacientes que presentan recidivas después de un tratamiento con pauta terapéutica que contenga fluoroquinolonas.

Sólo se puede comprobar la susceptibilidad frente al *M. leprae* de un medicamento con pacientes multibacilares y baciloscopias positivas. El procedimiento consiste en biopsiar una lesión cutánea aparentemente activa, recuperar los organismos de la muestra e inocular ratones inmuno-competentes con $\leq 10^4$ BAAR/almohadilla plantar. Se divide los ratones inoculados en grupos de 10-20 ratones; un grupo no recibe tratamiento y los ratones de los siguientes grupos se evalúan mediante el método continuo de susceptibilidad. Se administran los medicamentos en una o varias concentraciones. Si los medicamentos se absorben bien en el tracto gastrointestinal, se pueden administrar *per os*, incorporado en la dieta o por sobrealimentación.

Se analizan las almohadillas aproximadamente a los 6 meses de su inoculación en las almohadillas inoculadas de dos a cuatro ratones no tratados y se repite a intervalos de 2 meses hasta que los organismos se han multiplicado hasta un promedio de $\geq 5 \times 10^5$ BAAR/almohadilla plantar, y entonces es cuando se procesan las almohadillas de todos los ratones tratados. Mediante este criterio de multiplicación, si los organismos se multiplican sólo en ratones control, pero en ninguno de los tratados, la cepa es susceptible, mientras que la cepa se considera resistente si los organismos se multiplican en algún ratón. Finalmente, si los organismos no se multiplican en ratones tratados, pero en una proporción muy mínima de ratones control, de manera que la proporción de almohadillas inoculadas con multiplicación no es significativamente distinta de cero mediante el cálculo del test de probabilidad exacta de Fisher,⁴⁸ la susceptibilidad se considera no concluyente.

Recientemente, se han asociado varias mutaciones “anti-sentido” del genoma del *M. leprae* y resistencia a la dapsona,^{49, 50} rifampicina^{47, 51-53} y ofloxacino^{46, 47} y se han desarrollado técnicas DNA para la detección de *M. leprae* resistente. Por lo tanto, en el futuro quizás sea posible detectar *M. leprae* resistente mediante técnicas DNA rápidas y fiables de manera que ya no será necesario utilizar la técnica de inoculación en ratones.

Evaluación de la eficacia del tratamiento para la lepra en ensayos clínicos

Se demostró el efecto bactericida de los nuevos medicamentos para la lepra; rifampicina, ofloxacino, claritromicina y minociclina, mediante la técnica de inoculación en almohadilla plantar, antes de ser administradas a los pacientes para el tratamiento de la enfermedad. Como la farmacocinética de los principios activos y la patogénesis de la infección por *M. leprae* en ratones son bastante distintas a las del hombre, es necesario evaluar un nuevo medicamento o terapéutica combinada en un ensayo controlado antes de poder administrarlo en el campo.

El modo más eficiente de evaluar el efecto terapéutico de un nuevo agente anti-microbiano o una combinación en lepra multibacilar es evaluar la inactivación de los bacilos con el tratamiento. Esto se consiguió mediante la técnica de inocular en almohadilla plantar. Se obtienen biopsias cutáneas antes y durante intervalos prefijados del tratamiento, preferentemente de la misma lesión, y se aíslan los *M. leprae* obtenidos para su inoculación en la almohadilla plantar.³⁷ Se ha mejorado la sensibilidad de esta metodología mediante una modificación del método bactericida proporcional,^{54, 55} en la que se inoculan grupos de ratones con cuatro diluciones seriadas (x10) de la suspensión bacteriana, p. ej. 5×10^2 , 5×10^1 y 5 BAAR/almohadilla plantar.

Se presenta en la tabla 4 algunos de los resultados de un ensayo clínico,⁵⁴ en que se evaluaron los efectos bactericidas del tratamiento en términos de proporción de *M. leprae* viable antes y después del tratamiento. Aunque el tratamiento reveló actividad bactericida en todos los pacientes, se demostró la actividad en dos pacientes (pacientes 5 y 38) sólo mediante la evaluación de la proporción de organismos viables. Si sólo se habría empleado un inoculado de 5000 BAAR/almohadilla, la actividad bactericida del tratamiento no habría sido reconocida en estos dos pacientes, porque la proporción de almohadillas con multiplicación de *M. leprae* entre los inoculados con 5×10^3 BAAR/almohadilla después del tratamiento no difería significativamente del de antes del tratamiento.

Otra aportación importante de esta técnica, es la demostración de las recidivas de lepra multibacilar y la demostración de que el *M. leprae* es susceptible o resistente a estos medicamentos que han sido utilizados.⁵⁶⁻⁵⁸

EL RATÓN COMO HUÉSPED

Hay pocos trabajos relacionados con la respuesta del ratón a la infección con *M. leprae* y su posible importancia o relación con la respuesta en humanos.

Tabla 4: Proporción de *M. leprae* viable en cinco pacientes antes y después del tratamiento con distintas pautas farmacológicas (adaptado de referencia nº 54). Se administró una pauta farmacológica combinada experimental, en un ensayo clínico, con pacientes de lepra multibacilar (MB) cuyos bacilos se habían multiplicado en la almohadilla plantar. Al cesar la administración se obtuvieron biopsias de las lesiones. Se aislaron los *M. leprae* de la biopsia y se inocularon grupos de ratones en la almohadilla plantar con organismos en las cantidades presentadas. Se trataron los pacientes de la siguiente manera: n.º 5, dosis única de 2000 mg de claritromicina más 200 mg de minociclina; n.º 6, dosis única de 600 mg de rifampicina; n.º 7, 1 mes de la posología estándar MDT para lepra MB; n.º 21, una dosis única de 2000 mg de claritromicina más 200 mg de minociclina más 800 mg de ofloxacino; y n.º 38, 30 días de dapsona-clofazimina, principios activos del régimen MDT estándar para lepra MB.

Paciente n.º	Día de la biopsia	N.º de almohadillas que presentan multiplicación*/nº de almohadillas realizadas, por inóculo				% <i>M. leprae</i> viable**	% <i>M. leprae</i> sacrificado
		5 x 10 ³	5 x 10 ²	5 x 10 ¹	5 x 10 ⁰		
5	0	9/10	9/10	4/10	3/10	1.38	
	31	7/10	2/10	0/10	0/10	0.04	97.5
6	0	10/10	10/10	6/10	4/10	4.35	
	31	0/10	0/10	0/10	0/10	<0.006	>99.9
7	0	10/10	5/10	2/10	1/10	0.28	
	31	0/10	0/10	0/10	0/10	<0.006	>97.9
21	0	10/10	7/10	4/10	0/10	0.55	
	31	0/10	0/10	0/10	0/10	<0.006	>98.9
38	0	10/10	10/10	10/10	8/10	27.4	
31	10/10	7/10	3/10	1/10	0.45	98.0	

* Se considera que ha habido multiplicación si *M. leprae* $\geq 10^5$ BAAR por almohadilla.

** $0.69 \times 100/\text{ID}_{50}$.

Evaluación de vacunas candidatas

El ratón *M. leprae* infectado ha sido utilizado para estudiar la protección de candidatos a vacunas frente a la lepra. En un experimento típico,³² se vacunaron en un flanco de forma intracutánea con uno de entre varios componentes, algunos suspendidos en suero salino y otros emulsificados en adyuvante incompleto de Freund (FIA), a intervalos de una semana durante varias semanas y después son primados con 5×10^3 *M. leprae* en la almohadilla plantar trasera. Se obtuvieron muestras de todos los grupos.

Los resultados del experimento (Tabla 5) revelan que el esqueleto de la pared celular no confirió protección a los ratones, mientras tanto el citosol *M. leprae* (antígeno *M. leprae* soluble de donde se extraen carbohidratos solubles y lípidos) y el depósito de fracciones de membranas confiere protección, como una pequeña dosis de *M. leprae* inactivados por calor (control positivo).

Tabla 5: Protección conferida por componentes aislados de *M. leprae* (adaptado de referencia n.º 32) a los ratones inoculados con inóculos del mismo. PBS = tampón fosfato-salino; CW = pared celular *M. leprae*; ML = *M. leprae*; HKML = *M. leprae* inactivado por calor. Los distintos componentes, suspendidos en PBS, se administraron intradérmicamente a grupos de 12 a 15 ratones en una dosis de 20 µg por ratón en tres ocasiones a intervalos de 3 semanas. A los veintiocho días de la tercera inyección, se inoculan los ratones en la almohadilla plantar con 5×10^3 *M. leprae*. Entre 120 y 143 días después de la inoculación, se analizaron las muestras obtenidas de las almohadillas plantares de todos los supervivientes.

Material	N.º almohadilla	N.º <i>M. leprae</i> /almohadilla ($\times 10^5$)		
		Rango	Mediano	P*
PBS	15	1.69-33.6	6.04	—
Esqueleto CW	10	1.42-73.3	7.59	0.782
ML citosol	12	0.18-3.37	1.24	0.00004
Membrana ML	10	0.80-4.44	2.04	0.00034
HKML, 2×10^7	10	0.089-1.60	0.32	0.00003

* La probabilidad que estos resultados se obtengan de la misma población como los del correspondiente control, determinado por el Mann-Whitney U-test.

Una fuente potencial de error experimental en dichos experimentos es la variación de la respuesta de ratones individuales frente a una intervención, p. ej. medicamento o vacuna, que afecta la multiplicación del *M. leprae*. Lo más probable es que no todos los ratones de un experimento respondan de la misma manera. Aunque no se puede evaluar la variación, se puede minimizar empleando sólo ratones congénitos del mismo sexo y edad. Además, hay que emplear un número suficiente de ratones y aplicar las técnicas estadísticas adecuadas.

Sólo dos trabajos, el de KRUSHAT *et al*²⁸ y SHEPARD⁴³ han presentado análisis estadísticos de los resultados de la técnica de la almohadilla plantar. Sin embargo, ninguno de los trabajos explica el incremento de sensibilidad conferida por el elevado número de muestras o al emplear técnicas estadísticas no-paramétricas, que tienen menos impedimentos que las técnicas paramétricas que requieren que los datos se distribuyan normalmente.⁴⁸ Además, las técnicas no-paramétricas son útiles para el análisis de muestras pequeñas y permite comparación de agrupamiento de datos de distinto tamaño. Las operaciones son sencillas, particularmente si se utiliza el software apropiado, como MEDSTAT® (Astra-gruppen A/S, Copenhagen, Dinamarca) o STATA® (StataCorp, Collage Station, Texas).

Ratones manipulados genéticamente para estudios inmunológicos

El desarrollo de tecnologías transgénicas y de tipo knock-out ha permitido disponer de muchas cepas que presentan defectos inmunológicos específicos (el término "transgénico" se refiere a la incorporación al genoma del ratón de material extraño, p. ej. genes no-murinos y el término "knock-out" a la ruptura de genes específicos de ratón). Mediante esta técnica knock-out se han utilizado distintas cepas por JAMES KRAHENBUHL, LINDA ADAMS y sus colegas, para examinar los mecanismos inmunológicos comprometidos en la resistencia del ratón a la infección por *M. leprae*.

ADAMS *et al.*⁵⁹ examinaron la importancia de la producción de interferon- γ (IFN- γ) en la respuesta inmunológica del ratón a la infección con *M. leprae* al estudiar la evolución del proceso de las almohadillas plantares de ratón BALB/c IFN- $\gamma^{-/-}$ (GKO), en que se ha inducido la ruptura del gen que produce IFN- γ . Ratones GKO y ratones BALB/c se inocularon en la almohadilla plantar trasera con 6×10^3 *M. leprae* y se sacrificaron ratones de cada grupo a intervalos en el transcurso de un año después y se aislaron los organismos *M. leprae*. Inicialmente, como muestra la Figura 3, los organismos se multiplicaron de forma similar en ambos grupos de ratones. A partir de los 3 meses y durante el resto del experi-

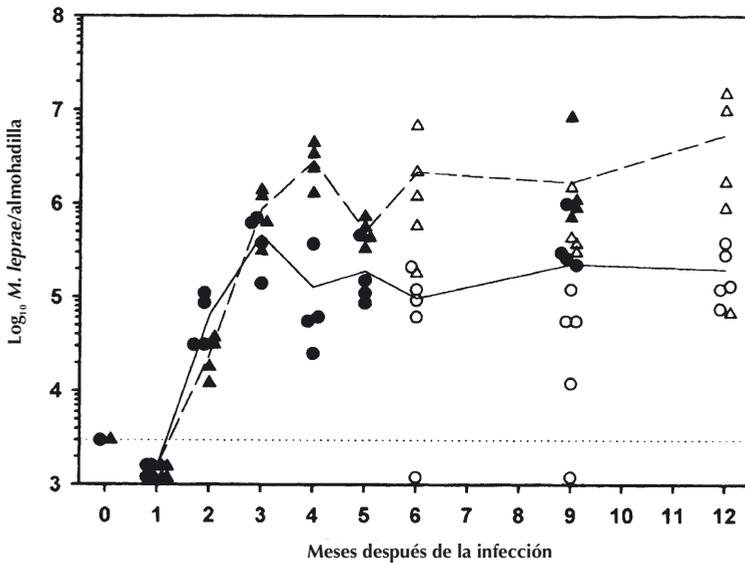


Figura 3: Curvas de crecimiento en las almohadillas plantares de los ratones BALB/c (●,○) y ratones GKO (▲,△). Se inocularon las almohadillas plantares con 6×10^3 BAAR/almohadilla. Los ratones se sacrificaban a los intervalos indicados y se extrajeron los bacilos. Cada símbolo representa un ratón; los símbolos abierto y cerrado representan dos experimentos independientes. Las líneas continuas (BALB/c) y discontinuas (GKO) conectan los valores medios en cada punto-tiempo. La línea punteada representa el límite inferior de detección del ensayo (referencia n.º 59).

mento, el número promedio de BAAR/almohadilla plantar había incrementado en orden 1 de magnitud durante el 4.º mes después de la inoculación y permaneció así, confirmando el papel tan importante de la IFN- γ en la respuesta inmunológica del organismo del ratón.

Este y otros experimentos llevados a cabo por estos investigadores revela la importancia de los estudios en ratones genéticamente alterados para definir componentes de la respuesta inmunológica murina y probablemente humana frente a la infección con *M. leprae* y presenta un área importante de investigación en que el programa depende mucho de la técnica de almohadilla plantar.

Evaluación de los datos proporcionados por la técnica de almohadilla plantar

La evaluación de los datos y la información proporcionada por la técnica de almohadilla plantar puede resultar difícil para los investigadores no familiarizados con la técnica. Dada la imprecisión inherente de la técnica, los trabajos sobre estos experimentos en que se emplea esta técnica deben presentar de manera exhaustiva todos los datos para que sean cuidadosamente evaluados en cuanto a la búsqueda de posibles fuentes de error ya descritas. Hay que preguntarse si se emplean habitualmente bastantes ratones, si la planificación en la obtención de muestras es correcta y si se utilizan los análisis estadísticos apropiados.

El futuro de la técnica de almohadilla plantar- búsqueda de una alternativa

Este trabajo ha intentado revisar las debilidades y puntos relevantes de la técnica de la almohadilla plantar. Su mayor virtud es la capacidad de distinguir entre organismos viables, p. ej. con capacidad de multiplicarse y no-viables, p. ej. incapaces de multiplicarse. Sus debilidades son: su laboriosidad, coste y tiempo que consume y que adolece de la sensibilidad y precisión que caracteriza el cultivo de bacterias cultivables en medio sin células. A pesar de sus potenciales puntos débiles sigue siendo la técnica estándar con la que se comparan todas las demás. Por otro lado, debido a sus debilidades, la investigación dirigida al desarrollo de una alternativa a esta técnica es objetivo de gran prioridad.

La demostración de que una técnica proporciona resultados correlacionados con las expectativas referentes a la viabilidad y no-viabilidad del *M. leprae* no es suficiente para aceptarla la técnica como sustituta de la almohadilla plantar. Esto se observa en un estudio sobre reconstitución de ratones inmuno-comprometidos. Basándose en conclusiones sobre los resultados obtenidos en uno de los ensayos *in vitro* que había proporcionado resultados consistentes con los esperados, los investigadores informaron²⁵ que la reconstitución de ratones desnudos infectados no causa la muerte del *M. leprae*. Uno se pregunta cuál habría sido su conclusión si los investigadores hubiesen utilizado la técnica de almohadilla plantar, en lugar del ensayo *in vitro*.

La cuestión es cómo demostrar que una técnica alternativa es capaz de proporcionar información de la misma calidad como la que proporciona la técnica

de almohadilla plantar, al mismo tiempo que facilita la información más rápidamente y a menor coste. Aunque la demostración de resistencias frente a la medicación por marcadores genéticos es una alternativa, demostrar la viabilidad del *M. leprae*, el objetivo básico de la almohadilla plantar representa un problema sin resolución. Brevemente, el investigador debe demostrar mediante experimentación que la técnica propuesta y la de la almohadilla plantar produce esencialmente resultados idénticos. Esto sólo se consigue con la técnica de la almohadilla plantar en su forma más sensible, con respecto a la proporción de *M. leprae* viable, p. ej. la técnica bactericida proporcional.⁴²

Agradecimientos

Los autores agradecen las sugerencias y distintos puntos de vista facilitados a través de los años en conversación con nuestros colegas: particularmente Charles C. "Shep" SHEPARD* y al fallecido R.J.W. "Dick" REES, a quienes se dedica este trabajo; y también al fallecido Gordon A. ELLARD, Jacques H. GROSSET y Patrick J. BRENNAN. Además, estamos en deuda con nuestros asistentes principales durante muchos años, sin cuya colaboración no se habría podido llevar a cabo este trabajo: Lydia P. MURRIA, San Francisco; Evelyn G. PERANI, Paris; y Maeya NGAMYING, Bangkok.

REFERENCIAS

1. FRANZBLAU, S.: Drug susceptibility testing of *Mycobacterium leprae* in the BACTEC 460 system. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1989; **33**: 2115-2117.
2. COLE, ST.; EIGLMEIER, K.; PARKHILL, J.; *et al.*: Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature*, 2001; **409**: 1007-1011.
3. EIGLMEIER, K.; PARKHILL, J.; HONORE, N.; *et al.*: The decaying genome of *Mycobacterium leprae*. *Lepr Rev*, 2001; **72**: 387-398.
4. SHEPARD, CC.: The experimental disease that follows the injections of human leprosy bacilli into foot pads of mice. *J Exp Med*, 1960; **112**: 445-454.
5. SHEPARD, CC.: Acid fast bacilli in nasal excretions, and results of inoculation of mice. *Am J Hyg*, 1960; **71**: 147-157.
6. WELCH, TM.; GELBER, RH.; MURRAY, LP.; *et al.*: Viability of *Mycobacterium leprae* after multiplication in mice. *Infect Immun*, 1980; **30**: 325-328.
7. FENNER, F.: The pathogenic behaviour of *Mycobacterium ulcerans* and *Mycobacterium balnei* in the mouse and developing chick embryo. *Am Rev Tuberc*, 1956; **73**: 650-673.
8. SHEPARD, CC.; HABAS, JA.: Relation of infection to tissue temperature in mice infected with *Mycobacterium marinum* and *Mycobacterium leprae*. *J Bacteriol*, 1967; **93**: 790-796.

* Fallecido.

9. REES, RJW.: Limited multiplication of acid-fast bacilli in the foot-pads of mice inoculated with *Mycobacterium leprae*. *Br J Path*, 1964; **45**: 207-218.
10. PATTYN, SR.: Comparative behaviour of a strain of *M. leprae* in 5 different mouse strains and in thymectomized mice. *Zentralbl Bakteriol*, 1965; **197**: 256-258.
11. BINFORD, CH.: The transmission of *M. leprae* to animals to find an experimental model. *Int J Lepr*, 1968; **36**: 599.
12. REES, RJW.; WEDDELL, AGM.: Experimental models for studying leprosy. *Ann N Y Acad Sci*, 1968; **154**: 214-236.
13. COLSTON, MJ.; HILSON, GRF.: Growth of *Mycobacterium leprae* and *M. marinum* in congenitally athymic (nude) mice. *Nature*, 1976; **262**: 399-401.
14. FIELDSTEEL, AH.; McINTOSH, AH.: Effect of neonatal thymectomy and antithymocytic serum on susceptibility of rats to *Mycobacterium leprae* infection. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1971; **138**: 408-413.
15. KIRCHHEIMER, WF.; STORRS, EE.: Attempts to establish the armadillo (*Dasypus novemcinctus*) as a model for the study of leprosy. *Int J Lepr*, 1971; **39**: 693-702.
16. COLSTON, MJ.; LEVY, L.: Infection of other experimental animals with *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr*, 1987; **55**: S896-S897.
17. LEVY, L.: Death of *Mycobacterium leprae* in mice, and the additional affect of dapsone administration. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1970; **135**: 745-749.
18. GAUGAS, JM.: Enhacing effect of antilymphocytic globulin on human leprosy infection in thymectomized mice. *Nature*, 1968; **220**: 1246-1248.
19. LANCASTER, RD.; HILSON, GRF.; McDOUGALL, AC.; COLSTON, JM.: *Mycobacterium leprae* infection in nude mice: bacteriological and histological responses to primary infection and large inocula. *Infect Immun*, 1983; **39**: 865-872.
20. LEVY, L.: Studies of the mouse foot pad technique for cultivation of *Mycobacterium leprae*. 3. Doubling time during logarithmic multiplication. *Lepr Rev*, 1976; **47**: 103-106.
21. HALVORSON, O.; ZIEGLER, NR.: Application of statistics to problems in bacteriology. I. A means of determining bacterial population by the dilution method. *J Bacteriol*, 1933; **25**: 101-121.
22. CHEHL, SK.; SHANNON, EJ.; JOB, CK.; HASTINGS, RC.: Reversal reactions in *Mycobacterium leprae*-infected nude mice. *Int J Lepr*, 1983; **51**: 649.
23. CHEHL, SK.; SHANNON, EJ.; KRAHENBUHL, JL.; *et al.*: Adoptive transfer of cell-mediated immunity in *M. leprae*-infected nude mice with *M. leprae*-immunized allogeneic leukocytes depleted of Thy-1.2-bearing cells and Lyt-2.2-bearing cells. *Int J Lepr*, 1985; **53**: 720-721.
24. KOHSAKA, K.; MIYATA, Y.; MORI, T.; ITO, T.: Reversal reaction by thymus transplantation in experimental leprosy of the nude mouse. *Int J Lepr*, 1984; **52**: 608.
25. ADAMS, LB.; GILLIS, TP.; HWANG, DH.; KRAHENBUHL, JL.: Effects of essential fatty acid deficiency on prostaglandin E₂ production and cell-mediated immunity in a mouse model of leprosy. *Infect Immun*, 1997; **65**: 1152-1157.
26. LEVY, L.: Superinfection in mice previously infected with *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun*, 1975; **11**: 1094-1099.

27. SHEPARD, CC.; McRAE, DH.: A method for counting acid-fast bacteria. *Int J Lepr*, 1968; **36**: 78-82.
28. KRUSHAT, WM.; SCHILLING, KE.; EDLAVITCH, SA.; LEVY, L.: Studies of the mouse foot-pad technique for cultivation of *Mycobacterium leprae*. 4. Statistical analysis of harvest data. *Lepr Rev*, 1976; **47**: 275-286.
29. GOLDSTEIN, A.: *Biostatistics*. Macmillan, New York, 1964.
30. NGAMYING, M.; VARACHIT, P.; PHAKNIRAT, P.; *et al.*: Effects of vaccination with several proteins and lipoproteins on *Mycobacterium leprae* infection of the mouse. *Int J Lepr*, 2001; **69**: 43-45.
31. NGAMYING, M.; LEVY, L.; BRENNAN, PJ.: Vaccination of mice against the leprosy bacillus with skin-test antigens. *Int J Lepr*, 1999; **67**: 305-307.
32. NGAMYING, M.; SAWANPANYALERT, P.; BUTRAPORN, R.; *et al.*: Effect of vaccination with refined components of the organism on infection of mice with *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun*, 2003; **71**: 1596-1598.
33. ROCHE, PW.; NEUPANE, KD.; FAIBUS, SS.; *et al.*: Vaccination with DNA of the *Mycobacterium tuberculosis* 85B antigen protects mouse foot pad against infection with *M. leprae*. *Int J Lepr*, 2001; **69**: 93-98.
34. EVANS, MJ.; NEWTON, HE.; LEVY, L.: Early response of mouse foot pads to *Mycobacterium leprae*. *Infect Immun*, 1973; **7**: 76-85.
35. LEVY, L.; MOON, N.; MURRAY, LP.; *et al.*: studies of the mouse foot pad technic for cultivation of *Mycobacterium leprae*. 1. Fate of inoculated organisms. *Int J Lepr*, 1974; **42**: 165-173.
36. SHEPARD, CC.; CHANG, YT.: Effect of several anti-leprosy drugs on multiplication of human leprosy bacillus in foot pads of mice. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1964; **109**: 636-638.
37. SHEPARD, CC.: A survey of drugs with activity against *M. leprae*. *Int J Lepr*, 1971; **39**: 340-348.
38. SHEPARD, CC.; VAN LANDINGHAM, RM.; WALKER, LL.: Recent studies of antileprosy drugs. *Lepr Rev*, 1983; **54**: S23-S30.
39. SHEPARD, CC.: A kinetic method for the study of drugs against *Mycobacterium leprae* in mice. *Int J Lepr*, 1967; **35**: 429-435.
40. SHEPARD, CC.: Further experience with the kinetic method for the study of drugs against *Mycobacterium leprae* in mice: activities of DDS, DFD, ethionamide, capreomycin and PAM 1392. *Int J Lepr*, 1969; **37**: 389-397.
41. XIONG, J.; Ji, B.; PERANI, EG.; PETINON, C.; GROSSET, JH.: Further study of the effectiveness of single doses of clarithromycin and minocycline against *Mycobacterium leprae* in mice. *Int J Lepr*, 1994; **62**: 37-42.
42. COLSTON, MJ.; HILSON, GRF.; BANERJEE, DK.: The "proportional bactericidal test" a method for assessing bactericidal activity of drugs against *Mycobacterium leprae* in mice. *Lepr Rev*, 1978; **49**: 7-15.
43. SHEPARD, CC.: Statistical analysis of results obtained by two methods for testing drug activity against *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr*, 1982; **50**: 96-101.
44. CONSIGNY, S.; BENTOUCHA, A.; BONNAFOUS, P.; GROSSET, J.; Ji, B.: Bactericidal activities of HMR 3647, moxifloxacin, and rifapentine against *Mycobacterium leprae* in mice. *Antimicrob Agents Chemoter*, 2000; **44**: 2919-2921.

45. PETTIT, JHS.; REES, RJW.: Sulphone resistance in leprosy. An experimental and clinical study. *Lancet*, 1964; **2**: 673-674.
46. CAMBAU, E.; PERANI, E.; GUILLEMIN, L.; JAMET, P.; JI, B.: Multi-drug-resistance to dapsone, rifampicin and ofloxacin in *Mycobacterium leprae*. *Lancet*, 1997; **349**: 103-104.
47. CAMBAU, E.; BONNAFOUS, P.; PERANI, E.; *et al.*: Molecular detection of rifampin and ofloxacin resistance for patients who experience with relapse from multi-bacillary leprosy. *Clin Infect Dis*, 2002; **34**: 39-45.
48. SIEGEL, S.: *Nonparametric statistics for the behavioural sciences*. McGraw-Hill, New York, 1956.
49. KAI, M.; MATSUOKA, M.; NAKATA, N.; *et al.*: Diaminodiphenylsulfone resistance of *Mycobacterium leprae* due to mutations in the dihydropteroate synthase gene. *FEMS Microbiol Lett*, 1999; **177**: 231-235.
50. WILLIAMS, DL.; SPRING, L.; HARRIS, E.; ROCHE, P.; GILLIS, TP.: Dihydropteroate synthase of *Mycobacterium leprae* and dapsone resistance. *Antimicrob Agents Chemoter*, 2000; **44**: 1530-1537.
51. HONORE, N.; COLE, ST.: Molecular basis of rifampin resistance in *Mycobacterium leprae*. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1993; **37**: 414-418.
52. HONORE, N.; PERANI, E.; TELENTI, A.; GROSSET, J.; COLE, ST.: A simple and rapid technique for the detection of rifampin resistance in *Mycobacterium leprae*. *Int J Lepr*, 1993; **61**: 600-604.
53. JI, B.: Rifampicin resistant leprosy: a review and a research proposal of a pilot study. *Lepr Rev*, 2002; **73**: 2-8.
54. JI, B.; JAMET, P.; PERANI, EG.; *et al.*: Bactericidal activity of single dose of clarithromycin plus minocycline, with or without ofloxacin, against *Mycobacterium leprae* in patients. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1996; **40**: 2137-2141.
55. JI, B.; SOW, S.; PERANI, E.; *et al.*: Bactericidal activity of a single-dose combination of ofloxacin plus minocycline, with or without rifampin, against *Mycobacterium leprae* in mice and in lepromatous patients. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1998; **42**: 1115-1120.
56. JAMET, P.; JI, B.; MARCHOUX CHEMOTHERAPY STUDY GROUP.: Relapse after long-term follow up of multibacillary patients treated with WHO multi-drug regimen. *Int J Lepr*, 1995; **63**: 195-201.
57. JI, B.; JAMET, P.; SOW, S.; *et al.*: High relapse rate among lepromatous leprosy patients treated with rifampin plus ofloxacin daily for 4 weeks. *Antimicrob Agents Chemoter*, 1997; **41**: 1953-1956.
58. MARCHOUX CHEMOTHERAPY STUDY GROUP.: Relapse in multibacillary leprosy patients after stopping treatment with rifampin-containing combined regimen. *Int J Lepr*, 1992; **60**: 525-535.
59. ADAMS, LB.; SCOLLARD, DM.; RAY, NA.; *et al.*: The study of *Mycobacterium leprae* infection in interferon- γ gene-disrupted mice as a model to explore the immunopathologic spectrum of leprosy. *J Infect Dis*, 2002; **185**: S1-S8.
60. HARADA, K.; GIDOH, S.; TSUTSUMI, S.: Staining mycobacteria with carbolfuchsin: properties of solutions prepared with different simples of Basic fuchsin. *Microscopica Acta*, 1976; **78**: 21-27.

Apéndice 1. Técnica

Se sacrifica el animal mediante luxación cervical y se fija sobre una tabla de disección. A continuación se lava la parte inoculada con agua y jabón y después se lava con agua estéril y se seca mediante compresa estéril. Se elimina el tejido de las almohadillas plantares en tres capas: piel y tejido subcutáneo, músculo y tendón, mediante un bisturí estéril y hemostático. Se mezclan los tejidos, troceados, con algunas gotas de solución salina y homogenizado en un volumen cuantificado (normalmente 2 ml) de solución salina tamponada de HANKS o tampones salinos-fosforados, con un triturador de tejidos de 15 ml de tenBroek. Se deposita, mediante pipeta calibrada o tubo capilar calibrado, una alícuota de 10 μ l del homogeneizado en el centro de un porta-objetos con círculo central para recuento y se deja secar al aire. Como la fijación mediante llama es difícil de controlar y como un calentamiento excesivo puede afectar la ácido-alcohol resistencia del *M. leprae*, se fija por exposición a vapores de formalina durante 3 minutos y después por calentamiento sobre la tapa de un baño termostático en ebullición o en un calentaplatos a 60 °C. A continuación se tiñe la placa a temperatura ambiente cubriendo el porta con carbol fuchsin durante 20 minutos (1% fuchsin básico en 5% fenol), preparado de un lote de fuchsin básico con un máximo de absorción no inferior a 552 nm.⁶⁰ Se decoloró con una solución de etanol 70% con 1% HCl y coloración de contraste 1 minuto con 0.3% de azul de metileno en 30% de etanol y secado al aire. A continuación se cuentan los bacilos visualizados en la preparación al microscopio en condiciones óptimas, con aceite de inmersión sobre y debajo de la preparación, un objetivo apocromático e iluminación KÖHLER de x 1.000 – 1.250 aumentos. Finalmente, se diluye la suspensión bacteriana en suero salino hasta alcanzar una concentración de 5 x 10³ o 10⁴ BAAR/0.03 ml, y este volumen se inocula de forma subcutánea en la superficie plantar del ratón.

Es imposible contar los bacilos en las muestras enteras de 2 ml, incluso el recuento en todos los 10 ml de la alícuota resultó demasiado laborioso para ser aceptado como técnica de rutina. Por tanto, el siguiente protocolo descrito por SHEPARD y MCRAE,²⁷ ha sido el más ampliamente aceptado.

Primero, se mide el diámetro del círculo de recuento mediante la escala Vernier sobre la platina y el diámetro del campo se evalúa con un micrómetro. Las medidas más habituales son, respectivamente, 9.10 y 0.216 mm, por tanto cada campo microscópico representa 1/1.775 (0.216²/9.10²) del área del círculo. Normalmente, se examinan 20 campos repartidos por un diámetro de dos o tres círculos. Si se cuenta, de promedio, un BAAR por campo, una alícuota de 10 μ l contendría 1.775 BAAR y el volumen total del homogeneizado, 2 ml, 3.55 X 10⁵ BAAR. Por tanto, si se examinan 40 campos microscópicos, sólo se habrán contado los BAAR en 1/8.875 (aproximadamente 0.01%) del homogeneizado total. Este método también determina el límite inferior de sensibilidad de la técnica: si sólo se detecta un bacilo BAAR en los 40 campos microscópicos examinados, se han obtenido 8.875 *M. leprae* por almohadilla.

Apéndice 2. Distribución Poisson

La distribución en el espacio o tiempo de objetos o eventos independientes, no uniformes, sino al azar está descrita en la distribución Poisson,²⁹ mediante el que se puede predecir el número de células rojas (RBC) por celdilla de un hemocitómetro o por desintegraciones radioactivas por unidad de tiempo. Por tanto, si la cantidad promedio de un hemocitómetro o de desintegración radioactiva es de 5 células por hemocitómetro, algunas celdillas contendrán menos de 5 RBC y otras más. Por analogía, un inóculo que contiene un promedio de 5 BAAR por volumen inoculado, administrarían más de 5 BAAR en algunos ratones y menos en otros.

Como indica la Tabla 6, la distribución Poisson predecía que 10 ratones inoculados en la almohadilla plantar con un promedio de 5 BAAR/almohadilla uno o dos ratones hembra habrían sido inoculados con menos de 2 BAAR, siete con un promedio de 3-7 BAAR y uno o dos con más de 7 BAAR. Los cálculos descritos aquí corresponden a la situación ideal, en que no hay agrupamientos de bacilos; el agrupamiento puede resultar en la inoculación de un número mayor de ratones con inóculos sin BAAR, mientras que un mayor número de ratones serían inoculados con una cantidad de BAAR superiores a la media.

El método de HALVORSON y ZIEGLER,²¹ al que se refiere el texto, se basa en la distribución Poisson.

Tabla 6: La distribución del *M. leprae* en el inóculo, asumiendo que se inoculan 10 ratones con un promedio de 5 BAAR por almohadilla plantar (FP) (referencia n.º 28). El número de ratones inoculados con la cantidad de organismos indicados se ha calculado a partir de la distribución Poisson.²⁹ El número de ratones inoculados está representado en la columna de la derecha y el número de organismos inoculados en la izquierda = $n \times (\lambda^a \times e^{-\lambda}/a!)$, donde n es el número total de ratones, λ es el número promedio de BAAR inoculados por ratón, a es el número actual de BAAR inoculados, y “ e ” es la base del sistema (logaritmo Neperiano), ≈ 2.71828 ; “!” representa el símbolo matemático “factorial”, p. ej. $2! = 2 \times 1$, $3! = 3 \times 2 \times 1$, $4! = 4 \times 3 \times 2 \times 1$, etc.

N.º de BAAR inoculados por FP	Cálculo	N.º FP inoculadas
≤ 1	$10 \times e^{-5} + 10 \times 5 \times e^{-5}$	0.40
2	$10 \times (5^2 \times e^{-5})/2!$	0.84
3	$10 \times (5^3 \times e^{-5})/3!$	1.40
4	$10 \times (5^4 \times e^{-5})/4!$	1.76
5	$10 \times (5^5 \times e^{-5})/5!$	1.76
6	$10 \times (5^6 \times e^{-5})/6!$	1.46
7	$10 \times (5^7 \times e^{-5})/7!$	1.04
8	$10 \times (5^8 \times e^{-5})/8!$	0.65
≥ 9		0.69
Total		10.0

NOTICIAS

CURSOS ESPECIALIZADOS DE LEPROLOGÍA

FONTILLES 2006

XLIX CURSO INTERNACIONAL DE LEPROLOGÍA. EDICIÓN PERSONAL PARAMÉDICO

**Curso especializado para personas que vayan a trabajar en el campo
de la erradicación de la lepra**

Fecha y lugar:

Del 2 al 6 de octubre de 2006

Sanatorio San Francisco de Borja, Fontilles, La Vall de Laguar. Alicante (España)

XLIII CURSO INTERNACIONAL DE LEPROLOGÍA. EDICIÓN MÉDICOS

Fecha y lugar:

Del 20 al 24 de noviembre de 2006

Sanatorio San Francisco de Borja, Fontilles, La Vall de Laguar. Alicante (España)

Información y secretaría:

Sanatorio San Francisco de Borja.
Fontilles, 03791 La Vall de Laguar
(Alicante) ESPAÑA

Tel.: 00 34 96 558 33 50

Fax: 00 34 96 558 33 76

e-mail: {HYPERLINK

mailto:sanatorio@fontilles}.org

Necrológica

DR. DILTOR VLADIMIR ARAUJO OPROMOLLA

El 15 de diciembre de 2004 falleció el ilustre leprólogo Diltor Vladimir Araujo Opromolla. En los inicios de su dilatada y prolífica carrera profesional trabajó en la Colonia de pacientes de Hansen de AIMORES en 1958 y transformó el centro en un Hospital para Lepra y Enfermedades Dermatológicas hasta convertirlo en lo que es en nuestros días "Instituto Lauro de Souza Lima", centro de prestigio internacional situado en Bauru, Estado de San Paulo, Brasil.

El extraordinario valor de su trabajo es reconocido no sólo en Brasil, sino en todo el mundo.

Descanse en paz.

ÍNDICE DE REVISTAS

Bacteriología e Inmunología

Dres. Aráoz, R.; Honoré, N.; Cho, S.; et al. – Descubrimiento de antígenos: planteamiento post-genómico para el diagnóstico de la lepra. – «*Antigen discovery: a postgenomic approach to leprosy diagnosis*». – *Infection and Immunity* [en línea], vol. 74, núm. 1 (2006), págs. 175-182. [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <<http://iai.asm.org/cgi/content/abstract/74/1/175>>.

Resumen:

La lepra es una enfermedad infecciosa neurodegenerativa que afecta a los humanos causada por *Mycobacterium leprae*. A pesar de los programas de control, la incidencia de la enfermedad permanece muy elevada, sugiriendo que la transmisión puede ser mayor que la esperada. El planteamiento de este trabajo es utilizar la bioinformática y genómica comparativa para identificar potenciales antígenos para el diagnóstico. Este planteamiento define tres clases de proteínas: las limitadas al *M. leprae* (clase I), las que están presentes en *M. leprae* con equivalentes en otros microorganismos (clase II), y proteínas exportadas o expuestas en superficie (clase III). Se clonaron doce genes en *Escherichia coli* (dos clase I, cuatro clase II y seis clase III) y se purificaron sus proteínas. Se detectaron seis de estas proteínas en los extractos celulares de *M. leprae* por inmunoblotting. Después se investigó la inmunogenicidad de cada proteína recombinante en los pacientes de lepra, midiendo la reactividad de los anticuerpos circulantes y respuestas de gamma interferon (IFN-g) en los ensayos de re-estimulación de células T. Los antígenos circulantes reconocieron varias proteínas clase II y III. Más importante, la mayoría de proteínas clase II provocaron respuestas IFN-g significativamente más fuertes que las producidas por los antígenos identificados anteriormente. De entre ellas, dos proteínas de clase II ML0308 y ML2498, presentaron una marcada inmunogenicidad humoral y celular, revelándose como posibles candidatos para el diagnóstico, tanto de la forma tuberculoide como de la lepromatosa.

Dres. Geluk, A.; Ottenhoff, T. H. – HLA y lepra en las eras pre y postgenómicas. – «HLA and leprosy in the pre and postgenomic eras». – Hum Immunol. [en línea], vol. 67, núm. 6 (2006), págs. 439-445. [Citado el 5 de Julio de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=Abstract&list_uids=16728267&itool=iconabstr&query_hl=1&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La lepra ha interesado a los inmunólogos durante décadas. A pesar de las mínimas variaciones genéticas entre cepas de *Mycobacterium leprae* aislado en todo el mundo, se pueden presentar dos formas completamente distintas de la enfermedad en el huésped humano susceptible: la forma tuberculoide localizada o la lepra paucibacilar que es de carácter progresivo sin tratamiento. Las preguntas como qué factores del huésped regulan estas formas tan distintas de infección, qué mecanismos y si estos pueden emplearse para combatir la enfermedad, siguen sin ser contestadas. La lepra fue una de las primeras enfermedades en que se demostró la implicación del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) en la manifestación de la enfermedad. Jon Van Rood fue de los primeros investigadores que reconoció el potencial de esta ya clásica enfermedad como modelo humano para investigar el papel del HLA en las enfermedades. Décadas después, ya está demostrado que las moléculas HLA presentan capacidad de unión a los péptidos alelo-específicos. Esto restringe la presentación antigénica a las células T *M. leprae*-reactivas y controla la magnitud de la respuesta inmune. Además, los complejos específicos péptido/HLA clase II también pueden determinar la calidad de la respuesta inmune al seleccionar y activar células T supresoras. Se cree que todos estos factores contribuyen a la susceptibilidad a la enfermedad. A pesar de la disminución de la prevalencia a nivel global, la detección de nuevos casos permanece muy elevada, demostrando que el tratamiento no está bloqueando la transmisión de la enfermedad. Se necesitan mejores técnicas para la detección precoz de la infección de *M. leprae*, probablemente la mayor fuente de transmisión no identificada y por tanto es una prioridad. Las nuevas técnicas bioinformáticas-HLA proporcionan nuevas oportunidades para combatir esta enfermedad. En este trabajo, describimos los nuevos algoritmos HLA-DR unión a péptidos en combinación con secuencias genómicas de distintas micobacterias. Con este planteamiento postgenómico basado en HLA podemos identificar 12 genes candidatos, únicos de *M. leprae* y que se predijo contenían epítopes celulares T restringidas para varios alelos HLA-DR. Cinco de estos antígenos (ML0576, ML1989, ML1990, ML2283, ML2567) eran capaces de inducir respuestas celulares T significativas en pacientes de lepra paucibacilar y controles sanos expuestos al *M. leprae*, pero no

en pacientes multibacilares, tuberculosos, o controles endémicos. Un 71% de los controles sanos *M. leprae*-específico expuestos que no presentaban anticuerpos frente al glicolípido fenólico-I respondieron a uno o varios de estos antígenos, destacando el potencial de estas proteínas en el diagnóstico precoz. Esta inmunogenética HLA puede proporcionar nuevos instrumentos para el diagnóstico específico de *M. leprae*, que pueden clarificar sobre nuestra comprensión de la transmisión de la lepra .

Dres. Lahiri, Ramanuj; Randhawa, Baljit; Krahenbuhl, James L. – Efectos de purificación y tinción fluorescente sobre la viabilidad del *M. leprae*. – «*Effects of purification and fluorescent staining on viability of Mycobacterium leprae*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 3 (2005), págs. 194-202.

Resumen:

Los investigadores han realizado experimentos con *Mycobacterium leprae* obtenido de lesiones humanas multibacilares, de tejidos infectados de armadillo y de las almohadillas plantares de ratones convencionales y atímicos, *nu/nu*. En general, los bacilos de la lepra obtenidos de estas fuentes son satisfactorios para la mayoría de los estudios bioquímicos y para su inoculación en las almohadillas plantares del ratón, pero no son adecuados para estudios inmunológicos o de biología celular donde los restos tisulares contaminantes del huésped representan un verdadero problema. Nosotros examinamos la utilidad de un procedimiento para eliminar los residuos tisulares de la almohadilla plantar de una suspensión de *M. leprae* mediante una solución de hidróxido de sodio, y estudiamos el efecto de este tratamiento sobre la viabilidad del organismo (por oxidación del ácido palmítico), en la integridad de su membrana, y en su capacidad de replicación en la almohadilla plantar del ratón. Encontramos que el tratamiento de la suspensión de *M. leprae* obtenida de la almohadilla plantar de ratones *nu/nu* con NaOH 0.1N durante 3 minutos fue suficiente para eliminar la mayoría del tejido de ratón sin afectar sensiblemente la viabilidad del microorganismo. Este es un método simple y rápido para obtener suspensiones viables del microorganismo esencialmente libres de tejido, a partir de la almohadilla plantar del ratón desnudo y que pueden usarse para estudiar las relaciones entre el bacilo y el hospedador. También describimos aquí un método para marcar *M. leprae* con el colorante fluorescente PKH26 que puede ser de utilidad en los estudios del tránsito intracelular del microorganismo o en otros estudios de la biología celular donde se requiere localizar la bacteria usando un marcador fluorescente. Observamos que la tinción es estable *in vitro* por períodos largos de tiempo y que no afecta la viabilidad de la bacteria.

Dr. Mira, M. T. – Resistencia genética del huésped y susceptibilidad a la lepra. – «*Genetic host resistance and susceptibility to leprosy*». – *Microbes Infect.* [en línea] vol. 8, núm. 4 (2006), págs. 1124-1131. [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16513393&itool=iconabstr&query_hl=7&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La lepra es una enfermedad crónica que afecta a más de 600.000 personas cada año en todo el mundo. Este trabajo resume algunos de los avances conseguidos durante las últimas décadas hacia la descripción del número exacto, localización y actualización de las variantes genéticas responsables del componente genético que controla la susceptibilidad a la lepra en humanos.

Dres. Narang, Tarun; Kaur, Inderjeet; Kumar, Bhushan; et al. – Evaluación de la eficacia inmunoterapéutica de la BCG y vacunas *Mw* en pacientes de lepra borderline y lepromatosa. – «*Comparative evaluation of immunotherapeutic efficacy of BCG and Mw vaccines in patients of borderline lepromatous and lepromatous leprosy*». – *Int. J. Lepr.*, vol. 73, núm. 2 (2005), págs. 105-114.

Resumen:

Panorama. Los pacientes multibacilares (MB) con índices bacterianos (IB) altos siguen teniendo bacilos muertos y bacilos viables persistentes aún después de 12 meses de tratamiento con PQT, lo que conduce a complicaciones inmunológicas tales como reacciones recurrentes y recaídas tardías, respectivamente. Para acelerar la muerte de los bacilos viables y la eliminación de los bacilos muertos se están evaluando varias vacunas y citocinas como agentes inmunoterapéuticos.

Metas y objetivos. Evaluar el papel de las vacunas BCG y *Mw* en la inmunoterapia de la lepra

Materiales y Métodos. Sesenta pacientes con lepra sin tratamiento y con un IB = 2, se asignaron, al azar, a 3 grupos de tratamiento de 20 pacientes cada uno. El grupo A recibió la PQT de la OMS para lepra MB por 12 meses y BCG intradérmicamente (10^5 bacilos vivos por dosis). El grupo B recibió la PQT de la OMS para lepra MB y *Mw* (1×10^8 bacilos muertos como primera dosis y 0.5×10^8 en las dosis subsecuentes). El grupo C recibió 12 meses de PQT-OMS_MB y 0.1 ml de solución salina como placebo. Todos los grupos recibieron 4 dosis de vacuna o de solución salina a intervalos de 3 meses. Los pacientes fueron evaluados periódicamente usando parámetros clínicos (escala de Ramu), bacteriológicos (examen de linfa cutánea) e histopatológicos (en biopsia de piel).

Resultados. Los grupos tratados con BCG y con *Mw* evolucionaron mejor que los pacientes del grupo control. Dentro de los pacientes vacunados, los del grupo BCG mostraron una reducción en la escala de Ramu significativamente mayor que los pacientes del grupo *Mw*. El IB mostró una disminución de 2.4 unidades/año en el grupo control. Aunque la incidencia de reacciones tipo I fue aparentemente mayor en los grupos vacunados con BCG y *Mw*, la incidencia de reacciones tipo 2, neuritis y nuevas deformidades, fue menor que la observada en el grupo control.

Conclusión. En nuestro estudio, el grupo vacunado con BCG mostró una mejor y más rápida evolución clínica y bacteriológica que el grupo vacunado con *Mw*, y esto ocurrió tanto en los pacientes BL como en los pacientes LL con altos IB; sin embargo, la mejoría histopatológica (disminución en la fracción granuloma) fue comparable en ambos grupos. Ambas vacunas fueron bien toleradas. La inmunoterapia puede ser un complemento útil a la PQT-MB de duración menor (12 meses) para reducir el riesgo de reacciones y recaídas en los pacientes BL/LL altamente bacilíferos.

Dres. Rada, E.; Nacarid, A.; Convit, J. – Aspectos inmunológicos en las fases reaccionales de la enfermedad de Hansen. – «*Some immunological aspects in the reactional status of Hansen's disease*». – Invest Clin., [en línea], vol. 46, núm. 4 (2005), págs. 381-389. [Citado el 4 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16353545&itool=iconabstr&query_hl=6&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

El problema clínico más crucial en la lepra se representa por episodios de intensa inflamación que produce afectación neural. Cuando se elimina el *Mycobacterium leprae* mediante antibioticoterapia, la inactivación bacilar no constituye una solución total para detener el deterioro neural. Dos de los fenómenos inmunológicos más frecuentes en la enfermedad de Hansen son las reacciones tipo 1, conocido como la reacción de reversión (RR) y reacciones de tipo II de las que las más conocidas son las denominadas eritema nodosum leprosum (ENL). Las reacciones de tipo II se han identificado con complicaciones inmunológicas de pacientes multibacilares. Ambas reacciones se acompañan de un incremento en las cantidades de citocinas pro-inflamatorias, TNF-alfa, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, INF-gamma, IL-10, IL-12 entre otros. En un análisis retrospectivo de 150 pacientes del Servicio Central de Dermatología del Instituto de Biomedicina, donde se les había administrado multiterapia (MDT) y MDT + inmunoterapia, ambos grupos experimentan reacciones de tipo II, pero el grupo que además recibió inmunoterapia también presentó reacciones de tipo 1. Parece que está asociado con pacientes con ENL y la gran cantidad de bacilos en sus lesiones.

Dres. Ranque, B.; Alcáis, A.; Thuc, N. V.; et al. – Un gen recesivo controla la reacción de Mitsuda en una región endémica para la lepra. – «*A recessive major gene controls the mitsuda reaction in a region endemic for leprosy*». – J Infect Dis, [en línea], vol. 192, núm. 8 (2005), págs. 1475-1482. [Citado el 2 de mayo de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16170767&itool=iconabstr&query_hl=49&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

ANTECEDENTES: La lepra es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium leprae*. La reacción de Mitsuda es una reacción granulomatosa retardada provocada por la inyección intradérmica de *M. leprae* inactivado por calor. Los resultados del test Mitsuda son positivos en la mayoría de individuos, incluso de áreas no endémicas de lepra. Como la lepra, se cree que la reacción de Mitsuda está controlada por un gen, pero su modo de transmisión es desconocido, aunque ya se ha informado del papel del gen NRAMP1. MÉTODOS: Se lleva a cabo un análisis de segregación cuantitativo de la reacción Mitsuda en 168 familias vietnamitas con pacientes de lepra. RESULTADOS: Se encontró evidencia muy fuerte ($P < 10^{-9}$) para un gen que controla la reacción de Mitsuda independientemente del tipo de lepra clínica. El subsiguiente análisis de ligamento reveló que este gen es distinto del NRAMP1. Considerando este modelo, aproximadamente el 12% de los individuos son homocigóticos para el alelo recesivo predisponente y presentaron elevada reactividad frente al Mitsuda (promedio, aproximadamente 10 mm comparado con 5 mm en otros). CONCLUSIÓN: Se proporcionan evidencias de que la reacción Mitsuda está controlada por un gen principal. Nuestro trabajo abre el camino para el estudio de este gen y debería proporcionar información sobre los mecanismos comprometidos en la formación del granuloma, especialmente en la infección por *M. leprae*.

Patología, Fisiopatología y Bioquímica

Dres. Ajith, C.; Gupta, Sachin; Radotra, Bishan D.; et al. – Estudio de la apoptosis en lesiones cutáneas de lepra en relación al tratamiento y leprorreacciones. – «*Study of apoptosis in skin leprosy in relation to treatment and lepra reactions*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 4 (2005), págs. 269-276.

Resumen:

En el tratamiento de la lepra, un factor contribuyente a la curación de las lesiones de la piel y con muy poca fibrosis, puede ser la apoptosis de las células inflamatorias, aunque se piensa que la apoptosis en la lepra es rara comparada con la misma en tuberculosis. En este estudio se examinó el grado de apoptosis en las lesiones de la piel en la lepra por histopatología (HP) y por fragmentación y electroforesis del DNA. Se registró el efecto de varios parámetros sobre la apoptosis en la enfermedad no tratada, en la enfermedad con 3 y 6 meses de tratamiento, y en las reacciones de la lepra en diferentes partes del espectro de la enfermedad. De los 31 pacientes estudiados, 13 tenían lepra paucibacilar (PB) y 18 lepra multibacilar (MB). Veintiún pacientes estaban en reacción, 16 tenían reacción leprosa tipo 1, y 5 reacción leprosa tipo 2. Los controles incluyeron pacientes con enfermedad de la piel no granulomatosa; no hubo controles sanos ni controles separados para los casos en reacción. La apoptosis ocurrió más frecuentemente en los pacientes con lepra que en los pacientes control. Tanto en los pacientes PB como en los MB la apoptosis aumentó progresivamente con el tratamiento a los 3 y 6 meses, y fue más prominente en los casos MB a los 6 meses de tratamiento. Cuando se compararon las lesiones de las reacciones tipo 1 o tipo 2 con las lesiones de la lepra no reaccional, se encontró un incremento significativo en la apoptosis ($p = 0.014$) sólo en las lesiones de las reacciones tipo 2 y en aquellas de los pacientes con 6 meses de tratamiento. El tipo de pauta de tratamiento o los esteroides orales administrados para controlar las reacciones no alteraron significativamente el grado de apoptosis. Nuestras observaciones indican que la apoptosis está incrementada en las lesiones de la lepra y que aumenta progresivamente con el tratamiento anti-leproso administrado durante 6 meses. Se esperaría una disminución en el grado de apoptosis en las lesiones seguidas por periodos más prolongados de tiempo. El estudio de la apoptosis puede ayudar a entender el mecanismo de eliminación de bacilos y la resolución de los granulomas en los pacientes con lepra.

Dres. Akerkar, S. M.; Bichile, L. S. – Lepra y gangrena. – *«Leprosy & gangrene: a rare association; role of anti phospholipid antibodies»*. – BMC Infect Dis. 2005 Sep 21; 5: 74. [en línea]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16176580&itool=iconpmc&query_hl=1&itool=pubmed_docsum>. Citado el: 4 de abril de 2006.

Resumen:

ANTECEDENTES: La lepra todavía es un importante problema de salud pública en muchas partes del mundo. La asociación de lepra y gangrena es muy

poco frecuente y puede tener distintos mecanismos como el presentado aquí de lepra y gangrena con elevado nivel de anticuerpos anti-fosfolípidos. PRESENTACIÓN DE CASOS: Se trata de una mujer de 50 años, sin hipertensión, no-diabética con un historial de 2 meses de gangrena progresiva en los dedos de ambos pies. Presentaba madariosis y lesiones hipopigmentadas, máculas hipoaestésicas en las extremidades superiores e inferiores. Se encontraban engrosados bilateralmente los nervios cubitales y poplíteos. El diagnóstico de la biopsia cutánea de las lesiones fue lepra borderline tuberculoide y los frotis cutáneos detectaron un IB 1+. No presentaba evidencias de episodio tromboembólico o arterioesclerosis. El ACLA era positivo en el momento de su presentación en la clínica y a las 6 semanas. Los ACLA eran del tipo IgM. Resultaron negativos el anticuerpo anticoagulante para Lupus y el anticuerpo beta2 GPI. El DOPPLER de las extremidades inferiores no reveló anomalías. La paciente fue tratada con medicación para la lepra y anticoagulantes. CONCLUSIÓN: Los APLA infecciosos deben ser reconocidos como causa de trombosis en la lepra.

Lepra experimental

Dres. Hagge, Deanna A.; Ray, Nashone A.; Tulagan, Vilma; et al. – Modulación de la respuesta TH1 al *Mycobacterium leprae* en lepra experimental. – «*Modulation of the response to Mycobacterium leprae in experimental leprosy*». – Encuentro Japón-Estados Unidos, 2004. – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 3 (2005), págs. 230-231.

Resumen:

Introducción. La lepra, causada por un patógeno intracelular obligado, *Mycobacterium leprae*, se presenta con muchos síntomas que están determinados por la respuesta del huésped, desde una buena respuesta inmunitaria celular (CMI) en la lepra tuberculoide (TT) a la ausencia de CMI en la lepra lepromatosa (LL). Los modelos animales para estudiar la lepra son muy limitados. Los armadillos exhiben un espectro similar al humano, pero son caros y los reactivos inmunológicos escasos. El modelo murino, aunque bien caracterizado y con gran cantidad de reactivos inmunológicos, está restringido a la almohadilla plantar para evaluar el crecimiento del *M. leprae* y presenta un compromiso neural del bacilo muy limitado. Sin embargo, los modelos murinos para la lepra, como la introducción de cepas knockout (KO) resultan muy esperanzado-

res para el estudio del espectro inmunológico de la lepra. La inducción de la formación de granulomas por *M. leprae* depende sobre todo de los macrófagos (MF) y células T. Los ratones con deficiencias en la óxido-nítrico sintasa (iNOS), un mecanismo efectivo del macrófago (MF) muy importante puede presentar un gran potencial como modelo para el estudio de la lepra tuberculoide, ya que la formación tan intensa de granulomas aparece sin un elevado crecimiento del *M. leprae*. La IL-12, una citocina reguladora clave para el sistema induce la producción de IFN- γ por células T y NK y promueve el desarrollo del tipo celular Th1. La IL-10 está generada por células T y macrófagos (MF) y es un inhibidor de la producción de IFN- γ .

Métodos. Para comprobar esto se evaluó la infección por *M. leprae* en ratones iNOS KO (NOS2^{-/-}), IL-10 KO (IL-10^{-/-}) e IL-12 KO (IL-12^{-/-}) con dosis mínimas (LD) y elevadas (HD). Se infectaron en ambas almohadillas plantares traseras a los ratones C57B1/6 (B6) y KO con 6×10^3 (LD) *M. leprae* viables y se controlaron durante 18 meses el crecimiento, perfiles celulares de los nódulos linfáticos e histología. También se inocularon los ratones B6 y KO con 3×10^7 (HD) viables en ambas almohadillas plantares traseras o sin tratamiento con inhibidores iNOS como LNil (L-N6-(1-iminoetil) hidrocloreuro de lisina) o aminoguanidina (AG). Se analizaron en estas almohadillas plantares la induración, perfiles celulares y expresión de citocinas).

Resultados. Se observó que en el modelo LD, el crecimiento del *M. leprae* en ratones NOS2^{-/-} e IL-10^{-/-}, era igual que en los ratones control. En contraste, había incremento del crecimiento del bacilo en los ratones IL-12^{-/-}. La citometría de flujo de los nódulos linfáticos poplíteos reveló una marcada disminución en el nivel de linfocitos T en ratones B6 a los 6 meses post-infección que corresponde al máximo del crecimiento del *M. leprae*. Se observó una disminución similar en los ratones IL-10^{-/-}. En contraste, esto no se observó en ratones IL-12^{-/-}. En el modelo HD, una gran respuesta granulomatosa se detectó en los ratones NOS2^{-/-} comparada a los ratones B6 que consistía sobre todo de macrófagos (MF) CD11b⁺ y linfocitos CD4⁺, y en una mínima proporción celular, células CD8⁺. El nivel de células CD4⁺ y CD8⁺ que expresan marcadores de activación es significativamente mayor en ratones NOS2^{-/-} que en los B6. Correlacionado con la induración de la almohadilla plantar estaba el incremento de la expresión de IFN- γ , TNF- α e IL-10, así como MIP-1 α , MIP-1 β , y MCP-1. Se detectó una induración similar en ratones B6 *M. leprae* infectados tratados con L-NIL. La induración remitía si el inhibidor iNOS se eliminaba; y al contrario si el inhibidor iNOS se añadía 1 mes post-infección, se presentaba una induración incrementada, enfatizando la naturaleza dinámica de la lesión en la almohadilla plantar. Al infectar los ratones IL-10^{-/-} con *M. leprae* HD, los ratones también exhiben mayor induración que los ratones control. La infiltración linfocítica T igual que en los ratones B6 e iNOS^{-/-} era sobre todo de tipo CD4⁺. El añadir LNil a los IL-10^{-/-} proporcionaba una mayor indura-

ción en la almohadilla *M. leprae* infectada que cualquier otro modelo de deficiencia. Si el LNil se administraba 1 mes post-infección, la induración excedía rápidamente la de los ratones IL-10^{-/-} y resultó similar a los ratones que eran iNOS e IL-10 deficientes. En los ratones IL-12^{-/-} la infección HD con *M. leprae* indujo una reducida induración en la almohadilla plantar y la infiltración linfocítica T era igualmente de CD4⁺ y CD8⁺ a partes iguales.

Discusión. Todos estos hallazgos sugieren que ratones KO infectados con *M. leprae* pueden proporcionar información sobre las pequeñas variaciones de la inmunidad mediada por células, así como contribuir a una mejor comprensión de los distintos procesos que comprenden la variada respuesta del huésped a la infección y en particular, a la naturaleza inestable de la parte borderline del espectro.

Clínica y Diagnóstico

Dres. Chedore, P.; Broukhanski, G.; Shainhouse, Z.; et al. – Falso positivo con amplificado de técnicas directas para la detección de tuberculosis en muestras con *Mycobacterium leprae*. – «False-positive amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test results for samples containing *Mycobacterium leprae*». – J Clin Microbiol, [en línea], vol. 44, núm. 2 (2006), págs. 612-613. [Citado el 13 de febrero de 2006]. Disponible en Internet: <<http://jcm.asm.org/cgi/content/abstract/44/2/612>>.

Resumen:

Las técnicas de amplificación de ácido nucleico se emplean frecuentemente en los laboratorios de micobacteriología para detectar de manera rápida el complejo *Mycobacterium tuberculosis* directamente de las muestras clínicas. Un resultado positivo proporciona un diagnóstico precoz de tuberculosis, permitiendo la iniciación de una terapia farmacológica apropiada y las consiguientes medidas de salud pública.

Dres. Kampirapap, K.; Vorasayan, J.; Poopook, S.; et al. – Evaluación de la calidad de los servicios para la lepra en Tailandia desde el punto de vista de los clientes. – «Assessment of the quality of leprosy services from the clients' perspective in Thailand». – Lepr. Rev., vol. 76, núm. 4 (2005), págs. 325-334.

Resumen:

Para evaluar el tema de la calidad de los servicios sanitarios desde la perspectiva del cliente, se llevaron a cabo métodos cualitativos de recolección de datos, p. ej. entrevistas previamente estructuradas, discusiones en grupo (FGDs) y fichas de prioridades en seis centros de salud primarios de Tailandia. Se entrevistaron un total de 29 pacientes y se llevaron a cabo tres FGD sobre 20 pacientes. Además, se entrevistaron seis miembros del personal sanitario y seis miembros de la comunidad. Los resultados revelan que los pacientes se retrasan entre meses y años antes de presentarse a un centro de salud pública. La causa es el desconocimiento sobre la enfermedad. La mayoría de los entrevistados intentaron eliminar sus problemas de forma casera con formas tóxicas o hierbas. La distancia no se considera un problema ya que la mayoría de los pacientes acuden a los hospitales de distrito en las cercanías. En estos hospitales, las equivocaciones en los diagnósticos todavía son frecuentes. Más de la mitad de los pacientes no había recibido información sobre la lepra antes del momento del diagnóstico. Los gastos de desplazamiento constituían un problema para algunos pacientes mayores e impedidos. Los pacientes a nivel hospitalario de distrito o provincial se quejaron de que las listas de espera eran demasiado largas. La mayoría de instalaciones no presentan suficiente espacio para la intimidad médico-paciente. Los pacientes priorizan que el período sanitario sea agradable y respetuoso. Cuando a los pacientes se les pidió que aumentaran sus prioridades sobre la calidad del servicio, consideraron la actitud del personal sanitario, el bajo coste para desplazarse, atención para POD y suficiente información para los pacientes y su enfermedad, como los principales temas. Las recomendaciones resultantes del estudio son: (1) había que enfatizar la educación sanitaria para la población; (2) también la formación del personal sanitario para minimizar el retraso médico; (3) hay que mantener una correcta actitud del personal médico hacia los pacientes de lepra y (4) los servicios para la lepra a nivel hospitales de distrito y provinciales debe mejorar para ser centros que atiendan todas las necesidades del paciente de lepra.

Dres. Mishra, A.; Saito, K.; Barbash, S. E.; et al. – Disfunción olfativa en la lepra. – «*Olfactory dysfunction in leprosy*». – *Laryngoscope*, [en línea], vol. 116, núm. 3 (2006), págs. 413-416. [Citado el 18 de abril de 2006]. Disponible en Internet:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16540900&itool=iconabstr&query_hl=1&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La lepra (enfermedad de Hansen) está asociada a una elevada incidencia de patología nasal. A pesar de este hecho, la influencia de estos trastornos sobre la

sensación olfativa es poco comprendida. En este estudio se administró un test de identificación de 12 puntos a 77 pacientes con tres tipos de lepra: tuberculoide (n = 9), borderline (n = 42), y lepromatoso (n = 26). Los tres tipos presentaron menores puntuaciones que sus respectivos controles emparejados en edad, sexo y adicción al tabaco. Los pacientes con lepra lepromatosa puntuaron menos que los afectados de los otros tipos de lepra. Sólo los pacientes lepromatosos experimentaron una mejoría de su sensación olfativa después del tratamiento. No hay asociación entre duración de la enfermedad, *per se*, y gravedad del déficit olfativo. En total, el 100% de los pacientes experimentó una disfunción olfativa, sugiriendo que la prevalencia anterior, basada en pruebas no estandarizadas, no calcularon correctamente la verdadera prevalencia de este problema.

Dr. Mukhopadhyay, A. K. – Compromiso primario cutáneo en el pene en lepra lepromatosa. – «*Primary involvement of penile skin in lepromatous leprosy*». – Indian J. Lepr., vol 77, núm. 4 (2005), págs. 317-321.

Resumen:

Las lesiones cutáneas de la lepra lepromatosa (LL) son normalmente múltiples y diseminadas. Aunque la lesión se puede presentar en cualquier zona cutánea, los genitales masculinos raramente están comprometidos. En todos los casos informados hasta ahora sobre lesiones en el pene de LL, también había lesiones en otras zonas del cuerpo. En algunos casos también estaba comprometido el escroto. Informamos aquí de un caso que se presentó con una lesión macular única de lepra sobre el pene diagnosticado como un caso de lepra lepromatosa en los exámenes de las muestras de baciloscopias e histopatológicas.

Dres. Pandhi, Deepika; Mehta, Shilpa; Agrawal, Subhav; et al. – Eritema nodoso leproso necrotizante en un niño – Una complicación inusual. – «*Erythema nodosum leprosum necroticans in a child – An unusual manifestation*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2005); págs. 122-126.

Resumen:

El eritema nodoso leproso necrotizante es una manifestación poco común de las reacciones leprosas tipo 2 que aparecen con cierta frecuencia en los pacientes con lepra BL y LL. En esta comunicación se reporta un caso de esta rara complicación en un niño de 9 años de edad que no había mostrado evidencias previas de lepra. Las lesiones se curaron completamente por tratamiento del paciente con PQT de corta duración (12 meses) acompañada de la administración de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos y corticoesteroides.

Dres. Pfausler, B.; Bosch, S.; Sepp, N.; et al. – Lepra multibacilar en el Tirol (Austria). – «*Multibacillary leprosy in Tyrol*». – Wien Klin Wochenschr. **115(Suppl 3)** (2003) 72-75. – Int. J. Lepr., [en línea], vol. 73, núm. 1 (2005), pág. 51. [Citado el 23 de enero de 2006]. Disponible en Internet: <[http://www.leprosy-journal.org/pdfserv/10.1489%2F1544-581X\(2005\)73%5B42:CL%5D2.0.CO%3B2](http://www.leprosy-journal.org/pdfserv/10.1489%2F1544-581X(2005)73%5B42:CL%5D2.0.CO%3B2)>.

Resumen:

Se han diagnosticado durante un período de 15 años (1987-2001) cinco casos de lepra multibacilar en el Departamento ambulatorio de Neurología de la Universidad de Innsbruck. Todos los pacientes presentaban signos y síntomas de polineuropatía desde leves a graves. Cuatro de los cinco pacientes se recuperaron totalmente, mientras un paciente con una polineuropatía severa presentó ya polineuropatía inicial grave como una secuela de larga evolución. La prevalencia de lepra en el área del Departamento de Neurología de la Universidad de Innsbruck (que comprende toda la provincia del Tirol – 650.000 habitantes) es de 0.5/1 millón. La incidencia de nuevos casos en la provincia del Tirol es de 0.04/100.000/año. El objetivo de la presentación de estos 5 pacientes –a parte del aspecto epidemiológico– es alertar a todos los neurólogos y dermatólogos sobre la existencia de esta enfermedad –a pesar de la disminución de los índices de prevalencia e incidencia a escala global–; esto es de una importancia singular ya que las secuelas neurológicas a largo plazo sólo se pueden prevenir con el diagnóstico precoz.

Dres. Rea, Thomas H.; Jerskey, Robert S. – Variaciones clínicas e histológicas de treinta pacientes con fenómeno de Lucio y Lepromatosis Difusa Pura y Primitiva (Lepromatosis de Latapi). – «*Clinical and histologic variations among thirty patients with Lucio's phenomons and pure and primitive diffuse lepromatosis (Latapi's lepromatosis)*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 3 (2005), págs. 169-188.

Resumen:

Se hizo una revisión de los datos clínicos e histopatológicos de 30 pacientes que habían tenido el fenómeno de Lucio y lepromatosis difusa pura y primitiva (lepromatosis de Lucio). Los hallazgos clínicos no anticipados fueron: una relación masculino-femenino casi de 1:1, un tiempo promedio de aparición de eritema nodoso leproso (reacción de tipo 2) de 21 meses después del inicio del tratamiento antibacteriano, y ausencia del patrón de anestesia “media-guante” (stocking-glove) en 7 pacientes. El único hallazgo histológico no anticipado fue

una vasculitis lepromatosa-granulomatosa, presente en vasos comparativamente grandes o en vasos agrandados por los cambios patológicos, localizados cerca de la interfase dermo-subcutánea. Este hallazgo estuvo presente en 6 de 22 pacientes con material accesible para revisión. En 2 de estos 6 pacientes la vasculitis fue identificada antes de la aparición del fenómeno de Lucio. Con una sola excepción, el tratamiento con un agente microbicida estuvo asociado con la detección, en la primera semana, de nuevas lesiones del fenómeno de Lucio. La morbilidad crónica, diferente a la reacción de tipo 2, se encontró en 22 de 25 pacientes seguidos por más de 1.3 años.

Usualmente la insuficiencia venosa y/o pérdida de sensación protectora fueron consecuencia de la lepromatosis de Lucio y sólo raramente del fenómeno de Lucio en cuyo caso la consecuencia más frecuente fue la formación de cicatriz.

Se describen brevemente los casos de los 7 pacientes a los que se obtuvo una biopsia cutánea antes de la aparición del fenómeno de Lucio, y de dos pacientes considerados como atípicos. También se discuten los criterios para el diagnóstico de la lepromatosis de Latapi en ausencia de fenómeno de Lucio.

Terapéutica

Dres. Agrawal, S.; Agarwalla, A. – Síndrome de hipersensibilidad a la dapsona: Revisión clínico-epidemiológica. – «*Dapsone hypersensitivity syndrome: A clinico-epidemiological review*». – J Dermatol [en línea], vol. 32, núm. 11 (2005), págs. 883-889. [Citado el 13 de febrero de 2006]. Disponible en Internet: <<http://www.dermatol.or.jp/Journal/JD/2005/032110883.html>>

Resumen:

La diaminodifenilsulfona (dapsona) es el medicamento de elección en el tratamiento de la lepra. También es útil para tratar enfermedades que afectan a los neutrófilos y otras dermatosis. La hipersensibilidad a la dapsona es un síndrome extraño pero un efecto secundario grave caracterizado por fiebre, rash cutáneo, linfadenopatía generalizada, hepatitis y hepato-esplenomegalia. Se evaluaron veintiséis pacientes con el síndrome de hipersensibilidad a la dapsona mediante perfil clínico, evolución y pronóstico. La proporción varón: hembra era 2.2:1 y la edad media de 33.19 años (rango desde 13-64 años). El inter-

valo desde el inicio del tratamiento con dapsona y la aparición de los síntomas varió entre 2-7 semanas (promedio 29.82 días). A veinticuatro pacientes se les administró dapsona como parte del tratamiento para la lepra; a otros dos pacientes se les prescribió para liquen plano y acné vulgaris. La manifestación cutánea más frecuente fue la dermatitis exfoliativa seguida de una erupción eritematosa máculo-papular y lesión tipo síndrome de Stevens-Johnson. Otras manifestaciones sistémicas comunes son: fiebre (26 casos), prurito (22 casos), linfadenopatía (21 casos), ictericia (21 casos), palidez (20 casos), hepatomegalia (19 casos) y edema del pie (14 casos). La analítica revela elevación de las enzimas hepáticas en el 100% de los pacientes, velocidad de sedimentación de 92.3%, niveles elevados de bilirrubina de 84.6%, niveles bajos de hemoglobina (<9 gm/dl) en el 46.15% e hipoproteinemia en el 42.3%. En 4 pacientes se detectó eosinofilia, anemia hemolítica y reticulocitosis. Todos los pacientes presentaron una buena evolución, excepto tres casos de muerte por fallo hepático. El personal médico debe estar atento a este síndrome potencialmente fatal, ya que es causa de elevada morbilidad y mortalidad.

Dres. Gupta, U. D.; Katoch, K.; Singh, H. B.; et al. – Estudios sobre bacilos persistentes en pacientes de lepra después de la multiterapia. – «*Persisten studies in leprosy patients after multi-drug treatment*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2005), págs.100-104.

Resumen:

Se analizaron pacientes con lepra que acudieron al Instituto para su tratamiento. Los pacientes se asignaron a dos grupos, uno que recibió la poliquimioterapia (PQT) estándar para lepra multibacilar (MB) y otro que recibió la PQT estándar combinada con minociclina (100 mg mensuales) y Ofloxacino (400 mg mensuales), ambas drogas administradas de manera supervisada durante 12 meses. De cada paciente se tomaron biopsias de piel a los 12, 18, 24 y 36 meses o más, después de haber iniciado el tratamiento. Las biopsias fueron procesadas para su inoculación en la almohadilla plantar del ratón (APR) y para medir sus niveles de ATP por bioluminiscencia, de acuerdo a métodos ya establecidos. En el grupo tratado con PQT se observaron bacilos viables en el 23% de las biopsias a un año del seguimiento, en el 7.1% de las biopsias a los 2 años, y en el 3.8% a los 3 años usando la técnica de la APR, y en el 29.4%, 10.7% y 3.84% de las biopsias usando el ensayo de ATP, a los mismos intervalos de tiempo. En las biopsias de piel del grupo tratado con PQT + Minociclina + Ofloxacino no se observaron bacilos después de un año de tratamiento. El porcentaje global de “persistentes” fue de 5.5% por el ensayo de la APR y de 7.14% por el ensayo de ATP a los 3 años del tratamiento.

Dr. Naafs, B. – Tratamiento de la lepra: ¿ciencia o política? – *«Treatment of leprosy: science or politics?»*. – Trop Med Int Health., [en línea], vol. 11, núm. 3 (2006), págs. 268-278. [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16553906&itool=iconabstr&query_hl=1&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

OBJETIVOS: Revisar la historia del tratamiento de la lepra y las leproreacciones después de la Segunda Guerra Mundial. **MÉTODOS:** Se comparan tratamientos basados en la experiencia y evidencia clínica con los propuestos por la OMS en su lucha por eliminar la lepra en el año 2000, que posteriormente se retrasó hasta el 2005. **RESULTADOS:** La lepra no se eliminó. El análisis de los datos sobre tratamiento de las leproreacciones sugiere que el tratamiento para las leproreacciones aconsejado por la OMS puede conllevar más deterioro entre pacientes de lepra que otras pautas más antiguas y clásicas. **CONCLUSIÓN:** La política de la OMS para eliminar la lepra pueden haber perjudicado otros tratamientos más adecuados.

Dres. Sharma, Nand Lal; Majan, Vikram K.; Sharma, Vikas C.; et al. – Eritema nodosum leprosum e infección HIV: experiencia terapéutica. – *«Erythema Nodosum Leprosum and HIV infection: a therapeutic experience»*. – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 3 (2005), págs. 189-193.

Resumen:

La relación entre la lepra y la infección por el VIH actualmente es algo confusa, como tampoco se conoce mucho acerca de la historia natural de los pacientes co-infectados. El tema ha llegado a ser todavía más confuso debido a la publicación de trabajos conflictivos. Las reacciones tipo-1 de la lepra y la neuritis parecen ser graves y muy frecuentes entre los pacientes co-infectados pero el eritema nodoso leproso no es tan raro como antes se creía.

El manejo de estos pacientes co-infectados a menudo es difícil debido a la ausencia de planteamientos claros sobre su tratamiento y cuidado clínico. Aquí, nosotros relatamos nuestra experiencia sobre el tratamiento recurrente de eritema nodoso leproso grave en un paciente con lepra y co-infectado por el VIH. La administración precoz de la terapia anti-retroviral favoreció el resultado de la terapia general en el paciente. Se analiza el caso y se reconoce la relación directa y muy compleja entre el VIH y la infección por *M. leprae*.

Cirugía, Fisioterapia y Rehabilitación Física

Dres. Mpyet, C.; Hogeweg, M. – Cirugía de los párpados en personas afectadas de lepra en el noreste de Nigeria: ¿son atendidas sus necesidades? – «*Lid surgery in patients affected with leprosy in North-Eastern Nigeria: are their needs being met?*». – Trop Doct., [en línea], vol. 36, núm. 1 (2006), págs. 11-13. [Citado el 2 de mayo de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16483419&itool=iconabstr&query_hl=53&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La ceguera por afectación de la córnea es la segunda causa, después de las cataratas, de ceguera en los pacientes de lepra. La cirugía en los párpados por personal paramédico experimentado muchas veces puede prevenir la ceguera en estos pacientes. Se ha intentado evaluar hasta que punto el personal paramédico hace frente a las necesidades de estos pacientes y averiguar cuáles son las barreras que les impiden ser atendidos. Se eligieron ocho poblados en el noreste de Nigeria para este estudio. En estas aldeas, había 480 residentes mayores de 30 años que habían sido diagnosticados de lepra y sus ojos examinados para lagofthalmos, entropio/triquiasis y constatar la necesidad de la cirugía para estas condiciones. Los pacientes no operados por cualquiera de estas causas, fueron interrogados para averiguar los motivos. Había 116 ojos (12.1%) necesitados de cirugía, mientras que el 5.1% de los mismos ya habían sido operados. La cobertura quirúrgica para la cirugía de párpados era de un 30%; de lagofthalmos el 44.4% comparado con el entropio/triquiasis (24.7%). La causa más frecuente era desconocer la disponibilidad del tratamiento. Este trabajo revela que a pesar de la presencia de personal paramédico experimentado en la comunidad, las necesidades quirúrgicas de estos pacientes no son atendidas, ya que el nivel de percepción sobre la disponibilidad del personal para visitar estos poblados era decepcionante. Se tendrán que realizar por tanto más esfuerzos.

Epidemiología. Prevención y Control

Dres. Alfonso, José L.; Vich, Fernando A.; Vilata; Juan J.; Terencio de las Aguas, J. – Factores que contribuyen al declive de la lepra en España durante la segunda mitad del siglo XX. – «*Factors contributing to the decline of leprosy in Spain in the second half of the twentieth century*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 4 (2005), págs. 258-268.

Resumen:

Contexto: Aunque la lepra es una enfermedad infecciosa crónica en decaimiento, aún permanece vigente en muchas partes del mundo. El presente, es un estudio realizado con el fin de explorar los factores de salud y sanitarios que tienen más influencia en la tendencia de la enfermedad en un típico país Mediterráneo.

Material y Métodos: Se realizó un estudio ecológico en el cual se investigaron los posibles factores sociales, económicos y sanitarios relacionados con la evolución de la incidencia de la lepra. El período de tiempo considerado fue de 50 años –la segunda mitad del siglo xx en España.

Resultados: Las variables que mostraron alta correlación con la evolución de la incidencia de la enfermedad fueron el desempleo, el número de médicos, y el producto doméstico bruto (PDB), con coeficientes negativos –la tuberculosis, en cambio, mostró un coeficiente positivo. El PDB mostró el coeficiente más alto (0.5). El modelo que mejor explicó la evolución de la lepra en el período de los 50 analizado comprendió un período lag de 6 años entre los factores socioeconómicos y la incidencia de lepra – explicando el 57% de los datos obtenidos. La disminución anual en la incidencia de lepra fue del 1.6%.

Conclusiones: El desarrollo socioeconómico, medido en términos del PDB, fue el factor más importante para explicar la evolución de la incidencia de lepra.

Dres. Cardona-Castro, Nora M.; Restrepo-Jaramillo, Sandra; Gil de la Ossa, Myriam; et al. – Infección por *Mycobacterium leprae* en convivientes de pacientes de lepra lepromatosa de una región post-eliminación. – «*Infection by Mycobacterium leprae of household contacts of lepromatous leprosy patients from a post-elimination leprosy region of Colombia*». – Mem. Inst. Oswaldo Cruz, [en línea], vol. 100, núm. 7 (2005). [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S007402762005000700003&lng=en&nrm=is&tlng=en>.

Resumen:

El programa de control de la lepra de Antioquía (estado en fase post-eliminación de la lepra) había registrado en 1999, 56 pacientes de lepra lepromatosa y sus convivientes (HHC). El interés del trabajo es detectar la infección por *M. leprae* en los HHC. Se evaluaron mediante examen clínico, tinción ácido-alcohol resistente (BAAR) en secreciones nasales, y frotis cutáneos IgM anti-PGL-1 en suero y Lepromina A (Mitsuda). Se estudiaron 248 HHC, siendo el 44% varones. Después del examen clínico, dos HHC fueron diagnosticados como pacientes multibacilares; 13 % reveló positividad IgM anti-PGL-I, la reacción de Mitsuda (> 4 mm) fue positiva en 59%; BAAR resultó negativo en todas las muestras, excepto en dos pacientes nuevos.

Se clasificaron los HHC en los siguientes grupos. Grupo 1: dos nuevos pacientes multibacilares. Grupo 2: 15 HHC seropositivos; Mitsuda-negativo. Grupo 3: 13 HHC seropositivos, Mitsuda-positivo. Grupo 4: 130 HHC seronegativos, Mitsuda-positivo. Grupo 5: 88 HHC seronegativos, Mitsuda-negativos. Estos resultados indican que la transmisión de la infección está todavía presente en una región considerada de carácter post-eliminación. Los dos nuevos pacientes representan un foco de contacto para los demás y los grupos 2 y 3 son HHC infectados que podrán desarrollar la enfermedad en el futuro. Es necesario hacer seguimiento del grupo de elevado riesgo para conseguir una eliminación real de la lepra.

Dres. Hussain, Tazhiba; Sinha, Shikha; Kulshreshtha, K. K.; et al. – Seroprevalencia de la infección VIH entre pacientes de lepra en Agra, India: Tendencias y perspectivas. – «*Seroprevalence of HIV infection among leprosy patients in Agra, India: Trends and perspectiva*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2005), págs. 93-99.

Resumen:

Este estudio compara los resultados de una encuesta sobre la prevalencia del VIH en pacientes con lepra, realizada en dos fases, la primera de 1989 a 1993 y la segunda de 1999 a 2004. Aunque el número de pacientes investigados para VIH fue mayor en la primera fase (4.025) que en la segunda (2.125), se notó un incremento en la infección por VIH de 0·12% a 0·37%. Esto es preocupante porque sugiere que esta área es endémica para las dos enfermedades. En la segunda fase del estudio, se observó un incremento en el número de pacientes BL/LL que acudieron al Instituto y una disminución en el número de pacientes BT/TT. Los resultados globales indican que la infección por VIH es baja entre los pacientes con lepra en comparación con la infección en otros grupos de riesgo. El examen de estos pacientes a los 6 meses de seguimiento reveló que ninguno de ellos “viró inmunológicamente” a una forma más severa de la lepra, ni desarrolló los signos del complejo asociado al SIDA, ni la enfermedad en sí. Además, ninguna de las enfermedades precipitó a la otra. Ninguno de los pacientes desarrolló reacciones reversas (neuritis agudas y crónicas), ni eritema nodoso leproso (ENL).

Dres. Kumar, Anil; Girdhar, Anita; Girdhar, B. K. – Prevalencia de la lepra en el distrito de Agra (U.P.) India, desde 2001 a 2003. – «*Prevalence of leprosy in Agra District (U.P.) India from 2001 to 2003*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 2 (2005), págs. 115-121.

Resumen:

La prevalencia mundial de la lepra ha disminuido notablemente en los últimos años pero 6 países, incluyendo la India, se mantienen con alta endemia. La India sola contribuye con cerca del 60% de los casos de lepra en el mundo y su mayor aportación proviene de sus estados norteños. El presente estudio, realizado en el distrito de Agra, se hizo sobre una muestra seleccionada al azar que incluyó a más del 10% de la población de Agra distribuida en 300 poblaciones rurales y 16 comunidades urbanas. La encuesta, casa por casa, se realizó de julio del 2001 a julio del 2003 en las 300 poblaciones rurales, en 11 municipios y en cinco (de 20) localidades de la ciudad de Agra.

Se examinaron 361.321 personas, encontrándose un total de 592 casos de lepra [casos nuevos y casos que debían completar su tratamiento con PQT-OMS], con una tasa de prevalencia de 16,4/10.000 habitantes. Las tasas de prevalencia en las regiones rural y urbana fueron similares pero se detectaron focos de alta prevalencia. La mayoría de los casos se detectaron en el lado oriental de Agra (31,4/10.000 habitantes en Fatehabad y 28,5/10.000 en Bah Tahsils). La tasa global de lepra multibacilar (MB) fue del 22,3% y la tasa de lepra en niños fue del 8,4%. De los 592 casos de lepra, 523 (88,3%) fueron casos nuevos no tratados, lo que significa una tasa de detección de 14,5/10.000. entre los pacientes nuevos, la tasa de lepra MB fue del 17% (89/523) y la tasa de lepra infantil del 8,4% (44/523). También en estos casos, la tasa de deformidad de grado 2 fue del 4,8% (25/523). La duración de la enfermedad entre los casos nuevos fue de 32,3 meses en promedio, mientras que en los casos prevalentes registrados ésta fue la necesidad de continuar con las campañas de educación y de detección de casos de lepra. Por otro lado, el estudio subraya la baja eficacia en la detección de casos del programa integrado actual, el cual se basa principalmente en la presentación voluntaria de los casos.

Dres. Martins, A. C.; Castro, Jde C.; Moreira, J. S. – Seguimiento durante diez años de las endoscopias de la cavidad paranasal en pacientes de lepra. – «*A ten-year historic study of paranasal cavity endoscopy in patients with leprosy*». – Rev Bras Otorrinolaringol (Engl Ed), [en línea], vol. 71, núm. 5 (2005), págs. 609-616. [Citado el 18 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16612522&itool=iconfft&query_hl=1&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La lepra es una enfermedad crónica causada por *Mycobacterium leprae*. Frecuentemente, afecta las mucosas de las cavidades nasales independientes de su

forma clínica, incluso antes de la aparición de las lesiones cutáneas y en presencia o ausencia de tipo clínico. OBJETIVO: Revelar la eficacia e importancia del otorrinolaringólogo en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes de lepra. DISEÑO: Estudio clínico. MATERIAL y MÉTODO: Se llevó a cabo un estudio sobre los historiales clínicos de 173 pacientes sin tratamiento previo desde 1990 a 2000 en los servicios de otorrinolaringología del Instituto de Pesquisas Clínicas Hospital Evandro Chagas, Fiocruz. RESULTADOS: Todos los pacientes presentan lesiones nasales, 121 con y 52 sin identificación de la alteración de la mucosa en pacientes de lepra, así como identificar la evolución de las lesiones. Este tipo de examen también facilita establecer un tratamiento local. CONCLUSIÓN: La evaluación y seguimiento de los pacientes de lepra por el otorrinolaringólogo está justificado en un equipo multidisciplinario y ofrece al paciente un diagnóstico precoz y tratamiento específico.

Dres. Richardus, Jan H.; Meima, Abraham; Van Marrewijk, Corine J.; et al. – Convivientes con lepra en casas de pacientes de lepra recién diagnosticada en áreas muy y poco endémicas: comparación entre Bangladesh y Tailandia. – «*Close contacts with leprosy in newly diagnosed leprosy patients in a high and low endemic area: comparison between Bangladesh and Thailand*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 4 (2005), págs. 249-257.

Resumen:

Panorama: Como parte de un estudio más extenso sobre el papel que juegan los contactos cercanos en la transmisión de *M. leprae*, en este estudio exploramos si la proporción de nuevos casos con historia familiar de lepra, difiere de la tasa de incidencia de lepra en la población general.

Métodos: Se hizo un análisis retrospectivo de contactos de todos los nuevos pacientes de lepra diagnosticados durante un período de 10 años en los programas de control de la lepra en Tailandia y Bangladesh. En nuestra definición, un grupo contacto consistió de los nuevos casos y de los casos pasados y presentes que fueron familiares y parientes de los nuevos casos. Para un nuevo caso, el caso índice más cercano se definió sobre la base del tiempo de aparición de los síntomas en los casos del grupo de contactos en combinación con el grado de contacto entre estos casos y el nuevo caso. Se definieron tres niveles comparables de contacto. En Bangladesh: "contactos de cocina", "contactos domésticos", y "contactos no domésticos"; en Tailandia: "contactos domésticos", "contactos compuestos", y "contactos vecinos".

Resultados: Se incluyeron 1.333 nuevos casos en Bangladesh y 129 en Tailandia. La tasa promedio de detección de casos nuevos en 10 años fue de 50 por 100.000 por año en Bangladesh, y de 1,5 por 100.000 en Tailandia. En el área de alta endemia, el 25% de los nuevos casos detectados pertenecieron a un grupo de

contactos y no fueron el caso índice en este grupo: en el área de baja endemia, el 62% de los nuevos casos detectados tuvieron estas características. La distribución de los casos índice más cercanos en los tres niveles de contacto fueron comparables en ambas áreas. Un poco más de la mitad de los casos índice más cercanos se encontraron dentro de la unidad familiar inmediata: “cocina” en Bangladesh, “domésticos” en Tailandia.

Conclusión: Los resultados indican que, en comparación con un área de alta endemia, en una zona de baja endemia la mayor proporción de los nuevos casos detectados tienen una historia familiar de lepra. Se concluye que es necesario establecer con más precisión, los diferentes niveles de los contactos y sus riesgos relativos de contraer la enfermedad. En las situaciones de alta endemia también se requiere una vigilancia dentro del círculo de contactos algo mayor que la que se realiza actualmente.

Psicología, Educación y Rehabilitación Social

Dres. Kar, Bikash Ranjan (M.D.); Job, C. K. (M.D). – Incapacidades de tipo visible en lepra infantil – Un estudio de 10 años. – «*Visible deformity in childhood leprosy – A 10 year study*». – Int. J. Lepr., vol. 73, núm. 4 (2005), págs. 243-248.

Resumen:

Las deformidades en los niños con lepra son poco estudiadas porque la lepra en sí, es menos frecuente en los niños que en los adultos. La deformidad, sinónimo de estigma de la lepra, es un verdadero problema social entre los niños. En este estudio centrado en el estigma de la deformidad en los niños con lepra, se discuten varios factores responsables de estas deformidades. Observamos una incidencia del 10,5% de deformidad de Grado II en los niños con lepra. Esta incidencia es muy alta comparada con la incidencia del 1,4% en la comunidad general. Varios factores contribuyeron significativamente a la alta incidencia de deformidades en nuestro estudio, entre ellos: incremento en la edad de los niños, retraso en conseguir atención médica, lesiones múltiples en la piel, enfermedad multibacilar, positividad bacilar en la linfa cutánea, afectación nerviosa múltiple, y estados reaccionales al momento de su ingreso al hospital. Los análisis de regresión logística mostraron que los niños con troncos nerviosos engrosados tuvieron un riesgo 6.1 veces mayor de desarrollar deformidades que los niños sin engrosa-

miento neural. Se concluye que los niños con los factores de riesgo antes mencionados deben ser vigilados con mayor intensidad con el fin de detectar cualquier deformidad tan pronto como aparezca.

Dres. Ponte, K. M.; Ximenes Neto, F. R. – Lepra: la realidad para los adolescentes. – «*Leprosy: the reality for adolescents*». – Rev. Bras. Enferm., [en línea], vol. 58, núm. 3 (2005), págs. 296-301. [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16335181&itool=iconabstr&query_hl=9&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La lepra es una enfermedad contagiosa que causa discapacidades y los adolescentes, que están en una fase inestable muy de sus vidas, pueden estar negativamente influenciados por las secuelas de la enfermedad. Este estudio intenta caracterizar a los adolescentes con lepra de acuerdo a sus aspectos socio-demográficos, para proceder con un análisis epidémico-operacional de la enfermedad; comprobar los conocimientos de los afectados sobre la enfermedad y cómo reaccionaron ante la noticia de su enfermedad; identificar los cambios originados en sus vidas y las dificultades encontradas en sus vidas. Es un trabajo con carácter de investigación en 31 adolescentes afectados y que son asistidos por la Estrategia para Salud Familiar en Sobral, municipio de Ceara. Los resultados revelan la necesidad de mantener una atención continua con estas personas, sabiendo que esta enfermedad puede acarrear cambios significativos en sus vidas que pueden dificultar la continuación de sus logros.

Dres. Sashida, M.; Nagata, S.; Murashima, S.; et al. – Experiencias sobre rehabilitación social de personas afectadas por la enfermedad de Hansen: entrevistas con personas readmitidas en un sanatorio. – «*Social rehabilitation experiences of people with a history of Hansen's disease: interviews of readmitted residents in a sanatorium*». – Nippon Koshu Eisei Zasshi, [en línea], vol. 52, núm. 2 (2005), págs. 146-157. [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15791901&itool=iconabstr&query_hl=17&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

OBJETIVO: Este estudio analiza las reflexiones de las personas afectadas de hanseniasis, que experimentaron la vida social y regresaron al sanatorio. El mo-

tivo es clarificar sus pensamientos sobre sus experiencias en la vida social fuera de las instituciones. MÉTODOS: Los estudiados son pacientes de Hansen que habían vivido fuera de la institución y ahora vivían en un sanatorio nacional con buen ADL. El estudio se centra sobre una entrevista semi-estructurada, clasificando la información en "situación o tópicos afectados por la enfermedad de Hansen". Trece personas acordaron participar en el estudio. RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Se propusieron seis categorías "manteniendo una buena condición", "ansiedad sobre recidivas o enfermedades", "servicio médico", "controlada la enfermedad de Hansen en la vida social", "relaciones con otros" y "medio de vida". La enfermedad de Hansen afectó sus vidas en 2 aspectos; uno era "sawagu (recidiva de la enfermedad)" y el otro "kakusu (esconder la lepra)". El "sawagu" está relacionado con "la ansiedad de la enfermedad" e "intención de mantener una buena condición". "Kakusu" afecta la manera de tratar la enfermedad en la vida social" y "las relaciones con otros". El "servicio médico" era importante tanto para "sawagu" como para "kakusu". Los pacientes visitaban los hospitales y tomaban medicinas para evitar "sawagu", mientras probaban "kakusu" cuando consultaron a sus médicos. De manera que, tanto "sawagu" como "kakusu" interactúan entre sí mismos cuando los participantes necesitaban trabajo. Todos los pacientes se referían a su vida social como una "buena experiencia" porque estaban satisfechos con el sentido de haber cumplido en la vida. CONCLUSIÓN: Los participantes consideraron su vida social como una "buena experiencia". La enfermedad de Hansen afectó a sus vidas sociales en 2 aspectos; "sawagu" y "kakusu". Hay que allanar las dificultades con estos dos aspectos para que las personas con enfermedades estigmatizadoras como la enfermedad de Hansen pueden llevar vidas normales en sociedad.

Generalidades e Historia

Dr. Chu, N. S. – Enfermedades neurológicas al final del siglo XIX en Taiwán – informes médicos de la Aduana Marítima del Imperio Chino. – «*Neurological diseases in late 19th century Taiwan – medical reports of the Chinese Imperial Maritime Customs*». – Acta Neurol Taiwan., [en línea], vol. 14, núm. 4 (2005), págs. 221-233. [Citado el 12 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=16425551&itool=iconabstr&query_hl=42&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

La medicina occidental se introdujo en Taiwán en 1865 cuando el Dr. James L. Maxwell, un médico misionero de la Iglesia Presbiteriana de Inglaterra, estableció un hospital en lo que es actualmente Taiwán. El período de la medicina implantada por este misionero fue de 30 años, hasta la invasión japonesa. Sin embargo, durante este período, los informes oficiales de enfermedades en Taiwán basadas en médicos occidentales son escasos o no disponibles. Afortunadamente, los médicos de los puertos de Tamsui y Kelung en el norte y de Takow y Taiwán-fu en el sur, informaron sobre las enfermedades detectadas en los puertos, comunidades extranjeras y hospitales de misioneros donde trabajaban de forma voluntaria. Los informes son de casos o resúmenes de casos con clasificaciones y estadísticas. Los informes cubren el período de 1871 a 1900. Los datos revelan que las enfermedades neurológicas y/o trastornos a finales del siglo XIX eran poco frecuentes, (2-3% del total de las enfermedades). Los trastornos neurológicos más frecuentes eran por :lepra, consumo de opio, demencia sífilítica (GPI), parálisis, histeria, neuralgia, epilepsia, manía, ciática, meningitis y ataxia. El infarto no era común, mientras que las enfermedades de Parkinson y Alzheimer no se constatan, revelando que las enfermedades neurológicas relacionadas con la edad y neurodegeneración no constituían todavía una amenaza para la salud. De manera similar, el dolor de cabeza, insomnio, ansiedad y depresión, enfermedades de la sociedad actual y moderna, no se mencionan, sugiriendo que estos trastornos eran raros o no causaban suficiente preocupación a los pacientes para buscar ayuda de los médicos de la medicina occidental.

Dres. Gill, A. L.; Bell, D. R.; Gill, G. V.; et al. – Lepra en Gran Bretaña: 50 años de experiencia en Liverpool. – «*Leprosy in Britain: 50 years experience in Liverpool*». – QJM., [en línea], vol. 98, núm. 7 (2005), págs. 505-511. [Citado el 6 de julio de 2006]. Disponible en Internet: <<http://qjmed.oxfordjournals.org/cgi/content/abstract/98/7/505>>.

Resumen:

Antecedentes: La lepra es una infección crónica que se presenta con una variedad de síntomas dérmicos y neurológicos y que puede conllevar discapacidades y morbilidad, acompañada de estigma social.

Objetivo: Revisión de todos los pacientes que se presentaron en el Instituto de Medicina Tropical de Liverpool (LSTM) entre 1946 y 2003, observando especialmente su país de nacimiento y el de posible infección, detalles de la presentación clínica, diagnóstico y reacciones.

Diseño: Revisión retrospectiva de historiales.

Métodos: Recuperamos todos los historiales clínicos disponibles de pacientes vistos entre 1946 y 2003 ($n = 50$), consistente en el examen de cartas, notas de hospital y LSTM, y algunas radiografías y fotografías. Se anotó cualquier historial de tuberculosis o diabetes.

Resultados: La mayoría de pacientes son nativos del sub-continente India (64%) y se estima que la mayoría se contagió allí (62%). Los signos en el momento del diagnóstico eran lesiones cutáneas anestésicas en 19 (36%), hipopigmentación en 15 (30%), y engrosamiento del nervio periférico en 25 (50%). El diagnóstico se confirmó mediante una combinación de datos clínicos y biopsias (60%) y las baciloscopias resultaron positivas en un 61% de los pacientes multibacilares. La presentación inicial en la clínica era con leproreacción en 5 casos (10%) y se registraron leproreacciones en el 42% de los pacientes. Los tratamientos variaban entre la medicina tradicional hasta la multiterapia propuesta por la OMS, con profilaxis para los niños y convivientes.

Discusión: La lepra sigue siendo una enfermedad importante a tener en cuenta en pacientes con un historial de trabajo o viajes a los trópicos y su diagnóstico tiene consecuencias médicas, sociales y emocionales.

Otras Micobacterias

Dr. Kaufmann, S. H. E. – Hallazgos recientes en la inmunología de la tuberculosis proporcionan un nuevo impulso a las vacunas para la prevención de esta enfermedad.. – «*Recent findings in immunology give tuberculosis vaccines a new boost*». – Trends in Immunology, vol. 26, núm. 12 (2005), págs. 660-667.

Resumen:

La tuberculosis sigue siendo un problema sanitario que no resuelve ni la quimioterapia actual ni la vacunación con BCG. Aunque actualmente hay una nueva generación de candidatos a vacunas preparadas para ensayos en el campo, todavía se necesitarán mejoras en este terreno. Un ensayo de vacunación debe estimular las células de memoria T y al mismo tiempo evitar el agotamiento de esa memoria y supresión por los mecanismos reguladores. El sistema más probable es sensibilizar con un candidato seguido de una revacunación de refuerzo con otra vacuna candidata. Para los ensayos clínicos hay que identificar biomarcadores que definan las células T. que alternan entre los pulmones y la periferia.

Dres. Lupi, O.; Madkan, V.; Tying, S. K. – Dermatología tropical: enfermedades bacterianas tropicales. – «*Tropical dermatology: bacterial tropical diseases*». – J Am Acad Dermatol., [en línea], vol. 54, núm. 4 (2006), págs. 559-578; quiz 578-580. [Citado el 7 de abril de 2006]. Disponible en Internet: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&adopt=Abstract&list_uids=16546577&itool=iconabstr&query_hl=1&itool=pubmed_docsum>.

Resumen:

Las infecciones bacterianas son frecuentes en las zonas tropicales del mundo y pueden incluir incluso especies observadas regularmente en climas templados. Muchas infecciones bacterianas tropicales sin embargo, son diagnosticadas muy pocas veces en el mundo y abarcan: la bartonelosis, úlceras tropicales, piomiositis tropical, granuloma inguinal, linfogranuloma venéreo, frambesias, pinta, melioidosis y muerro. Algunas como la plaga y el ántrax se asocian a niveles elevados de mortalidad y son de uso potencial para actos de bioterrorismo. Algunas enfermedades tropicales bacterianas están fuertemente asociadas con actividades específicas como cazar (p. ej. tularemia) o comer pescado crudo (*Vibrio vulnificus*). Las enfermedades bacterianas de mayor impacto en los trópicos son las causadas por el género *Mycobacterium*. Hay en el mundo millones de personas que sufren de tuberculosis y lepra; las úlceras de Buruli también son motivo de morbilidad en muchos países tropicales. Debido al incremento de los viajes a estos países para visitas de turismo o temas laborales, así como el incremento de los inmigrantes o personas adoptadas de estas zonas, es fundamental que los médicos ejercientes en climas tropicales sepan reconocer los signos y síntomas de las enfermedades bacterianas tropicales. OBJETIVO: Al finalizar este período de formación, los participantes deben estar familiarizados con las presentaciones clínicas, epidemiológicas, diagnóstico, terapia y prevención de enfermedades bacterianas tropicales.

Dres. Walsh, D. S.; Meyers, W. M.; Portaels, F.; et al. – Elevados índices de apoptosis en cultivos *Mycobacterium ulcerans* positivos obtenidos de lesiones cutáneas. – «*High rates of apoptosis in human mycobacterium ulcerans culture-positive Buruli ulcer skin lesions*». – Am. J. Trop. Med. Hyg., [en línea], vol. 73, núm. 2 (2005), págs. 410-415. [Citado el 24 de enero de 2006]. Disponible en Internet: <<http://www.ajtmh.org/cgi/content/abstract/73/2/410>>.

Resumen:

La úlcera de Buruli, una enfermedad causada por *Mycobacterium ulcerans*, origina enfermedad cutánea ulcerativa generada por una toxina que media en la

apoptosis. Analizamos secciones parafinadas de lesiones quirúrgicas de úlcera de Buruli (dos úlceras y una placa edematosa) y muestras cutáneas adyacentes sin lesión (n = 9) para evaluar la apoptosis mediante una técnica de inmunofluorescencia indirecta mediada por dUTP-marcado con deoxynucleótido (TUNEL). Se tiñen y cultivan todas las muestras para la observación de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR) y la mayoría analizados con un test diagnóstico *M. ulcerans* específico mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los anticuerpos TUNEL (+) resultaron abundantes tanto en las úlceras como en la placa y escasos o ausentes en la piel adyacente sin lesión. Las tinciones para AFB y cultivos de *M. ulcerans* resultaron positivos sólo en las tres lesiones. El PCR resultó positivo en las tres lesiones y en cuatro de las seis muestras de tejido no lesionado; tres muestras contenían anticuerpos TUNEL (+). La abundancia de elementos TUNEL (+) en las tres tinciones y cultivos BAAR + y PCR (+), pero no en las tinciones y cultivos BAAR – y PCR (+) procedentes de las muestras sin lesión, evidencian que la apoptosis es un mecanismo de destrucción tisular de las lesiones humanas muy asociado con *M. ulcerans* viable.

Deseamos y agradecemos el envío regular de Revistas dedicadas a Medicina

Con gusto aceptamos el canje con las que lo deseen. Los envíos han de dirigirse a:
REVISTA DE LEPROLOGÍA. —Biblioteca Médica FONTILLES (Alicante) España

Recibimos ya las siguientes publicaciones que recomendamos a nuestros lectores

ESPAÑA

- 1.— Actas Obstetricia y Ginecológica — Madrid
- 2.— Actas Otorrinolaringológicas — Madrid
- 3.— Actas Dermo-sifográficas — Madrid
- 4.— Actualidad Dermatológica — Barcelona
- 5.— Anales de la Real A. N. de Medicina — Madrid
- 6.— Anales del Instituto Barraquer — Barcelona
- 7.— Anales Españoles de Pediatría — Madrid
- 8.— Anales Clínicos — San Sebastián
- 9.— Anàlisi Epidemiològica Setmanal — Valencia
- 10.— Archivos de la Facultad de Medicina de Zaragoza — Zaragoza
- 11.— Boletín Epidemiológico Semanal — Madrid
- 12.— Boletín Informativo de la Fundación «Juan March» — Madrid
- 13.— Centro de Salud — Madrid
- 14.— Ciencia Ginecológica — Madrid
- 15.— Ciencia Pediátrica — Madrid
- 16.— Ciencia y Tecnología Pharmaceutica — Madrid
- 17.— Clínica Cardiovascular — Madrid
- 18.— Dermatología Cosmética — Madrid
- 19.— Dermatología y Dermocosmética — Madrid
- 20.— Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica — Barcelona
- 21.— Farmacéutico, El — Barcelona
- 22.— Farmacoterapia — Madrid
- 23.— Gaceta Médica de Bilbao — Bilbao
- 24.— Geriatrika — Madrid
- 25.— Hipertensión — Madrid
- 26.— Índice Médico Español — Valencia
- 27.— Inmunología — Barcelona
- 28.— Investigación Clínica — Granada
- 29.— Labor Hospitalaria — Barcelona
- 30.— Lancet, The, ed. española — Barcelona
- 31.— Medicina Clínica — Barcelona
- 32.— Medicina Cutánea — Barcelona
- 33.— Medicina Familiar y Comunitaria — Madrid
- 34.— Medicina Integral — Madrid
- 35.— Medicina de Rehabilitación — Madrid
- 36.— Medicine — Madrid
- 37.— Médico, El — Madrid
- 38.— Microbiología Clínica — Madrid
- 39.— Noticias Médicas — Madrid
- 40.— Nuevo Laboratorio — Madrid
- 41.— Nutrición Clínica — Madrid
- 42.— Obstetricia Ginecológica — Barcelona
- 43.— Oncología — Barcelona
- 44.— Panorama Actual del Medicamento — Madrid
- 45.— Parkinson — Barcelona
- 46.— Psiquis — Madrid
- 47.— Revista de la Universidad de Navarra — Pamplona
- 48.— Revista Española de Salud Pública — Madrid
- 49.— Revista Española de Medicina, Educación Física y Deporte — Madrid
- 50.— Revista Española de Neurología — Madrid
- 51.— Semer Gen — Madrid
- 52.— Siete Días Médicos — Madrid
- 53.— Sístole — Madrid
- 54.— Tiempos Médicos — Madrid
- 55.— Todo Hospital — Barcelona
- 56.— Ciencia Forense — Zaragoza

EXTRANJERO

- 1.— Acta Leprológica..... — Genève (Suisse)
- 2.— American Leprosy Missions — New York (U.S.A.)
- 3.— Amici dei Lebbrosi..... — Bologna (Italia)
- 4.— Anais Brasileiros de Dermatologia — Río Janeiro (Brasil)
- 5.— Archivos Argentinos de Dermatología..... — Buenos Aires (Argentina)
- 6.— Arquivo do Inst. Bacteriológico «Camara Pestana» — Lisboa (Portugal)
- 7.— Biomédica — Bogotá (Colombia)
- 8.— Boletín Dermatológico Sanitario — Caracas (Venezuela)
- 9.— Boletín de la Organización Mundial de la Salud — Geneve (Suisse)
- 10.— Bulletin de l'Academie National de Medecine..... — París (Francia)
- 11.— Chinese Journal of Dermatology — Nanjing, Jiangsu (China)
- 12.— China Leprosy Journal — Beijing (China)
- 13.— Dermatología Argentina..... — Buenos Aires (Argentina)
- 14.— Damiem Dutton Call — New Brunswick (U.S.A)
- 15.— Dermatología Revista Mexicana — México (México)
- 16.— Dermatología e Venereologia — Torino (Italia)
- 17.— Hanseniologia Internationalis — San Paulo (Brasil)
- 18.— Iatreia — Medellín (Colombia)
- 19.— Indian Journal of Leprosy — New Delhi (India)
- 20.— Internacional Journal of Leprosy — Carville-Lousiana (U.S.A.)
- 21.— Immunology Today..... — Amsterdam (The Netherlands)
- 22.— Japanese Journal of Leprosy — Tokyo (Japón)
- 23.— Lepra Mecmuasi — Cebici-Ankara (Turquía)
- 24.— Leprosy Review — London (England)
- 25.— Medecine Tropicale..... — Marseille (France)
- 26.— Medicina Cutánea I-L-A..... — La Paz (Bolivia)
- 27.— Miteinander — Würzburg (Germany)
- 28.— Nouvelles Dermatologiques, Les..... — Strasbourg (Francia)
- 29.— Revista Argentina de Dermatología — Buenos Aires (Argentina)
- 30.— Revista Argentina del tórax — Buenos Aires (Argentina)
- 31.— Revista Brasileira de Medicina Tropical — Sao Paulo (Brasil)
- 32.— Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia — La Habana (Cuba)
- 33.— Revista Cubana de Higiene y Epidemiología..... — La Habana (Cuba)
- 34.— Revista Cubana Investigaciones Biomédicas — La Habana (Cuba)
- 35.— Revista Cubana de Medicina — La Habana (Cuba)
- 36.— Revista Cubana de Medicina Tropical..... — Sihoney (Cuba)
- 37.— Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo..... — Sao Paulo (Brasil)
- 38.— Revista Dominicana de Dermatología..... — Sto. Domingo (Rep. Dominic.)
- 39.— The Star — Carville, Lousiana (U.S.A.)
- 40.— Vestnik Dermatologii i Venerologii — Moscow (U.R.S.S.)